

ACTA BIOLOGIAE EXPERIMENTALIS

LITTERAE
SOCIETATIS PHYSIOLOGORUM POLONORUM

FOUNDED BY KAZIMIERZ BIAŁASZEWICZ

EDITOR: W. NIEMIERKO (ŁÓDŹ)

ADVISORY BOARD:

A. BER (ŁÓDŹ), FR. CZUBALSKI (WARSZAWA)
J. DEMBOWSKI (ŁÓDŹ), J. KONORSKI (ŁÓDŹ)
E. LEYKO (ŁÓDŹ), W. MISSIURO (WARSZAWA)
W. MOYCHO (ŁÓDŹ).

VOL. XIV

EDITED BY THE NENCKI INSTITUTE OF EXPERIMENTAL BIOLOGY,
66, POŁUDNIOWA, ŁÓDŹ, (POLAND)

1947



P. 180

B-13546

Druk. Spółdzielnia Wyd. „Chłopski Świat”, Warszawa, Al. Jerozolimskie 83

<http://rcin.org.pl>

OD REDAKCJI — FROM THE EDITOR

The present volume XIV of *Acta Biologiae Experimentalis* is the first which appears after the war. It contains chiefly the results of research performed before the war. Most of the papers are published in Polish, but from the next volume onwards all papers will appear in English or French.

The preceding volume of the journal (XIII) was published in summer 1939 and contained only No 1/2.

Acta Biologiae Experimentalis ukazują się ponownie po przerwie lat 1939 — 1947. Ostatnim zeszytem przedwojennym był zeszyt 1/2 tomu XIII, 1939. Część prac zawartych w obecnie wydawanym tomie XIV zawiera wyniki badań z przed roku 1939. Większa część prac w tym tomie ukazuje się w języku polskim. Począwszy od tomu następnego wszystkie prace będą drukowane wyłącznie w języku angielskim bądź francuskim,

TREŚĆ. Contents.

Nr.		p.
1.	M. Bogucki. Kazimierz Białaszewicz	1
2.	W. Niemierko. Prof. dr. Kazimierz Białaszewicz	9
3.	F. Czubalski. Historia Polskiego Towarzystwa Fizjologicznego w latach okupacji niemieckiej (1939 — 1944). <i>The history of the Polish Physiological Society during the years of German occupation (1939 — 1944)</i>	19
4.	Protokół III Walnego Zgromadzenia Polskiego Towarzystwa Fizjologicznego odbytego dn. 29 września 1946 r. w Łodzi w gmachu Instytutu Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego przy ul. Południowej 66	35
5.	W. Niemierko. Zachowanie się tłuszczów w procesach autolitycznych tkanek zwierzęcych. <i>The fate of fatty acids during autolysis</i>	45
6.	W. Niemierko i C. Goldman. Przyczynek do biochemii oogenezy. <i>Contribution to the biochemistry of oogenesis</i>	59
7.	Br. Zawadzki. W jakim stopniu tak zwane prawo biegunowego drażnienia stosuje się do mięśni szkieletowych. <i>The law of polar excitation in the case of striated muscles</i>	69
8.	W. Niemierko. Przemiany kwasów tłuszczowych u gąsienic jedwabnika. <i>Fatty acids metabolism in silk worm larvae</i>	137 ✓
9.	W. Niemierko. Przyczynek do biochemii metamorfozy jedwabnika. <i>Contribution to the biochemistry of metamorphosis of silk worm</i>	151
10.	S. Nyrek. Zdolności syntetyzujące lipazy wątrobowej. <i>Synthesing power of liver lipase</i>	157
11.	S. Nyrek. Równowaga utleniająco-redukująca i kwasowo-zasadowa w jelicie ślepym u konia i w żwaczu u bydła. <i>Oxidation-reduction and acid-base equilibrium in fluid contents of horse's coecum and cattle's rumen</i>	175
12.	W. Niemierko. O metodzie suszenia materiału biologicznego do badań biochemicznych. <i>Drying of biological material for biochemical analysis</i>	195 ✓
13.	W. Niemierko. Mikrometody do oznaczania liczby jodowej i rodanowej kwasów tłuszczowych. <i>Micro-methods for determination of iodine and rhodan numbers of fatty acids</i>	199
14.	W. Niemierko. Mikrometoda do oznaczania nasyconych kwasów tłuszczowych. <i>A micro method for saturated fatty acids determination</i>	207

15. J. Hurynowicz. *L'influence de certaines substances narcotiques et somnifères sur l'excitabilité chronaxique de l'appareil vestibulaire chez le lapin* 211
16. J. Kiersz. Znaczenie poziomu potasu w osoczu konserwowanej krwi. *Importance of the level of potassium in the plasma of preserved blood* 221
17. J. Heller. Badania nad przeobrażeniem owadów. Część XIV. Mechanizm regulacji przemiany materii w okresie poczwarkowym. Rola Tyrozynazy. *Investigations on insect metamorphosis. Part XIV. The regulation of the metabolism during pupal stage. The role of Tyrosinase* 229
18. L. Lubińska. *On the mechanical excitability of afferent nerve fibres* 239
-

Kazimierz Białaszewicz

M. Bogucki

Among the losses which caused the last war to Polish Science the death of Professor Białaszewicz was one of the most important. He died of pneumonia January, the 19th 1943 in Warsaw. Born in 1882 at Suwałki, after having past his maturity examinaton, in 1902 he inscribed himself as a student of the Faculty of Natural Science in Warsaw.

During his studies at the Warsaw University, he published his first work on Stinging Cells of Hydra for which a golden medal was awarded to him. In 1905 driven out from the University and forced to leave his country he went abroad. After visiting during several months different Zoological Institutes in Germany he settled down in Cracow and was appointed there as an Assistant of the Embriological Institute of the late Prof. E. Godlewski jun. He worked in this Institute for several years and received there in 1909 his. Ph. D. Degree: then he went for additional studies in the field of physiological chemistry to Budapest to the Laboratory of Prof. Tangl. As he had no other possibilities, he worked as an Assistant in the Zoological Institute of the University of Saratov — there was no place left for him at home. Home-sick, in a foreign surrounding, he returned back in 1911 to Warsaw and got the situation of an assistant in the Physiological Laboratory of the Scientific Warsaw Society directed by late Prof. J. Sosnowski. Later on he received the management of this laboratory. He took also an active part in the organization of the Free University of Poland and lectured there on the Animal Physiology. He resigned and left this work only when being appointed as the Professor of Physiology at the Warsaw Univer-

sity where he stayed till the end of his life. Owing to his gift the first chair of Animal Physiology at the Faculty of Mathematics and Natural Science of the Warsaw University was created. His pedagogical activity was exceptionally fruitful. He knew how to infect his students with his keen interest in research studies and with the bacillus of scientific desire. So his Laboratory was always full of young scientists and many of the leading, contemporary, Polish Biologists had found in the laboratory of Prof. Białaszewicz a support in their further development. Besides pedagogic and his own scientific works he devoted much time and energy to problems of organization of Science in Poland. In 1919 owing to his initiative, the creation of the Nencki Institute of Experimental Biology was possible. Late Prof. Białaszewicz always active, created branches of the Nencki Institute carrying on the difficult task of Director during the first years of its existence. Collaborating with him since his first attempts of creating the Nencki Institute I can judge better than any one else the amount of work he has done, when struggling with difficulties which this initiative has encountered. He wanted to collect Polish scientific work which before was scattered in different scientific publications. He has initiated therefore in the Nencki Institute the issuing of a periodical entitled *Acta Biologiae Experimentalis*. Appointed by the Board of the Institute as editor of this periodical, he kept this task till the end of his life. The last work of late Białaszewicz aiming at the organization of Polish Science was the foundation of the Polish Physiological Society.

All that was said above cannot express entirely this liberal generosity with which he was distributing and offering his energy and ability to Polish Science. A member during many years of the Scientific Society of Warsaw and of the Polish Academy of Science he took active part in the works of these Institutions. The same must be told about the Mianowski Institute, Skłodowska - Curie Radium Institute, Supervising Committee of the Sea Research Station.

In the Dead, the Nencki Institute has lost its founder; *Acta Biologiae Experimentalis* their organiser and Editor. The

Polish Physiological Society its first President, the Warsaw University his first and sole in Poland Professor of Physiology at the Faculty of Mathematics and Natural Science, and a series of Scientific Institutions an active and esteemed Member.

Pośród strat, jakie poniosła polska nauka w czasie minionej wojny, wysuwa się na jedno z pierwszych miejsc zgon ś. p. profesora Kazimierza Białaszewicza. Zmarł na zapalenie płuc 19 stycznia 1943 r. w Warszawie. Wycieńczony kilkoletnim niedożywianiem organizm nie był w stanie zwalczyć choroby, zwłaszcza, że w krytycznym momencie zabrakło dość szybkiej pomocy lekarskiej.

Urodzony w 1882 r. Suwałkach, gdzie spędził swe lata szkolne, udaje się w 1902 r. po uzyskaniu matury do Warszawy i zapisuje się na wydział przyrodniczy. W czasie swych studiów na Uniwersytecie Warszawskim ogłasza drukiem pierwszą swą pracę, nagrodzoną medalem złotym, nad budową komórek parzydełkowych hydry.

Relegowany z Uniwersytetu Warszawskiego i zmuszony do opuszczenia kraju, udaje się w 1905 r. zagranicę. Zwiedziwszy w ciągu kilku miesięcy różne zakłady zoologiczne w Niemczech, osiada w Krakowie i przyjmuje tam asystenturę w Zakładzie Biologiczno-Embriologicznym u ś. p. profesora E. Godlewskiego jun.

Po paroletniej pracy na tym stanowisku i po uzyskaniu doktoratu w 1909 r. udaje się na studia uzupełniające do Budapesztu w zakresie chemii fizjologicznej do pracowni prof. Tangla. Szczupłość środków materialnych, jakimi na ten cel rozporządzał, zniewoliła go wkrótce do szukania płatnego zajęcia. W braku innych możliwości przyjmuje asystenturę w Zakładzie Zoologicznym Uniwersytetu Saratowskiego. W kraju nie było dlań wówczas miejsca. Trawiony nostalgią w obcym środowisku wraca w r. 1914 do Warszawy. Zarobkuje tu początkowo, udzielając lekcji w szkołach średnich, a następnie otrzymuje stanowisko asystenta w Pracowni Fizjolo-

gicznej Tow. Naukowego Warszawskiego, kierowanej przez ś. p. prof. J. Sosnowskiego. Po nim też obejmuje kierownictwo tej pracowni. Bierze też czynny udział w tym okresie w organizowaniu Wolnej Wszechnicy Polskiej i obejmuje tam wykłady fizjologii zwierząt. Zrzeka się ich po powołaniu go na katedrę fizjologii Uniwersytetu Warszawskiego, na której pozostawał do końca swego życia. Dzięki jego to talentowi powstaje w Polsce pierwsza katedra fizjologii na Wydziale Matematyczno-Przyrodniczym w Warszawie. Stworzenie tej nowej katedry — gdyż tradycyjnie istniały na uniwersytetach europejskich katedry fizjologii wyłącznie na Wydziałach Lekarskich — wymagało przewyciężenia istniejącej tradycji. Stało się to możliwe dzięki temu, że Warszawa posiadała uczonego tej miary, jak ś. p. Białaszewicz.

Jego działalność pedagogiczna była niezwykle owocna. Swoje zamiłowanie do studiów badawczych umiał przelewać na swych słuchaczów, zarażał ich bakcylem żądzy poznania. To też pracownia jego pełna była zawsze młodzieży i wielu spośród przodujących dzisiaj biologów polskich właśnie w pracowni Białaszewicza znalazło oparcie dla swego dalszego rozwoju. Pracownia jego stała otworem dla każdego, kto okazywał prawdziwe zainteresowanie się pracą badawczą. Stosunek kandydata do pracy naukowej był jedynym kryterium, by został do pracowni przyjęty. Żadne inne względy — rasowe, wyznaniowe czy polityczne — nie odgrywały tu roli. Wymagający wiele od siebie, wymagał też wiele od swych pupilów, a jednocześnie otaczał ich troskliwą opieką, starając się dla zasługujących na to o zasiłki, umożliwiające im oddanie się pracy naukowej.

Poza pracą pedagogiczną i własną pracą naukową wiele czasu i energii poświęcał zagadnieniom organizacji nauk w Polsce. Wychodząc z założenia, że uniwersytety dzisiejsze będą musiały kłaść główny nacisk na pracę dydaktyczną, by wyprodukować potrzebne zastępy lekarzy, prawników, nauczycieli i td., uważał za rzecz niezbędną utworzenie w Polsce ośrodków badawczych, nieobciążonych obowiązkami dydaktycznymi. Z jego też głównie inicjatywy dochodzi do skutku powstanie Instytutu Biologii Doświadczalnej im. Nenckiego

w r. 1919. Pierwotnie w skład Instytutu weszły 3 dawne pracownie biologiczne Towarzystwa Naukowego Warszawskiego, mianowicie Fizjologiczna, pod kierownictwem Białaszewicza, Neurobiologiczna pod kierunkiem Flattaua i Biologii Ogólnej pod kierownictwem R. Minkiewicza. Już w roku następnym Instytut powołał do życia Stację Hydrobiologiczną na Wigrach pod kierownictwem A. Lityńskiego, a w następnych powstają Zakłady: Embriologiczny pod kierunkiem J. Eismonda i Biometryczny pod kierunkiem J. Sławy-Neymana. Po powołaniu J. Eismonda na katedrę uniwersytecką zakład jego powierzony zostaje J. Dembowskiemu jako Zakład Morfologii Doświadczalnej. W 1932 r. Instytut tworzy nową placówkę badawczą — Stację Morską pod kierownictwem M. Boguckiego i w 1935 r. — Stację Hydrobiologiczną w Pińsku pod kierownictwem ś. p. J. Wiszniewskiego. Wreszcie w 1938 r. do Instytutu im. Nenckiego włączony został Instytut Badań Mózgu w Wilnie, kierowany przez prof. Rosego.

W pracach przy tworzeniu tych placówek ś. p. Białaszewicz brał zawsze czynny udział, spełniając trudny obowiązek dyrektora Instytutu przez szereg pierwszych lat jego istnienia. Pracując z nim od początku zabiegów o utworzenie Instytutu im. Nenckiego, lepiej, niż kto inny mogłem ocenić ogrom pracy, jaką wykonał przy zwalczaniu przeszkód, z którymi inicjatywa ta się spotkała. Tylko dzięki jego wytrwałości i niezłomnej wierze w słuszność sprawy Instytut im. Nenckiego powstał i działalnością swą usprawiedliwił w pełni wielkość trudu, jaki inicjatorom wypadło ponieść.

Pragnąc skupić dorobek naukowy polski w zakresie badań biologiczno-doświadczalnych, dorobek, który przedtem był rozproszony w różnych wydawnictwach akademickich (Akademii Umiejętności w Krakowie, Towarzystwa Naukowego Warszawskiego, Poznańskiego, Lwowskiego, Wileńskiego) inicjuje Białaszewicz na terenie Instytutu im. Nenckiego wydawanie pisma *Acta Biologiae Experimentalis*. Powołany przez zarząd Instytutu na redaktora tego pisma, spełniał obowiązki redaktora do końca swego życia. W krótkim czasie organ ten skupia przeważną część prac polskich badaczy z zakresu fizjologii, chemii fizjologicznej oraz zoologii do-

świadczalnej. Pierwszy tom wyszedł w druku w 1928 r., ostatni XIII w r. 1939.

Ostatnim dziełem ś. p. Białaszewicza w kierunku organizacji nauki polskiej było założenie Polskiego Towarzystwa Fizjologicznego.

Wzrastająca w latach 20 i 30-ych produkcja naukowa polska w dziedzinie badań fizjologicznych i pokrewnych, znajdowała swój wyraz w coraz obfitszej treści tomów *Actarum Biologiae Experimentalis*. Zjawisko to, jak również coraz częstszy kontakt redaktora ze współpracownikami różnych ośrodków naukowych w Polsce, doprowadzają go do przekonania, że dojrzał moment powiązania rozproszonych po całej Polsce ośrodków badawczych fizjologicznych w spójną organizację, która by nad rozwojem dalszym tej dziedziny nauki w Polsce czuwała. Z właściwym sobie talentem organizatorskim doprowadza do zawiązania Towarzystwa Fizjologicznego, mającego już do swej dyspozycji czasopismo w postaci *Acta Biologiae Experimentalis*, które na zasadzie porozumienia z Instytutem im. Nenckiego staje się organem Polskiego Towarzystwa Fizjologicznego.

Wszystko powiedziane wyżej nie daje bynajmniej pełnego obrazu tej hojnej szczodrości, z jaką rozdawał ofiarnie na rzecz Nauki Polskiej swą energię i talent. Wieloletni członek Tow. Nauk. Warszawskiego i Polskiej Akademii Umiejętności, brał stale czynny udział w pracach tych instytucji. To samo należy powiedzieć o Kasie im. Mianowskiego, Instytucie Radowym im. Skłodowskiej-Curie, Komitecie Nadzorczym Stacji Morskiej.

Jednego z zamierzeń o wielkiej doniosłości nie udało mu się doprowadzić do końca, mianowicie zorganizowania badań nad odżywianiem się ludności w Polsce. Daleko posunięte już przygotowania w tym kierunku zostały przerwane przez wybuch wojny.

Nie mając, niestety, pod ręką prac ś. p. Białaszewicza, trudno mi dać wyczerpujący obraz jego dorobku naukowego. Uczyni to niezawodnie kto inny z kolegów nieboszczyka w lepszych ode mnie znajdujący się pod tym względem warunkach. Podkreślić przecież pragnę, że kierunek czysto morfologicz-

nych badań, dominujący w okresie jego studiów uniwersyteckich, nie zaspokajał jego dociekliwości badawczej już w początkowym okresie jego pracy naukowej. Zagadnienia czynności ustroju interesują go w pierwszym rzędzie. To też już pierwsze prace, jakie ogłasza po swej pracy dyplomowej, mają charakter doświadczalny, dotyczą fizjologii rozwoju płazów i szkarłupni. Po tych pracach z okresu krakowskiego i po studiach budapeszteńskich przedmiotem jego badań stają się zagadnienia przemiany materii bezkręgowców, metamorfozy owadów, osmoregulacji organizmów wodnych, fizjologii wzrostu, fizjologii pracy i in.

Owocem tych różnokierunkowych badań było kilkadziesiąt prac, ogłoszonych drukiem w czasopismach polskich i zagranicznych.

Wyjątkowo owocne życie ś. p. Białaszewicza było wynikiem cech jego charakteru. Czystość myśli i czystość czynów cechowały go przede wszystkim. Obcy był mu fałsz, obce zabieganie o osobiste korzyści materialne. Niezależność osobistą cenił tak bardzo, że skazywał się nieraz na ciężkie prywacje, aby ją zachować. Wyjazdy na Stacje Zoologiczne morskie, gdzie mógł w oderwaniu od rozlicznych absorbujących go w Warszawie zajęć, oddawać się wyłącznie pracy naukowej, — były jego marzeniem. Starając się dla innych o zasiłki na ten cel, sam nigdy o nie nie zabiegał. Oszczędzał metodycznie ze swych skromnych profesorskich poborów, aby móc co 2 — 3 lata spędzić kilka miesięcy w Neapolu, czy Roscoff. Pełen życzliwości dla innych, chętnie podający dłoń pomocną potrzebującym, był nieprzejednanym przeciwnikiem wszelkiego karierowiczostwa i żerowania na publicznych funduszach pod płaszczykiem nauki.

Odszedł więc od nas nietylko wybitny uczony, zasłużony pedagog i działacz społeczny na terenie nauki, odszedł od nas duch nieskazitelny, jakim zrzadka tylko ludzkość może się poszczycić.

W zmarłym stracił Instytut im. Nenckiego swego założyciela, *Acta Biologiae Experimentalis* swego twórcę i redaktora, Polskie Towarzystwo Fizjologiczne swego pierwszego prezesa i założyciela, Uniwersytet Warszawski pierwszego w Pol-

sce profesora fizjologii na Wydziale Mat.-Przyrodniczym, szeregu instytucji naukowych — czynnego i cenionego członka.

Zmarłego otaczała atmosfera szacunku i przyjaźni wszystkich, z którymi się stykał w swej różnorodnej działalności i którzy mieli możliwość ocenić wartość jego zasług. Jeżeli dzisiaj chcemy zasłuzę Jego hołd oddać i pamięć Jego uczcić, jedno mamy do zrobienia: nie dopuścimy, by zainicjowane przezeń poczynania upadły! Każda z podjętych przezeń inicjatyw i ich realizacja kosztowały go wiele pracy i wytrwałości. Dorzucenie naszych wysiłków dla rozwinięcia i utrwalenia poczynania ś. p. Białaszewicza stanowić będzie najwyższy wyraz czci dla Niego, wyraz uznania dla Jego zasług dla ojczystej nauki położonych.

Prof. dr Kazimierz Białaszewicz

W. Niemierko

January the 19-th 1943 died in Warsaw Prof. Dr. Kazimierz Białaszewicz eminent research worker and experimentalist. This death was deeply regretted and shall leave a lasting gap among all those, who in this or other way carried on scientific work in the field of biology and physiology; to a larger extent among those who knew him personally; and finally to still a greater degree among these who as the author of this reminiscence had the possibility and luck of a direct and everyday contact with prof. Białaszewicz. He belonged to this rare type of people for whom scientific work was their first and most essential need and who devoted themselves to this work wholly, without any restrictions.

Although university studies and first investigations of prof. Białaszewicz dealt with problems of morphology, already in these first works the physiological point of view may be perceived. This point of view rapidly begins to prevail and drives him away not only from problems of morphology, but also makes him to a certain extent an „enemy“ of this trend of researches in which, as he said, sometimes one even forgets that he is dealing with a living object.

Since his settlement in Warsaw Prof. Białaszewicz starts investigations in the Physiological Laboratory of the Warsaw Scientific Society and in 1914 he issues his purely physiological study concerning the Energy Production of the Leeches. In the next year he is carrying investigations on the Energy Utilisation of Proteins of the Leeches. In 1919 appears his classic large work on comparative researches in Metabolism during fasting and feeding of the same animal.

In the same year the Physiological Laboratory of the Warsaw Scientific Society is transformed into the Laboratory of Physiology of the then organised Nencki Institute and prof. Białaszewicz is appointed its Director. The next year he gets the position of professor of the Warsaw University receiving the chair of Animal Physiology at the Faculty of Natural Science, and begins lecturing about General Physiology. An entirely original treatment of the subject, a true knowledge, a deeply thought over subject of lectures, the giving of information to a certain extent from the first hand, all this has caused that the lectures of prof. Białaszewicz were leaving on his audience an everlasting impression. Besides, his outstanding values as a pedagogue, are clearly visible in a fine article about Animal Physiology, printed in the Xth Volume of Handbook for Self-education, giving a precise characteristic of the subject from the standpoint of its most essential values and giving many exceptionally valuable hints not only to beginners in the physiological study, but also to the more advanced research workers.

The scope of problems with which Prof. Białaszewicz dealt personally in his creative work was exceptionally vast and manifold. The problems of embryology with which he started his scientific activity did not cease to interest him till the end of his life. These problems however were investigated in his later works with the application of biochemical and physico-chemical methods.

The egg cells were the object of investigations, their chemical, especially mineral constituents, the physico-chemical problems of ooplasm, the phenomenon of the osmotic pressure, the permeability of the membrane of a cell. The embryos were also objects of researches with their metabolism. In embryological works were investigated invertebrates, such as *urchin* and insects as well as vertebrates, *amphibia* and birds. The comparison of data obtained as a result of researches of such various species allowed Prof. Białaszewicz to treat the investigated problems from the viewpoint of comparative physiology extremely valuable for the understanding of the life processes.

In the series of other investigated problems this comparative-physiological attitude was rather an aim in itself. It concerns especially all the numerous works of Prof. Białaszewicz devoted to investigations of energy and material metabolism. The investigated problems concerned chiefly general and intermediary metabolism of organic compounds namely: proteins, carbohydrates and fats as well as the mineral metabolism. These last researches were carried on by Prof. Białaszewicz with special interest and he was an eminent specialist of the subject so important for comparative physiology and in fact so little known.

A problem investigated by Prof. Białaszewicz with no less devotion was the field of Physiology and Biochemistry of the Insects. A beloved object of investigations of the Deceased were the silk-worms in which he considered the gas-exchange as also other processes during the growth of the larvae and in the period of their metamorphosis.

Another scope of interests of Prof. Białaszewicz were problems of absorption in the intestine. In seeking for an adequate method which could give him the possibility of a detailed observation of the amount of the secreted or absorbed water, Prof. Białaszewicz elaborated an extremely original and ingenious method of applying in his researches the azo-dyes, which would be not absorbed in the alimentary canal and the concentration of which after the finished experiment would prove changes in the amount of water in the alimentary canal. It would give in consequence the possibility of investigation the amount of each absorbed and secreted organic and inorganic substance. In his first and sole work dealing with this subject Prof. Białaszewicz (owing to the outbreak of war) is drawing attention to an interesting relation that exists between the degree of absorption and the chemical structure of different azo-dyes.

Prof. Białaszewicz has also great merits in a completely different field of Physiology namely the Physiology of Human Work. In the Physiological Laboratory of Nencki Institute a special set of apparatuses partly of his own invention, were installed for these researches. These methods

has been published by Prof. Białaszewicz in 1933. In the next years several papers were published in this field by his collaborators.

Prof. Białaszewicz published 39 papers. But his contribution into science does not merely consist in them. In a many times larger number of works of his numerous students and collaborators his participation was always evident in a smaller or more often rather in a larger degree. But not only these, who were happy enough to be near him could profit from his knowledge, help and experience; even those who were more distant from him had always the possibility to come for advice and what is more important to find this help. This exceptionally subtle mind, this truly great research worker, simple and modest in everyday life was leaving all who knew him under the influence of his personal charm.

The death of Prof. Białaszewicz is a great loss for Polish Science; and for those who were near him this loss is catastrophic.

Dnia 19 stycznia 1943 r. zmarł w Warszawie śp. prof. dr Kazimierz Białaszewicz, kierownik Zakładu Fizjologii Uniwersytetu Warszawskiego i Zakładu Fizjologii Instytutu im. M. Nenckiego, członek Polskiej Akademii Umiejętności w Krakowie, członek Warszawskiego Towarzystwa Naukowego i wielu innych stowarzyszeń naukowych, założyciel i pierwszy prezes Polskiego Towarzystwa Fizjologicznego, założyciel i wieloletni redaktor pisma *Acta Biologiae Experimentalis*, przede wszystkim zaś — wielkiej miary badacz - eksperymentator. Śmierć tę głęboko odczuli i długo jeszcze odczuwać będą ci wszyscy, którzy w ten lub inny sposób związani byli z pracą naukową w dziedzinie biologii i fizjologii, w większym stopniu ci, którzy osobiście znali Zmarłego, w największym zaś ci, którzy jak autor tego wspomnienia, mieli możliwość i szczęście bezpośredniego i codziennego z Nim obcowania.

Prof. Białaszewicz należał do tego nie często spotykanego typu ludzi, dla których praca naukowa stanowi pierwszą i naj-

istotniejszą potrzebę i który pracy tej oddany był całkowicie i bez zastrzeżeń. Studia swoje rozpoczął w Warszawie, gdzie zaczął specjalizować się w zoologii, w Zakładzie, kierowanym wówczas przez prof. Mitrofanowa. Będąc jeszcze studentem drugiego roku przyrody wykonał pracę na temat „Histogeneza hydry“ i w roku 1904 uzyskał za nią złoty medal. Dalsze swoje studia i pracę doktorską prowadził w Zakładzie Embriologii Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie u prof. E. Godlewskiego jun.

Aczkolwiek studia uniwersyteckie i pierwsze badania prof. Białaszewicza dotyczyły zagadnień morfologicznych, już jednak i w pierwszych tych pracach zaczyna przeświecać punkt widzenia fizjologiczny, który wkrótce zaczyna dominować i nie tylko odsuwa Go coraz bardziej od zagadnień morfologii, lecz robi Go nawet niejako „wrogiem“ tego kierunku badań, w którym, jak mawiał, nieraz prawie zapomina się, że się ma do czynienia z objektem żywym.

Po przeniesieniu się do Warszawy prof. Białaszewicz rozpoczyna badania w Pracowni Fizjologicznej Warszawskiego Towarzystwa Naukowego i w r. 1914 ukazuje się Jego praca już czysto fizjologiczna, dotycząca produkcji ciepłej pijawek. W roku następnym wykonane zostają badania nad wyzyskaniem energetycznym białka u pijawek, w roku zaś 1919 zjawia się Jego klasyczna obszerna praca z dziedziny badań porównawczych nad ogólną przemianą materii i energii w czasie głodu i odżywiania u tego samego zwierzęcia.

W tym samym roku Pracownia Fizjologiczna Warsz. Tow. Nauk. zostaje przekształcona w Zakład Fizjologii powstającego właśnie w tym czasie Instytutu im. M. Nenckiego, przy czym prof. Białaszewiczowi zostaje powierzone jego kierownictwo. W roku następnym zostaje On mianowany profesorem zwyczajnym Uniwersytetu Warszawskiego, otrzymując katedrę Fizjologii Zwierząt na wydz. mat.-przyr. i rozpoczyna wykłady z fizjologii ogólnej zwierząt. Zupełnie oryginalne ujęcie przedmiotu, prawdziwa wiedza, głęboko przemyślana treść wykładów, podawanie wiadomości niejako z pierwszej ręki, wszystko to powodowało, że wykłady prof. Białaszewicza po-

zostawiały na Jego słuchaczach niezatarte wrażenie. Odzwierciedleniem Jego wybitnych zalet jako pedagoga jest ponadto piękny artykuł o fizjologii zwierząt, wydrukowany w T. X Poradnika dla Samouków, trafnie charakteryzujący ten przedmiot od strony jego cech najistotniejszych i udzielający wielu niezwykle cennych wskazówek nie tylko osobom przystępującym do studiowania fizjologii, lecz i zaawansowanym badaczom.

Zmiana stanowiska i związana z tym możliwość całkowitego usamodzielnienia się i uniezależnienia się w pracy badawczej, możliwości kształcenia uczniów i dobierania sobie współpracowników, znajdują swój wyraz we wzmożeniu rozpędu twórczego i w powiększeniu zakresu tematów badań. W obecnym rozwoju nauk eksperymentalnych, przy specjalizacji posuniętej tak bardzo daleko, postać prof. Białaszewicza jako badacza wydaje się być czymś zupełnie wyjątkowym, zarówno ze względu na zakres interesujących Go i badanych przez Niego zagadnień, jak i różnorodność stosowanych w tych badaniach metod. Prof. Białaszewicz jako fizjolog był właściwie prawdziwym samoukiem. Dokładne opanowanie niezwykle dużej ilości metod fizjologicznych, biologicznych, biochemicznych, wreszcie — fizyko-chemicznych zawdzięczał wyłącznie samemu sobie. Stosowane przez Niego metody są w pracach Jego zawsze dokładnie sprawdzone, często odpowiednio zmodyfikowane, nie rzadko specjalnie wynalezione, w Jego publikacjach zaś zawsze w sposób wyczerpujący opisane. Przysparza to badaniom Jego wartość nieprzemijającą, dając jednocześnie cenny i trwały wkład do nauki.

Mając otwartą głowę, widzące oczy i wrażliwe serce bardzo żywo reagował na każde zagadnienie naukowe. Jego wnikliwy umysł i niezwykle rozwinięta intuicja pozwalały Mu szybko i bezbłędnie wykryć sedno sprawy, skierować uczniów i współpracowników na właściwe tory, przestrzec przed błędami. Jakżeż często zdarzało się nam, uczniom Jego, w okresach depresji, gdy praca z jakichkolwiek względów nie szła, już nieraz po krótkiej z Nim rozmowie innymi oczyma patrzeć i na samo zagadnienie i na przyczyny niepowodzeń i z nową otuchą zabierać się do roboty. Wymagający w pracy, ale głów-

nie i przede wszystkim w stosunku do samego siebie, potrafił jednocześnie szczerze radować się i cieszyć nawet drobnymi sukcesami i powodzeniami swoich współpracowników.

Zakres zagadnień, w których prof. Białaszewicz osobiście twórczo pracował, był wyjątkowo duży i różnorodny. Kwestie embriologiczne, od których rozpoczął swoją działalność naukową, nie przestawały Go interesować do końca Jego życia. Zagadnienia te jednak badane były w Jego pracach późniejszych pod kątem widzenia wyłącznie już fizjologii rozwoju z zastosowaniem metod biochemicznych i fizyko-chemicznych. Objektami badań były same komórki jajowe, ich skład chemiczny, szczególnie skład mineralny, zagadnienia fizyko-chemiczne ooplazmy, zjawiska ciśnienia osmotycznego, przepuszczalności błony komórkowej. Objektami badań były również i zarodki w różnych stadiach rozwojowych, badane z punktu widzenia ich metabolizmu materialnego i energetycznego. Otrzymane w czasie studiów uniwersyteckich gruntowne przygotowanie biologiczne i morfologiczne pozwalało prof. Białaszewiczowi na odpowiednio celowe dobieranie najbardziej nadającego się do poszczególnego zagadnienia gatunku zwierzęcia. W tych zatem pracach embriochemicznych badane były zarówno zwierzęta bezkręgowce jak jeżowce i owady, jak też zwierzęta kręgowce — płazy i ptaki.

Zestawienie danych, otrzymanych z badań tak różnorodnych gatunków, pozwalały prof. Białaszewiczowi na traktowanie badanych zagadnień z punktu widzenia fizjologiczno-porównawczego, tak niezmiernie cennego dla zrozumienia procesów życiowych. W szeregu innych tematów badań ten fizjologiczno-porównawczy punkt widzenia stanowił niejako cel sam w sobie. Dotyczy to licznych prac prof. Białaszewicza poświęconych porównawczym badaniom przemiany materii i energii. Opracowywane zagadnienia dotyczyły ogólnych i cząsteczkowych przemian związków organicznych, więc białek, węglowodanów i tłuszczów, jak również i przemian składników mineralnych. Badaniom tych ostatnich prof. Białaszewicz oddawał się ze specjalnym zamiłowaniem i był wybitnym znawcą tego przedmiotu tak ważnego dla fizjologii porównawczej i tak właściwie mało poznanego.

Celem zapoznania się z możliwie różnorodnym materiałem zwierzęcym prof. Białaszewicz kilkakrotnie wyjeżdżał zagranicę i prowadził badania na stacjach morskich w Roscoff i Neapolu. Owocem tych właśnie badań było kilka prac dotyczących składu mineralnego i jego regulacji we krwi i w mięśniach szeregu zwierząt morskich.

Zagadnieniem, którym prof. Białaszewicz zajmował się z nie mniejszym zamiłowaniem, była dziedzina fizjologii i biochemii owadów. Ulubionym objektem badań Zmarłego były przy tym jedwabniki, u których badane były zarówno wymiana gazowa, jak i inne przemiany materialne i energetyczne w czasie wzrostu gąsienic i w czasie metamorfozy. Prace te były prowadzone aż do wybuchu wojny, ale również i w czasie okupacji prof. Białaszewicz robił, pomimo zupełnie nie sprzyjających warunków, wytrwale próby kontynuowania analiz chemicznych zebranego poprzednio materiału.

Inną dziedziną zainteresowań prof. Białaszewicza były zagadnienia chłonięcia w przewodzie pokarmowym. W poszukiwaniu odpowiedniej metody, która umożliwiłaby dokładnie śledzenie ruchu wydzielanej wzgl. chłonięcej w jelicie wody, prof. Białaszewicz wpadł na niezwykle oryginalny i ciekawy pomysł zastosowania do badań barwików azowych, które nie byłyby chłonięte w przewodzie pokarmowym i których zatem stężenie po skończonym doświadczeniu wskazywałoby na zmiany w ilości wody w danym odcinku przewodu pokarmowego. Pozwalałoby to z kolei na zbadanie ilości poszczególnych chłoniętych wzgl. wydzielanych substancji organicznych i nieorganicznych. Badania powyższe, które miały być i dalej kontynuowane, doprowadziły przede wszystkim do stwierdzenia, że poszczególne barwiki azowe są chłonięte w bardzo różnym stopniu. W pierwszej i jedynej ze względu na wybuch wojny pracy na ten temat, prof. Białaszewicz zwraca uwagę na ciekawą zależność pomiędzy stopniem chłonięcia a budową chemiczną różnych barwików azowych.

Zupełnie inną wreszcie dziedziną fizjologii, w której prof. Białaszewicz również położył niemałe zasługi—była dziedzina fizjologii pracy człowieka. W Zakładzie Fizjologii Instytutu im. M. Nenckiego zainstalowana została do tych badań specjal-

na aparatura składająca się z różnorodnych częściowo własnego pomysłu tzw. ergometrów, przyrządów służących do ilościowego mierzenia wykonanej przez organizm pracy, oraz szeregu przeważnie własnych i bardzo pomysłowych przyrządów do badania wymiany gazowej. Metodyka i technika tych doświadczeń została ogłoszona przez prof. Białaszewicza w r. 1933, w następnych zaś latach ukazał się szereg prac z tej dziedziny, wykonanych przez Jego współpracowników.

Prof. Białaszewicz ogłosił drukiem 39 prac naukowych. Wkład Jego do nauki bynajmniej nie wyczerpuje się jednak tymi pracami. W wielokrotnie większej liczbie prac Jego licznych uczniów i współpracowników udział Jego zawsze przejawiał się w mniejszym lub częściej właśnie — w większym stopniu. Ale nietylko ci, którym dane było pracować bezpośrednio obok Niego, mogli korzystać z wiedzy Jego, pomocy i doświadczenia. Nawet i dalej od Niego stojący zawsze mieli możliwość przyjścia do Niego po radę, i co ważniejsze — tę radę znaleźć. Ten niezwykle subtelny umysł, ten prawdziwie wielki badacz, prosty w obejściu i skromny w życiu człowiek, na każdym, kto z Nim obcował, pozostawiał urok i czar swojej osobowości. Śmierć Prof. Białaszewicza jest wielką stratą dla Nauki Polskiej, dla tych zaś, którzy byli bliżej Niego — jest stratą nie do powetowania.

Historia Polskiego Towarzystwa Fizjologicznego
w latach okupacji niemieckiej (1939 — 1944).¹⁾

*The History of the Polish Physiological Society, during the Years
of German Occupation (1939—1944)²⁾*

Fr. Czubalski

After the first post-war General Meeting my task is to report the activities of the Polish Physiological Society in the period of German occupation (1939—1944) and to describe the conditions in which this activity was developing. I think in the first place about those from among us, who during these long and dismal years of the last war were taken away by implacable death. I appeal to my Colleagues to honour by a few moments of silence and concentration the memory of all these members of our Society who since the last Meeting in 1938 till to day perished owing to natural death, or in an armed fight with the enemy, or owing to prisons, concentration camps and other German crimes. From among the names already known to me, I must mention with a deep sorrow late Prof. Kazimierz Białaszewicz active member of highest merits and one of the founders of the Society, late Prof. Emil Godlewski and late Prof. St. Kopeć shot in May 1941 by the Germans; as well as Honorary Members: Prof. Dr. Adolph Beck who died in a tragic way during the occupation of Lwów and Prof. Dr. Leon Marchlewski.

The outbreak of German - Polish war which embracing the whole of Europe with its flames and afterwards the whole of the world has plunged humanity and especially the Polish nation into many years of chaos, of indescribable sufferings

1) Odczytano na III Walnym Zgromadzeniu Polskiego Towarzystwa Fizjologicznego w Łodzi dn. 29 września 1946 r.

2) Presented at the III General Meeting of the Polish Physiological Society in Łodz, 29th September 1946.

and ruin in the field of culture and science. The enemy began systematically to seize in an iron grip the whole country, for long, as it proved to be years. The Polish Physiological Society has shared the fate of all the Polish cultural and scientific institutions and officially ceased to exist. During the first weeks and months of occupation the linking of a mutual contact among the members of the Polish Physiological Society was impossible for many reasons. The then existing political situation has rendered impossible the contact of people not only in different parts of the country, which practically lasted till the end, but even in Warsaw. In November 1939 the fate brought about that henceforth I was entrusted with the duty of President of the Polish Physiological Society and resulting from it responsibility before the Society.

Accidentally I have met in the street the man who since its origin was the soul of the Society — the not any longer living Prof. Kazimierz Białaszewicz. A hearty greeting ensued and then followed a quick decision of an instant longer talk. In an already non-existing tea-room we talked about many problems so painfully felt. A vivid memory of this talk, as if it was yesterday will stay in my memory for a long time. What a cheerfulness and healthy optimism was in the words of Prof. Białaszewicz, contrasting strongly with the then gloomy reality, as well as what an amount of faith in a better to-morrow! One of the subjects dealt with, during this talk was the problem of the Polish Physiological Society. We agreed then both and decided that the Polish Physiological Society cannot stop its activities even if in a limited, owing to circumstances, area of work. Warsaw in the first place as a great city and the capital of the country was offering the greatest possibilities of clandestine activity also in this field. So the scientific outpost, where a small group of older and younger scientists could meet and present their own scientific work, should be kept at every price, which can serve as a basis to an exchange of thoughts on these subjects and to a general discussion. Everything ought to be done in order not to allow a complete smashing and scattering of Polish scientists in the field of physiology. It was also an obvious thing, that the keeping of organiz-

ational bonds also in this sector of Polish life, could have a serious value in the maintenance of a possibly uniform Polish front against the German occupant. So was born the idea of the duration and activity of our Society, such are the origins of the history of the Polish Physiological Society in the years of German occupation.

The then originated idea was realised in the first days of January 1940 on the first secret meeting of the members of the Society which took place in the flat of Prof. Stanisław Przyłęcki with the following persons present, as far as I can remember: Białaszewicz, Czubalski, Dmochowski, Kopeć, Przyłęcki, Zawadzki, Vieweger, in the next meetings were taking part: Gartkiewicz, Walawski, Sym, Niemierko, Zieliński. On one of the meetings Rector Pieńkowski was also present. After a longer discussion and an evaluation of the general situation in the country and especially in the field of Polish science, such as the closing by the occupant of all the Laboratories, the extinguishing of all the centres of creative work, the use of still more painful repressions towards the representatives of the world of science. It was decided to restart in conspiracy the scientific meetings of the Society serving an active centre of the exchange of scientific and research thought. Owing to great difficulties and a relatively common impossibility of contact with the laying outside of Warsaw branches of the Society, it was decided to limit themselves to the territory of Warsaw. Besides from the sake of conspiracy the number of the invited for each meeting was fixed to 10—12 persons. The scientific meetings were carried without greater intervals, usually once for a month or every two months, which depended on the prepared papers and conditions of security. The meetings of the Society were assembled in the flats of Prof. Przyłęcki, Białaszewicz, Czubalski, Korczewski, Walawski, Vieweger and also in the Institute of Chemistry of the School of Dr. Zaorski; this Institute during a certain time was situated in the Institute of Microbiology of the Warsaw University. Of course in many cases the meetings had to be revoked from necessary precaution. Many notes, informations and reports perished during the Warsaw Rising. From the remaining

material saved from destruction, we can establish the number of meetings for 32. Papers were delivered as follows: Białasze-wicz — The Regulation of the Osmotic Pressure in muscles. Przyłęcki — The Structure of Proteins, The Structure of the Protoplasm, Enzymes, Vitamins. Korczewski — Electronic microscope, Viruses, Problems of the Assimilation of CO₂. Zawadzki — The Origin of Acetylcholine, The Role of the Periterminal Net, A Theory of Nervous Transmission, A Theory of the Central Nervous System. Sym — On the Metabolism of the Bacteria of Tuberculosis. Walawski — On Problems of Typhus. Zieliński — On the Chemistry of the Cell Nucleus.

Besides there were organised several meetings, concerning the organization of Science in Poland after the war, with many reports and a lively discussion on the subject. One of the last meetings was devoted to the memory of the deceased Prof. Dr. K. Białaszewicz. The year 1944 was not propitious for the meetings of the Society — the terror of the occupant reached its climax in the whole country and especially in Warsaw, where this year was marked by public executions on the streets of the capital, the outbreak however of the Warsaw Rising with as its consequences a complete destruction of the city and the expulsion of all its inhabitants finally put an end to the clandestine activity of the Polish Physiological Society. It regenerated publicly in the second half of 1945, after the driving away of the Germans from Poland.

Owing to the initiative of the Polish Physiological Society during the occupation it was also possible to organize in the Laboratories of the University a production of vitamins. The vitamins were supplied to the Council of General Assistance and distributed all over the country. The production of vitamins was carried on in the last time on a large enough scale; on one hand meeting the great needs of the Polish community in this field on the other this was a modest source of income and maintenance for a group of scientists who with the moment of the outbreak of war fell into a difficult financial situation. The production of vitamins in the Institutes of the University, to what the occupation authorities have given

their assent by intermediary of the Council of General Assistance gave the possibility to organize in the premises of the above mentioned Institute of a School of Docent Dr. Zaorski, which as it is known was a clandestine Medical Faculty and existed there till February 1943 i. e. to the moment of expulsion from the territory of the University of the School by the German authorities and till the confiscation of the whole property of the Laboratory. Prof. Przyłęcki was the manager of the Laboratory of Vitamins and he has chosen a large group of co-workers from among younger scientists.

The organization of the Polish scientific work in the field of Physiology has allowed to issue a special publication in which Polish Physiological works are inserted in translations into other languages. This has an international as well as educational value giving the possibility of printing papers and encouraging young scientists to look for a valuable material worth of this publication. The creation of the Polish Physiological Society gave the possibility to Polish Physiologists to enter as a separate group into the International Physiological Congress. Our scientific world in the international field is represented by the Polish Physiological Society which is responsible for an adequate level of the Polish scientific workers participating in the international co-operation of scientists.

The war was a serious draw-back in the vivid and vigorous development of the Polish Physiological Society. Many members of the Society went away from us for ever. Those however who were left, have the duty, which they cannot forget to bind together the broken string and to take anew the work based on the already existing fine traditions of the Society. Among the young generation are growing new, full of enthusiasm and ability research workers, new laboratories of Polish Scientific work instead of the old non-existing are created. Besides Łódź, Lublin and Toruń new centers of our knowledge begin to flourish on the ancient Polish lands in Gdańsk and Wrocław. Our task consists in collecting in the country all those who can work actively in the field of physiology and to tie them anew with organizational bonds of the Polish Physiological Society and to restart a lively and full of inner meaning march towards

a beautiful future of Polish science and Polish creative work in the field of Physiology.

We have come there fore to-day for the first post-war General Meeting in Łódź. Although our Statute says that the seat of the General Board ought to be Warsaw, according to the resolution of this Board we have met this time in Łódź. Why it has happend and what are the consequences? It is generally known that Warsaw conscious of its role of the capital of the state was during the occupation the brain and heart of Poland. The enemy not only knew it, but resented it deeply-this is the reason of the great hatred of the Germans against Warsaw, expressed by a specially cruel terror towards the inhabitants of the city and the limitless activity of destruction of the occupant of all the national and cultural institutions of the capital. And when at the end of war the inflexible and heroic Warsaw has thrown to the enemy an open challenge then the fate of the city was doomed.

It is obvious that the circumstances mentioned above have caused temporal changes in the settlement of different serious outposts of scientific life outside of Warsaw. Łódź is the nearest to Warsaw large and undamaged by the storm of war — city and is not only a seat of a newly created University, but has given also a refuge for scientific institutions previously existing in Warsaw, and the transport of which back to its Mother-city can be done only gradually with the advancing reconstruction of it. Owing to this reasons a group of young physiologists has gathered in Łódź, and expressed the wish to take on their shoulders the responsible task of reconstruction of the Polish Physiological Society. Taking into account these post-war conditions, the General Board of the Society decided to remove temporarily the abode of the Polish Physiological Society to Łódź and to held there its General Meeting. I am convinced that when the circumstances will allow it, the General Board of the Society will return to Warsaw as to its real abode, with which it is strongly bound with traditional bonds. In Warsaw was originated and realised the idea of creating the Society; with this city is connected its vigorous life and pre-war development, with Warsaw finally are connected the names of

the Organizers of the Society and the memory of the untiresome till his death full of merits for the Society eminent Polish Physiologist Late Prof. Kazimierz Białaszewicz. With this words and thoughts I finish my speech giving to you Dear Colleagues as a New Board of the Society undertaking a great and responsible task, my heartiest wishes of the best results of this work in the field of Science and Polish Culture.

Przystępując na pierwszym powojennym Walnym Zebraniu do sprawozdania z działalności Pol. Tow. Fizjol. w okresie okupacji niemieckiej (1939 — 1944) oraz do nakreślenia warunków w jakich ta działalność się rozwijała, biegnę przede wszystkim myślą do Tych spośród nas, których w ciągu długich i ponurych lat ostatniej wojny i okupacji zabrała nieubłagana śmierć. Nie mając do obecnej chwili dokładnych danych o losach każdego z członków Towarzystwa i nie mogąc skutkiem tego ustalić ściśle i imiennie listy strat, zwracam się do Kolegów, aby przez chwilę ciszy i skupienia zechcieli uczcić pamięć wszystkich członków naszego Towarzystwa, którzy od chwili ostatniego Zebrania w 1938 r. aż po dzień dzisiejszy zmarli czy to śmiercią naturalną, czy w walce orężnej z wrogiem, czy na skutek więzień, obozów i innych zbrodni niemieckich. W miarę pewnego ustalania tych żałobnych dat, imiona i nazwiska zmarłych członków będą ogłaszane w wydawnictwach Towarzystwa. Spośród znanych mi już dzisiaj nazwisk zmarłych muszę z bólem serca wymienić ś. p. prof. Kazimierza Białaszewicza, wielce zasłużonego członka czynnego i jednego z założycieli Towarzystwa, ś. p. prof. Emila Godlewskiego i ś.p. prof. St. Kopia, rozstrzelanego w marcu 1941 r. oraz członków honorowych prof. dra Adolfa Becka, tragicznie zmarłego w okresie okupacji Lwowa przez Niemców i prof. dra Leona Marchlewskiego.

W październiku 1939 roku miało się odbyć w Warszawie Walne Zebranie Członków Pol. Tow. Fizjologicznego. Na tym zebraniu zgodnie ze statutem Tow., ustępujący Zarząd powinien był złożyć sprawozdanie ze swej kadencji, po przyjęciu

przez Zebranie sprawozdania Prezesa Zarządu oraz udzieleniu absolutorium na wniosek Komisji Rewizyjnej—Walne Zebranie było obowiązane dokonać wyborów, które dałyby podstawę prawną do ukonstytuowania się nowego Głównego Zarządu Pol. Tow. Fizjol. z wybranym prezesem na czele. Jak wiadomo w dniu 1 września 1939 r. nastąpił wybuch wojny polsko-niemieckiej, która, obejmując szybko swymi płomieniami całą Europę, a następnie świat cały, pogrzyżyła ludzkość, a w szczególności naród polski na wiele lat w odmęt nieopisanych cierpień oraz zniszczeń w zakresie kultury i nauki. Przyszedł tragiczny październik 1939 r., w którym po upadku bohatercko broniącej się stolicy Państwa — Warszawy, wróg systematycznie zaczął chwytać w kleszcze ciężkiej i groźnej dla narodu okupacji kraj cały na długie, jak się okazało, lata. Wtedy Polskie Tow. Fizjol. podzieliło los wszystkich polskich instytucji kulturalno-naukowych i oficjalnie przestało istnieć. W pierwszych tygodniach, a nawet miesiącach okupacji nawiązanie wzajemnego kontaktu z członkami Pol. Tow. Fizjol. było niemożliwe z wielu względów. Ogólny gwałtowny wstrząs, jakiemu uległo społeczeństwo po błyskawicznie spadających na państwo i naród ciosach wojennych, nie sprzyjał jeszcze jakiegokolwiek próbie organizowania życia polskiego na nowych konspiracyjnych podstawach. Staliśmy wtedy bezradni wobec ruin dotychczasowego życia, nie mogący, pomimo wszystko, uwierzyć w to co się stało — ratując się przed całkowitym załamaniem jakimiś nieokreślonymi bliżej, tkwiącymi gdzieś w głębi duszy, nadziejami na bliską i skuteczną pomoc sojuszników, która miała przynieść szybkie wyzwolenie umęczonemu i zrozpaczonemu narodowi. Nie przypuszczaliśmy wtedy, że życie narodu organizować się musi na długie lata w podziemiach, aby przetrzymać i przetrwać za cenę największych nawet ofiar, ciosy wroga, którego celem było całkowite zniszczenie narodu. Ówczesna sytuacja polityczna uniemożliwiała zresztą porozumienie się ludzi nie tylko w różnych częściach kraju, co pozostało właściwie do końca, ale nawet w samej Warszawie. Wielu mieszkańców Warszawy wojna zaskoczyła w środku niemal lata poza murami stolicy, wielu wyemigrowało z Warszawy, na skutek wezwania władz, przed oblęże-

niem miasta. W październiku i listopadzie przysła dopiero fala powrotna. Co dnia i co godzina spotykali się wtedy na ulicach Warszawy ludzie, którzy się nie widzieli od chwili wybuchu wojny, zamieniając z sobą serdeczny uścisk ręki, często bez słów, ciesząc się jedynie, że się jeszcze widzą. W taki oto dzień listopadowy 1939 r. los zrzucił, że ja, siłą wypadków obarczony nadal obowiązkami prezesa Pol. Tow. Fizjol. i wynikającą stąd wobec Towarzystwa odpowiedzialnością, spotkałem na Krakowskim Przedmieściu człowieka, który był od początku duszą Towarzystwa, nieżyjącego już dziś prof. Kazimierza Białaszewicza. Nastąpiła chwila serdecznego przywitania się, a następnie szybka decyzja odbycia niezwłocznie dłuższej pogawędki. W nieistniejącej już dziś cukierni Żmijewskiego, tuż koło obecnych ruin kościoła Świętego Krzyża, rozmawialiśmy przy szklance czarnej kawy o jakże wielu tak boleśnie odczuwanych sprawach. Żywe wspomnienie tej rozmowy, jak gdyby się to działo wczoraj, pozostanie w mej pamięci na długo. Wieleż w słowach ś. p. prof. Białaszewicza było pogody ducha i zdrowego optymizmu, jaskrawo odbijającego od ponurej ówczesnej rzeczywistości, wiele wiary w przyszłość, w lepsze jutro! Po tej rozmowie, której nie chciało się przerywać, poczułem się sam silniejszy i bardziej wewnętrznie opanowany. Jednym z poruszonych przez nas tematów była oczywiście sprawa Pol. Tow. Fizjol. Zgodziliśmy się wtedy obydwaj i postanowiliśmy, że Pol. Tow. Fizjol. nie może przerywać swojej działalności, choćby w ograniczonych siłą rzeczy rozmiarach organizacyjnych i terenowych. Warszawa przede wszystkim, jako wielkie miasto i stolica kraju, dawała najwięcej możliwości konspiracyjnego działania także i w tym kierunku. Należało więc za wszelką cenę utrzymać placówkę naukową, gdzie choć niewielkie grono starszych i młodszych uczonych mogłoby się spotykać, celem przedstawienia własnego dorobku naukowego, na co będzie się można w przyszłości powoływać, wymiany myśli na te tematy oraz ogólnej dyskusji. Należało wszystko zrobić, aby nie dopuścić do pełnego rozbitcia i rozproszkowania uczonych polskich w zakresie fizjologii. Jasną było również rzeczą, że zachowanie więzi organizacyjnej na tym także odcinku życia polskiego,

mogło mieć poważne znaczenie w utrzymaniu możliwie jednolitego frontu polskiego wobec niemieckiego okupanta. Tak się zrodziła myśl naszego, jako Towarzystwa, trwania i działania, takie są początki historii Pol. Tow. Fizjol. w latach okupacji niemieckiej.

Myśl wtedy powzięta została zrealizowana w pierwszych dniach stycznia 1940 r. na I tajnym zebraniu członków Towarzystwa, odbytym w mieszkaniu prof. Stanisława Przyłęckiego (Marszałkowska 35) w obecności, jeżeli mię pamięć nie myli, następujących osób: Białaszewicz, Czubalski, Dmochowski, Kopeć, Korczewski, Przyłęcki, Zawadzki, Vieweger; w późniejszych zebraniach brali jeszcze udział: Gartkiewicz, Waławski, Sym, Niemierko, Zieliński. W jednym posiedzeniu brał również udział rektor Pieńkowski. Po dłuższej dyskusji oraz ocenie położenia ogólnego kraju, w szczególności na terenie nauki polskiej, jako to: zamknięcia przez okupanta wszystkich warsztatów pracy, zgaszenia wszystkich ognisk twórczych, stosowania coraz to dotkliwszych represji w stosunku do przedstawicieli świata nauki — postanowiono konspiracyjnie wznowić w miarę możliwości posiedzenia naukowe Towarzystwa, jako czynne ognisko wymiany myśli naukowo-badawczej. Ze względu na wielkie utrudnienia względnie zwykłą niemożność porozumienia się z pozawarszawskimi ośrodkami, działalność Towarzystwa postanowiono ograniczyć do terenu Warszawy, przy czym ze względów konspiracyjnych ustalono liczbę zapraszanych na poszczególne posiedzenia członków na 10 — 12 osób. Posiedzenia naukowe odbywały się bez większych przerw, z wyłączeniem okresów wakacyjnych, przeciętnie raz na miesiąc lub na dwa miesiące, zależnie od materiału referatowego oraz warunków bezpieczeństwa. Posiedzenia Towarzystwa odbywały się w mieszkaniach prof. Przyłęckiego (Marszałkowska 35), Białaszewicza (Instytut Radowy), Czubalskiego (6 Sierpnia 4), Korczewskiego (Aleja Niepodległości 46), Waławskiego (Rakowiecka 45b), Viewegera, a także w Zakładzie Chemii Szkoły doc. Zaorskiego, który to Zakład przez jakiś czas mieścił się w Zakładzie Mikrobiologii Uniwersytetu Warsz. na Nowym Świecie. Oczywiście, że nie zawsze można było utrzymać wyznaczony termin zebrań. W wielu przypadkach trzeba było ze-

branie odwoływać ze względów ostrożności. Dużo notatek, zapisów i protokółów poginęło w okresie powstania. Z tych co ocalały można ustalić w przybliżeniu liczbę posiedzeń na 32. Referaty wygłosili: Białaszewicz: Regulacja ciśnienia osmotycznego w mięśniach, Przyłęcki — na temat: Budowa białek, budowa protoplazmy, wielkocząsteczkowce, enzymy, witaminy, Korczewski: o mikroskopie elektronowym, o wirusach, o zagadnieniu asymilacji CO₂, Zawadzki — o pochodzeniu acetylocholino, rola sieci periterminalnej, teoria przenoszenia stanu czynnego w nerwach, teoria centralnego układu nerwowego (na kilku posiedzeniach), Sym — o przemianie materii w prątkach gruczołowych, Waławski — o zagadnieniu duru plamistego, Zieliński — o chemizmie jądra komórkowego.

Oprócz tego odbyło się kilka posiedzeń, poświęconych organizacji nauki w Polsce po wojnie, z wieloma referatami i ożywioną na ten temat dyskusją. Na wszystkich zresztą posiedzeniach odbywała się po wygłoszeniu referatu dyskusja. Jedno z ostatnich posiedzeń poświęcone było uczczeniu pamięci zmarłego prof. dra Kazimierza Białaszewicza. Rok 1944, kiedy terror okupanta wzmógł się do najwyższych granic na terenie całego kraju, a w szczególności w Warszawie, gdzie zaznaczył się publicznymi egzekucjami na ulicach stolicy, nie sprzyjał zebraniom Towarzystwa, wybuch zaś Powstania Warszawskiego z następstwami, całkowitym zniszczeniem miasta i wygnaniem ludności, położył ostatecznie kres działalności konspiracyjnej Pol. Tow. Fizjol. Odrodziło się ono, jako Towarzystwo jawne i zarejestrowane, w drugiej połowie 1945 roku po wypędzeniu Niemców z Polski. Sprawozdanie z działalności Towarzystwa za ten okres, który doprowadził do dzisiejszego Walnego Zebrania, złożył Kolegom pod koniec mego przemówienia.

Z inicjatywy Pol. Tow. Fizjol. w czasie okupacji udało się również zorganizować w pracowniach Zakładów Fizjologii i Chemii Fizjologicznej Uniwersytetu na Krak. Przedm. wyrób witamin dostarczanych Radzie Głównej Opiekuńczej, która rozprowadzała witaminy po kraju. Fabrykacja witamin odbywała się ostatnio na dość znaczną skalę, co z jednej strony zaspakajało duże potrzeby polskiego społeczeństwa w tym kie-

runku, z drugiej zaś strony było skromnym źródłem zarobków i utrzymania dla grupy naukowców, którzy z wybuchem wojny znaleźli się w krytycznym położeniu materialnym. Akcja wyrobu witamin w Zakładach Uniwersytetu, na którą władze okupacyjne dały zezwolenie za pośrednictwem R. Gł. Opiekuńczej, umożliwiła w marcu 1941 roku pomieszczenie w tychże Zakładach Szkoły doc. Zaorskiego, która jak wiadomo, była zakonspirowanym Wydziałem Lekarskim i pozostawała tam do lutego 1943 r., tj. do chwili usunięcia z terenu Uniw. Szkoły przez władze niemieckie i skonfiskowania całego inwentarza Zakładów. Kierownikiem pracowni witamin był prof. Przyłęcki, który dobrał sobie spośród młodszych naukowców dość liczne grono współpracowników.

Jeżeli chodzi o sprawozdanie z ostatniego roku przed wybuchem wojny, które powinno było być złożone na projektowanym w październiku 1939 roku Walnym Zebraniu Polskiego Towarzystwa Fizjologicznego, to oczywiście nie da się ono już dzisiaj odtworzyć. Dla nawiązania ciągłości historycznej pozostaje mi jedynie powołać się na słowa, wypowiedziane przeze mnie w charakterze Prezesa Tow. na Walnym Zebraniu w Wilnie w 1938 r. podkreślające znaczenie i stały rozwój Pol. Tow. Fizjol.

„Rozrzuceni i luzem chodzący pracownicy na polu nauk fizjologicznych zaczęli się skupiać i organizować, zaczęli poznawać owoce swej pracy oraz liczyć swe siły i możliwości. Okazało się, że mamy już za sobą dość poważny dorobek naukowy, że prace w zakresie fizjologii biją żywym tętnem, a przy warsztatach tej pracy obok starszych staje coraz to większe grono młodszych i zgoła młodych pracowników.

Ujęcie polskiego świata i jego dorobku naukowego w zakresie fizjologii w ramy organizacji pozwoliło już dzisiaj stworzyć specjalne wydawnictwo, w którym są pomieszczane w językach obcych polskie prace fizjologiczne, co ma ogromne znaczenie propagandowe o zasięgu międzynarodowym, a także wychowawcze, umożliwiające druk prac i zachęcające przez to młodych badaczy do zdobywania godnego publikacji materiału. Wreszcie powstanie P.T.F. pozwoliło polskim fizjologom wejść, jako odrębnej grupie, na teren międzynarodowej orga-

nizacji, jaką jest instytucja Międzynarodowych Zjazdów Fizjologów. Wyłączna reprezentacja naszego świata naukowego w tym dziale przez P.T.F. na terenie międzynarodowym i możliwość czuwania nad poziomem naukowym wystąpień tam polskich pracowników naukowych przyczynić się musi obok wartości naszego dorobku do podniesienia powagi polskich zbiorowych wystąpień naukowych międzynarodowych“.

Sądzę, że słowa te przywiodą nam dokładnie na pamięć cele, które przyświecały założycielom Towarzystwa, drogi, po których ono kroczyło oraz dużej wagi osiągnięcia, do jakich doszło po kilku zaledwie latach istnienia, skupiając polskich fizjologów nie tylko w stolicy kraju, ale i w innych naszych ówczesnych ośrodkach życia naukowego, w oddziałach Towarzystwa w Krakowie, Lwowie, Łodzi, Poznaniu i Wilnie. Wojna zahamowała rozpęd organizacyjny oraz bujne życie wewnętrzne Pol. Tow. Fizjol. Wielu czynnych i zasłużonych członków Tow. odeszło od nas na zawsze. Ci jednak, co pozostali, mają obowiązek, od którego nie wolno się im uchylić, nawiązania zerwanej nici i podjęcia pracy na nowo w oparciu o istniejącą już piękną tradycję Towarzystwa. Z młodego pokolenia wyrastają nowi, pełni zapału i talentu badacze, powstają na miejsce dawnych, dziś już nieistniejących, nowe warsztaty polskiej pracy naukowej — obok Łodzi, Lublina i Torunia, rozkwitają ogniska wiedzy rodzimej na prastarych ziemiach polskich w Gdańsku i Wrocławiu. Zadaniem naszym jest zwołać wszystkich w kraju zdolnych do pracy na niwie fizjologii, ponownie związać ich organizacyjnie w ramach Pol. Tow. Fizjologicznego i rozpocząć żywy i pełen wewnętrznej treści marsz ku pięknej przyszłości polskiej nauki i polskiej twórczości w zakresie fizjologii. W tym celu zjechaliliśmy się dzisiaj na pierwsze powojenne Walne Zebranie Pol. Tow. Fizjol. w Łodzi. Choć statut nasz mówi, że siedzibą Zarządu Głównego, a co za tym idzie i miejscem Walnych Zebrań powinna być Warszawa, to jednak tym razem na skutek uchwały Zarządu Głównego zjechaliliśmy się w Łodzi. Dlaczego tak się stało i jakie stąd wynikają konsekwencje? Powszechnie jest nam wszystkim wiadomo, że Warszawa, świadoma swej roli — stolicy Państwa, była przez cały czas okupacji mózgiem i sercem Polski.

Wróg nie tylko wiedział o tym, ale i żywo to odczuwał, stąd wielka nienawiść Niemców do Warszawy, wyrażająca się szczególnie silnym terrorem, stosowanym do mieszkańców miasta oraz bezgranicznie niszczycielską działalnością okupanta w stosunku do instytucji narodowo-kulturalnego życia stolicy. A gdy u schyłku wojny niezłomna i bohaterska Warszawa rzuciła wrogowi jawne wyzwanie, powstając zbrojnie przeciwko niemieckiej przemocy — wtedy losy tego miasta się dopełniły. Kiedy po wypędzeniu Niemców z Warszawy wracaliśmy my, wygnańcy do swoich domów, zastaliśmy już tylko ruiny i zgłiszcza — cmentarna cisza unosiła się nad miastem, które tak niedawno tętniło życiem, promieniując myślą i uczuciem na kraj cały. Niezwykła jednak żywotność narodu polskiego oraz głęboka miłość i przywiązanie do tego wspaniałego w swych wartościach duchowych miasta wszystkich jego mieszkańców, dumnych z miana obywateli Warszawy i wiążących nieodwołalnie swoje własne losy z losami stolicy — sprawiły, że Warszawa z niebywałą szybkością odżywa w swych najważniejszych funkcjach życia państwowego i kulturalnego. Oczywiście, że wymienione przeze mnie okoliczności musiały jednak sprawić chwilowe terenowe przesunięcia w umieszczeniu różnych poważnych placówek życia naukowego poza Warszawą. Łódź właśnie, to najbliższe Warszawy duże i niezniszczone przez huragan wojenny miasto, nie tylko stało się siedzibą nowopowstałego Uniwersytetu, ale dało także przytułek instytucjom naukowym, poprzednio istniejącym w Warszawie, a których przeniesienie z powrotem do macierzy może nastąpić dopiero w miarę posuwającej się naprzód odbudowy miasta. Z tych też powodów w Łodzi obecnie zebrało się liczniejsze grono młodszych fizjologów, którzy w poczuciu narodowego obowiązku wyrazili chęć podjęcia ciężaru odbudowy Pol. Tow. Fizjol. i wzięcia na swe barki odpowiedzialności za jego dalsze losy, odciążając w ten sposób mniej licznych obecnie kolegów warszawskich, poświęcających w bardzo trudnych warunkach wszystkie swe siły odbudowie zniszczonych własnych warsztatów pracy. Licząc się z tymi właśnie powojennymi warunkami Zarząd Główny Towarzystwa postanowił zaproponować przenieść chwilowo siedzibę Pol. Towarzystwa Fizjol. do Ło-

dzi i w tym celu odbyć tam swoje Walne Zebranie. Nie wątpię, że skoro tylko okoliczności pozwolą, Zarząd Główny Towarzystwa powróci do Warszawy, jako do swej prawdziwej siedziby, z którą związany jest najsilniejszymi więzami tradycji. W Warszawie bowiem powstała i została zrealizowana myśl powołania do życia Towarzystwa, z tym miastem związane jest jego bujne życie i rozwój przedwojenny, z Warszawą wreszcie związane są nazwiska założycieli Towarzystwa oraz pamięć niezmordowanego aż do śmierci i zasłużonego w pracy dla Towarzystwa wybitnego fizjologa polskiego ś. p. prof. Kazimierza Białaszewicza. Tymi myślami i słowami kończę swoje przemówienie, składając Wam, Koledzy, jako nowemu Zarządowi, podejmującemu dużą i odpowiedzialną pracę, najserdeczniejsze życzenia, aby najlepsze wyniki pracy na polu nauki i kultury narodowej stały się już niedługo Waszym udziałem.

Protokół

III Walnego Zgromadzenia Polskiego Towarzystwa Fizjologicznego odbytego dn. 29 września 1946 r. w Łodzi, w gmachu Instytutu Biologii Doświadczalnej im. M. Nenckiego przy ul. Południowej 66.

Obecnych 18 osób.

Porządek obrad:

1. Zagajenie.
2. Wybór Przewodniczącego i Sekretarza Walnego Zgromadzenia.
3. Odczytanie protokołu poprzedniego Walnego Zgromadzenia.
4. Sprawozdanie Zarządu Głównego z działalności organizacyjnej, naukowej, wydawniczej, administracyjnej i finansowej.
5. Sprawozdanie i wnioski Komisji Rewizyjnej.
6. Sprawa zmiany statutu P. T. F. i przeniesienia siedziby Towarzystwa tymczasowo do Łodzi.
7. Wybory nowych członków Zarządu Głównego.
8. Wybory Komisji Rewizyjnej.
9. Ustalenie wysokości składek.
10. Preliminarz budżetowy.
11. Sprawy wydawnicze.

Zebrań zażądał Prezes Zarządu Głównego p. Franciszek Czubalski, witając przybyłych członków Towarzystwa i stwierdzając prawomocność obrad.

Na wniosek Prezesa Zarządu na Przewodniczącego wybrano przez aklamację p. M. Korczewskiego. Na wniosek Przewodniczącego na Sekretarza Zgromadzenia wybrano p. P. Wierzchowskiego.

Prezes Zarządu p. Fr. Czubalski odczytał sprawozdanie z działalności P. T. F. za okres ubiegły, uwzględniając historię Towarzystwa w latach okupacji (1939 — 1944)¹⁾.

Pamięć zmarłych członków P. T. F. Zgromadzenie uczciło przez powstanie.

P. Fr. Czubalski odczytał następujące sprawozdanie Zarządu Głównego P. T. F. z działalności organizacyjnej, naukowej, wydawniczej, administracyjnej i finansowej za okres do 1 września 1946 r.

1) Historia Polskiego Towarzystwa Fizjologicznego w latach okupacji umieszczona na str. 19.

Ustępujący Zarząd Główny P. T. F. został wybrany na ostatnim Walnym Zgromadzeniu Towarzystwa, które odbyło się w Wilnie dn. 2.VII.1938 r. w składzie, przedstawionym w protokóle ostatniego Walnego Zgromadzenia. Wobec zaginięcia archiwów Towarzystwa z okresu przedwojennego, niniejsze sprawozdanie nie obejmuje okresu od 2.VII.1938 do 1.IX.1939 r. Podczas wojny oficjalna działalność Towarzystwa została zawieszona przez okupanta. Mimo to odbyły się w okresie od kwietnia 1940 aż do Powstania posiedzenia naukowe Oddziału Warszawskiego Towarzystwa, które zostały omówione oddzielnie. Powstanie Warszawskie przerwało i tę działalność Towarzystwa.

Pierwsze próby wznowienia działalności Zarządu Głównego podjęto w lecie 1945 r. po przybyciu prezesa i sekretarza do Warszawy. Wobec śmierci redaktora, p. K. Białaszewicza, oraz wyjazdu z Warszawy członków prezydium wiceprezesa p. E. Szyma i skarbnika p. A. Dmochowskiego, postanowiono przede wszystkim dokooptować zgodnie z art. I § 7 regulaminu dla Zarządu Głównego p. W. Niemierkę w charakterze zastępcy redaktora oraz skarbnika.

Dzięki życzliwemu poparciu naczelnika Wydziału Nauki Ministerstwa Oświaty Dra Geblewicza, Towarzystwo uzyskało z Ministerstwa Oświaty subsydium w wysokości 50.000 zł, co umożliwiło zorganizowanie biura Towarzystwa oraz rozpoczęcie kroków w kierunku wznowienia wydawania organu Towarzystwa *Acta Biologiae Experimentalis*. Niestety sprawa ta napotykała na wielkie trudności ze względu na trudność uzyskania papieru w zeszłym roku, oraz zniszczenie warszawskich drukarni. Sprawy te będą omówione szczegółowo w dalszym ciągu sprawozdania. Biuro Towarzystwa narazie wobec niewyremontowania Zakładu Fizjologii Uniwersytetu mieściło się w prywatnym mieszkaniu p. Niemierki. Organizacji biura podjęła się p. Niemierkowa. Nabyto maszynę do pisania oraz materiały biurowe, założono tymczasową ksiązkę kasową oraz dziennik korespondencji. Na życzenie p. Geblewicza otwarto rachunek czekowy w Banku Spółem w Warszawie, na który wpłacono uzyskane subsydium.

Zgodnie z zarządzeniem Władz, zgłoszono Polskie Towarzystwo Fizjologiczne do rejestracji w Zarządzie Miejskim m. st. Warszawy w dniu 12.VII.1945 r. W wyniku podania Polskie Towarzystwo Fizjologiczne zostało wpisane do Rejestru Stowarzyszeń i Związków pod Nr 19 dn. 19.X.1945 r.

Działalność Zarządu Głównego napotykała początkowo na wielkie trudności z powodu braku komunikacji w Warszawie. Prezes mieszkał w Warszawie na pl. Starynkiewicza, sekretarz na Grochowie, zaś zastępca redaktora na Saskiej Kępie. Wskutek tego pierwsze posiedzenie prezydium odbyło się dopiero 5.X.1945 r., po przeprowadzeniu się prezesa na ul. Bartoszewicza, w mieszkaniu prezesa. Na posiedzenie to przybyli członkowie Prezydium zamieszkali w Łodzi, tj. wiceprezes Sym i skarbnik p. Dmochowski oraz członkowie prezydium zamieszkali w Warszawie. Na posiedzeniu tym postanowiono zwołać posiedzenie pełnego Zarządu Głównego.

nego w celu ustalenia miejsca i daty Walnego Zgromadzenia, przyjęto nowego członka w osobie p. Wierzchowskiego oraz postanowiono napisać do p. Dąbrowskiego i p. Szabuniewicza z wezwaniem do wznowienia działalności Oddziałów Poznańskiego i Krakowskiego. Postanowiono przystąpić jak najprędzej do wydania zeszytu Acta Biol. Exper. ze sprawozdaniem z prac naukowych przedstawionych na posiedzeniach Towarzystwa podczas wojny.

Pierwsze po wojnie posiedzenie pełnego Zarządu Głównego odbyło się dn. 8.XII.1945 r. Niestety wskutek ówczesnych trudności komunikacyjnych i innych przeszkód nie przybył żaden członek Zarządu poza członkami Prezydium. W składzie Prezydium nastąpiła również zmiana, gdyż p. Niemierko przeniósł się w tym czasie do Łodzi. Wobec tego na posiedzeniu tym przyjęto nowego członka Towarzystwa w osobie p. Kubikowskiego i powierzono mu funkcję redaktora, zaś zastępstwo skarbnika powierzono p. Wierzchowskiemu. Termin Walnego Zgromadzenia ustalono tymczasowo na 9 i 10 czerwca 1946 r. Postanowiono również zaproponować Walnemu Zgromadzeniu podniesienie wpisowego z 50 gr do 2 zł. W sprawie wyborów nowego Zarządu postanowiono, że ze względu na długoletnią przerwę ustąpi cały obecny Zarząd.

Postanowiono wezwać członków Oddziału Warszawskiego, oraz członków Towarzystwa zamieszkałych w Łodzi, Wrocławiu i Gdańsku do zorganizowania odpowiednich Oddziałów Towarzystwa.

Następnie postanowiono skreślić p. Hirschlera, który został volksdeuczem, z listy członków Towarzystwa.

Wobec wyjazdu p. Niemierkowej do Łodzi powierzono opiekę nad biurem Towarzystwa p. Zawadzkiej. Biuro Towarzystwa przeniesiono do mieszkania sekretarza.

Wskutek opóźnienia remontu Zakładu Fizjologii działalność Towarzystwa, a w szczególności Zarządu Głównego na kilka miesięcy została zawieszona. Przyczyniło się do tego to, że prezes, pełniąc funkcje dziekana, nie był w stanie przez dłuższy czas zająć się sprawami Towarzystwa. Wskutek tego ustalony poprzednio orientacyjny termin Walnego Zgromadzenia 9—10 czerwiec 1946 r. musiał być odsunięty.

Następne trzecie z kolei posiedzenie Zarządu mogło się odbyć dopiero 6.VII.1946 r., tym razem nareszcie w Zakładzie Fizjologii Człowieka U. W. Wobec tego, że prezes nie mógł przybyć na posiedzenie, obradom przewodniczył wiceprezes p. Sym. Na posiedzeniu tym zatwierdzono Oddział Łódzki Towarzystwa, który powstał na wniosek 7 członków Towarzystwa, zamieszkałych w Łodzi. Ponadto w związku z wyjazdem lub śmiercią większości członków Oddziału Warszawskiego Towarzystwa, stwierdzono, że utworzenie w obecnej chwili Zarządu Głównego w Warszawie napotyka na nieprzewidywane trudności. Wobec tego postanowiono zaproponować Walnemu Zgromadzeniu przeniesienie siedziby Towarzystwa tymczasowo do Łodzi. Wobec tego, że realizacja poprzedniego postanowienia wymaga zmia-

ny statutu, postanowiono zaproponować Walnemu Zgromadzeniu przeprowadzenie równocześnie szeregu zmian statutu.

Postanowiono zwołać Walne Zgromadzenie na 29.IX.1946 r. godz. 10 w Łodzi, w Instytucie im. Nenckiego. Wobec tego, że do uchwalenia zmian statutu wymagana jest zgodnie z art. VII § 5 statutu obecność przynajmniej jednej trzeciej części wszystkich zwyczajnych członków Towarzystwa, postanowiono w razie gdyby w pierwszym terminie nie przybyła wymagana liczba członków zwołać Zgromadzenie powtórne, w dniu 29.IX.1946 o godz. 11 w tym samym miejscu. Zgodnie z art. VII § 5 statutu Zgromadzenie to będzie mogło przeprowadzić zmiany statutu większością dwóch trzecich głosów wszystkich członków obecnych na posiedzeniu (art. VII § 4 statutu).

W wykonaniu tych postanowień rozesłano do 55 członków Towarzystwa, których adresy udało się ustalić, zaproszenia na Walne Zgromadzenie. Zaproszenia te z datą 23.VII.1946 r. zostały rozesłane pomiędzy 25.V i 31.VII br., a więc mniej więcej na 2 miesiące przed terminem Walnego Zgromadzenia, podczas gdy statut art. VII § 1 przewiduje, że o terminie i miejscu Walnego Zgromadzenia Zarząd zawiadamia członków pisemnie przynajmniej na dwa tygodnie naprzód z podaniem porządku obrad. Z spośród 128 członków, których liczyło Towarzystwo w chwili wybuchu wojny, zmarło lub zostało zamordowanych prawdopodobnie 32 członków, za granicą przebywa prawdopodobnie około 15 członków. Losu i adresu 29 członków nie udało się dotychczas (2.VIII.1946) ustalić. Dwóch członków przyjeżdżało już po wojnie.

O wznowieniu lub rozpoczęciu działalności naukowej lub organizacyjnej nie zawiadomił żaden Oddział Towarzystwa. Towarzystwo liczy w tej chwili cztery Oddziały, a mianowicie: Krakowski, Łódzki, Poznański i Warszawski. Jest rzeczą konieczną, żeby Oddziały te jaknajprędzej zwołały swe Walne Zgromadzenia i wybrały Zarządy Oddziałów oraz Komisje Rewizyjne. Pożądane jest również powstanie Oddziałów Wrocławskiego, oraz ewentualnie Lubelskiego i Gdańskiego.

Korespondencja w okresie od 12.VII.1946 wyniosła: listów przyjętych 13, listów wysłanych 83.

Wobec zaginięcia statutów niemal wszystkich członków Towarzystwa przygotowano kilkanaście odpisów maszynowych statutu, z czego 4 trzeba było złożyć w Zarządzie Miejskim.

Sprawozdanie finansowe przedstawia się następująco:

Wpływy:

Subsydium Ministerstwa Oświaty	50.000.—	50.000.— zł
Procenty		225.— „

Razem . . . 50.225 zł

Wydatki:

Kancelaria łącznie z przepisaniem listów i sprawozdań	7.439.50 zł
Maszyna do pisania	7.800.— „
Porto	277.— „
Wydawnictwa	17.000.— „
Diety i podróże	3.212.— „
Kasa	13.786.50 „
	<hr/>
Razem . . .	36.438.50 zł
Kasa	13.786.50 „
	<hr/>
Razem . . .	50.225.— zł

Omówienie poszczególnych pozycji: wydatki kancelaryjne obejmują papier, koperty, teczki, taśmy do maszyny, konserwację maszyny itp. oraz koszt przepisania listów i sprawozdań Towarzystwa na maszynie. Pozycja wydawnictwa powstała w ten sposób: w lipcu 1945 r. Ministerstwo zapowiedziało p. Niemierce, że sumy nie wydane w ciągu lipca będą musiały być zwrócone Ministerstwu. Równocześnie poinformowano p. Niemierkę, że prace drukowane w Acta Biologiae Experimentalis będą honorowane w wysokości 2.000 zł za arkusz polskiego tekstu oraz 3.000 zł za arkusz obcojęzycznego tekstu. W związku z tym, ażeby uniknąć zwracania pieniędzy nie wydanych, oraz wobec konieczności szybkiego działania, wypłacono zaliczki na artykuły i prace zgłoszone do Acta osobom, które były podówczas w Warszawie, tj. p. Czubalskiemu, p. Niemierce i p. Zawadzkiemu. Osobną pozycję stanowi suma wypłacona p. Stelli Niemierko, również tytułem zaliczki na honorarium. Sumy te — z wyjątkiem ostatniej — zostaną potrącone przy wypłacie honorariów za artykuły i prace zgłoszone, względnie już złożone do druku w Acta Biol. Experim.

Diety i podróże wypłacono członkom Prezydium, mieszkającym w Łodzi, za przyjazdy na posiedzenia Zarządu Głównego.

Wreszcie pozycja różne obejmuje koszty rejestracji Towarzystwa w Zarządzie Miejskim oraz książeczkę czekową w Banku Społem.

Zgromadzenie przyjęło sprawozdanie Zarządu jednogłośnie.

P. A. Dmochowski odczytał protokół Komisji Rewizyjnej, który przyjęto bez dyskusji, udzielając absolutorium ustępującemu Zarządowi.

Zgromadzenie przystąpiło do następnego punktu porządku dziennego, tj. do zmiany statutu i przeniesienia siedziby Towarzystwa do Łodzi. Odnosne projekty, uchwalone na posiedzeniach Zarządu Głównego, ujęte w protokołach przez sekretarza Towarzystwa p. Br. Zawadzkiego zreferował i przedstawił do rozpatrzenia Walnemu Zgromadzeniu p. W. Niemierko. W dyskusji zabrał głos p. Fr. Czubalski, który uznając naogół potrzebę zmiany statutu, uważa, że moment do tego jest przedwczesny, gdyż procedura prawna w okresie wszelkich zmian administracji państwowej jest kłó-

potliwa i powolna, a uchwalone obecnie zmiany mogą okazać się nieodpowiednie. P. Fr. Czubalski wysuwa wniosek, aby zmianę statutu odłożyć na rok, za siedzibę Zarządu Głównego Towarzystwa uważać przejściowo Łódź, siedzibę zaś Towarzystwa pozostawić bez zmiany. W dyskusji wniosek p. Fr. Czubalskiego poparli p. J. Wałowski i p. P. Wierzchowski. P. W. Niemierko zapytał, czy możliwym jest, aby siedzibą Towarzystwa była Warszawa, siedzibą zaś Zarządu Głównego — Łódź. P. M. Korczewski zaleca wzorować się na innych Towarzystwach naukowych, np. w Towarzystwie Botanicznym nie przestrzega się, aby prezes Towarzystwa przebywał w mieście, w którym jest siedziba Towarzystwa. Należy ustalić czy nie da się wszystkich palących spraw rozwiązać bez zmiany statutu, jeżeli tak, to sprawę zmiany statutu odroczyć. P. Fr. Czubalski dodał, że jeżeli Zgromadzenie odroczy rozpatrywanie zmian statutowych, to te wszystkie punkty, które należałoby zmienić w przyszłości, należałoby rozpatrzyć wspólnie z Oddziałami. Zadania tego musiałby się podjąć przyszły Zarząd.

P. Wałowski wysunął konkretny wniosek: „Walne Zgromadzenie po zapoznaniu się z opinią obecnych przekazuje sprawę zmiany statutu Polskiego Towarzystwa Fizjologicznego Zarządowi Głównemu do rozpatrzenia i przygotowania na następne Walne Zgromadzenie.”

Wniosek przeszedł większością głosów.

Przewodniczący ogłosił wybór Zarządu Głównego i odczytał listę kandydatów, zaproponowaną przez Zarząd Główny. Przewodniczący odczytał w międzyczasie listy p. W. Mozołowskiego z Gdańska i p. J. Supniewskiego z Krakowa. P. Supniewski donosi, że nie mógł przyjechać do Łodzi z powodu spraw osobistych i że uważa za odpowiedniejszego od siebie na członka Zarządu p. B. Szabuniewicza. P. W. Niemierko zaznaczył, że taka zmiana kandydatury koliduje ze statutem. P. Fr. Czubalski wysunął wniosek, aby wybrać Zarząd w zaprojektowanym składzie, przyjmując do wiadomości list p. Supniewskiego.

Przewodniczący zarządza głosowanie nad kandydaturami. Na propozycję p. Czubalskiego skład proponowanego Zarządu przyjęto en bloc. Wybory odbyły się przez akklamację. Skład wybranego Zarządu Głównego przedstawia się następująco:

Prezes — Włodzimierz Missiurow
 Viceprezes — Antoni Dmochowski
 Redaktor — Włodzimierz Niemierko
 Sekretarz — Stella Niemierko
 Skarbnik — Wacław Moycho
 Członkowie Zarządu:

Franciszek Czubalski
 Andrzej Klisiewicz
 Janusz Supniewski
 Ernest Sym

Nowo obrany prezes Zarządu Głównego P. T. F. dziękuje Zgromadzeniu za wybór.

Na członków Komisji Rewizyjnej zostali wybrani:

Emil Leyko
Liliana Lubińska
Genowefa Szwejkowska

jako zastępcy członków Komisji Rewizyjnej zostali wybrani: Janina Hury-
nowicz i Edward Czarnecki.

Przystąpiono do omówienia wysokości składek. P. Walawski wysunął wniosek, aby uchwalić opodatkowanie się na rzecz Towarzystwa w wysokości 30 zł. miesięcznie. P. Leyko zaproponował podnoszenie składek w miarę dewaluacji. P. Korczewski zaznaczył, że ponieważ składki na ogół płacone są nie co miesiąc, więc suma kumulując się staje się trudną do zapłacenia. Wskutek tego celowym byłoby składkę obniżyć, a pobierać opłatę za „Acta Biologiae Experimentalis” w wysokości, jaką uchwaliby Zarząd. P. Walawski zaleca, aby nie podnosić składek, ale ściągać systematycznie. P. Korczewski wysunął wniosek, aby proponowaną sumę składek 360 zł. obniżyć do 240 zł., a pobierać opłaty za czasopismo. Wniosek przeszedł.

Preliminarz budżetowy uchwalony na zebraniu Zarządu dn. 31.X.46 r. odczytał p. W. Niemierko.

Preliminarz budżetowy na okres od 1.X.1946 do 31.XII.1947:

Wpływy:

Składki za ubiegłe lata	6750.—
Składki od 1.X.1946 do dn. 31.XII.47	22500.—
Subsydia	100000.—

razem zł 129.250.—

Wydatki:

Personalne (biuralistka i goniec)	23000.—
Porto	22000.—
Kancelaria	8000.—
Różne	15000.—
Biblioteka	15000.—
Podróżne członków Zarządu	30.000.—
Oddziały	12000.—

razem zł 125.000.—

Prezes p. Czubalski wyraził wątpliwość, czy w tej formie preliminarz jest realny, ponieważ nie da się ściągnąć składek zaległych za lata ubiegłe. Praktyczniej byłoby te sumy włączyć, jako wpływy za „Acta”. Przewodniczący p. Korczewski zaproponował, aby nie ściągać składek zaległych, chyba, że ktoś chce je uregulować dobrowolnie. P. Korczewski wysunął wniosek, aby przyjąć jako przewidywane wpływy 125.000 zł. i wydatki utrzy-

mać na tej samej wysokości, jak przewiduje protokół Zarządu. Wniosek przeszedł.

P. Kubikowski odczytał następujące sprawozdanie z działalności redaktora. Usiłowania w ciągu szeregu miesięcy szły w kierunku uzyskania papieru drukarskiego oraz zakontraktowania drukarni, któraby wykonała druk „Acta Biologiae Experimentalis”. W wyniku starań Kasa im. Mianowskiego uzyskała na wydawnictwa swoje i „Acta Biol. Exper.” 8200 kg papieru po cenie kontyngentowej 19 zł. za 1 kg. Centralny Związek Przemysłu Papierniczego wydał zlecenie do Fabryki Myszkowskiej wykonania zamówienia. Papier fabryka wykonała. Sprawa drukarni została otwarta, ponieważ nie zawarto konkretnej umowy w sprawie wydawnictwa. Ostatnio zebrano oferty od kilku drukarni w Warszawie i poza Warszawą, które są skłonne wykonać druk.

P. Fr. Czubalski wyjaśnił pobudki, którymi się kierowano, zwracając się do Kasy im. Mianowskiego o pomoc w wydawaniu czasopisma. Wydawało się, że Kasa im. Mianowskiego będzie rozporządzać lepszymi środkami. „Acta Biol. Experimentalis” nie mogły się szybko ukazać, należało zdobyć odpowiednie środki, uzyskać papier po cenach urzędowych. Zarząd Kasy im. Mianowskiego uchwalili pomagać w wydawaniu czasopisma, ale nie finansować. Jeżeli chodzi o drukarnię, to Kasa ma pewne trudności. Drukarnia na Tamce jest przeładowana zamówieniami, możnaby ewentualnie drukować w Krakowie, chociaż tam będą wyższe ceny. Ponieważ p. Kubikowski rozpoczął prace nad wydaniem I-go zeszytu staraniem o papier, byłoby pożądanym, aby w dalszym ciągu pracował nad tym w porozumieniu z obecnym zarządem. Kwestia papieru wydaje się być załatwiona, ale jeszcze nie definitely.

P. Niemierko zapytał, czy należałoby starać się o subsydia. P. Czubalski odpowiedział, że uważa to za bardzo pożądane. W dalszym ciągu omawiania spraw wydawniczych p. Czubalski zaznaczył, że przygotowanie do druku ciągnie się bardzo długo, bo nie dostarczono materiałów. Dotąd wpłynęły dwa artykuły o Białaszewiczu, praca Br. Zawadzkiego i dwie prace p. S. Nyrka. W tym zeszycie należy umieścić sprawozdanie z Walnego Zgromadzenia. Należałoby wydać dwa zeszyty, jeden po polsku, drugi w języku obcym. W języku obcym należy drukować oryginalne prace i historie Towarzystwa, przynajmniej w skrócie, aby zagranica wiedziała o naszej działalności naukowej w czasie okupacji. Co do zeszytów następnych Zarząd ustali, w jakim języku ma się ukazać. Sprawą wydawnictwa powinien się zająć Zarząd energicznie i zdobyć na to odpowiednie fundusze.

W tym momencie opuścił zebranie p. Korczewski, prosząc p. Czubalskiego o dalsze prowadzenie obrad. P. Niemierko prosił o wypowiedzenie się, jak ma wyglądać Komitet Redakcyjny, czy nie należałoby pomyśleć, aby weszli do niego przedstawiciele poszczególnych działów nauki, reprezentowanych w „Acta”. P. Czubalski odpowiedział, iż wnioski co do tego, jak należy zorganizować Komitet Redakcyjny powinno się pozostawić Zarządowi do rozpatrzenia. P. Niemierko zapytał, czy należy do kompetencji Za-

rządu ustalać skład Komitetu Redakcyjnego. P. Czubalski odpowiedział, że chyba Zarząd może to ustalać, gdyż tak było i rzeczy te regulował redaktor Białaszewicz. Zarząd musi dalej te sprawy prowadzić i regulować, a odpowiednie wnioski przedstawić na następne Walne Zgromadzenie. Gorącym życzeniem wszystkich jest, aby bieżący zeszyt ukazał się jak najszybciej. Zarząd musi się zastanowić, w jaki sposób drukowanie sfinansować.

P. Walawski poddał pod dyskusję projekt, czy nie dałoby się wprowadzić do Polskiego Towarzystwa Fizjologicznego Sekcji Fizjologiczno-patologicznej, gdyż to jego zdaniem przysporzyłoby członków Towarzystwu.

P. Fr. Czubalski odpowiedział, że przedstawiciele różnych odłamów fizjologii mogą uczestniczyć w Towarzystwie i nie ma potrzeby wprowadzać specjalnej sekcji, redakcja zaś „Acta” musi oceniać prace wg ich wartości i ustalić, czy temat ich odpowiada zakresowi czasopisma.

Przewodniczący oznajmił wyczerpanie punktów porządku dziennego i ogłosił zamknięcie Zgromadzenia.

Sekretarz

(—) P. Wierzchowski

Przewodniczący

(—) M. Korczewski.

Zachowanie się tłuszczów w procesach autolitycznych
tkanek zwierzęcych¹⁾

The Fate of Fatty Acids during Autolysis.

W. Niemierko

(Zakład Biochemii Instytutu im. M. Nenckiego, w Łodzi)

In the course of the autolysis of the muscles and the liver of frogs the disappearance of a large quantity of fatty acids is manifested. This disappearance is probably connected with formation of unsaturated acids, which are then converted into poli-keto-acids or other oxidised products. It seems that such reactions can proceed in animal body in both directions taking part in oxidation-reduction processes.

Większość współczesnych biochemików stoi obecnie na stanowisku, że zachodzące w wyizolowanych z ustroju narządach procesy autolityczne odbywają się pod wpływem działania tych samych enzymów, które są normalnie zawarte i działają w żywej komórce. Czynność ich jednak wskutek szeregu zmian warunków zewnętrznych ujawnia się podczas autolizy w sposób odmienny. Brak czynników regulujących, zarówno natury nerwowej jak i hormonalnej, powoduje, że układy enzymatyczne przestają współpracować harmonijnie i zaczynają działać jak gdyby niezależnie od siebie. Jak zaznacza H a e h n (1936), z punktu widzenia chemicznego obserwujemy następujące różnice w procesach zachodzących w komórce normalnej

1) Praca przedstawiona na posiedzeniu Warszawskiego Towarzystwa Naukowego w dniu 3.7.1945 r. Część doświadczalną wykonano przed 1939 r. w Zakładzie Fizjologii Zwierząt U. W.

i autolizowanej: W komórce normalnej przekształceniom chemicznym podlegają głównie metabolity, substancje natomiast wchodzące w skład struktury komórki zmieniają się nieznacznie; w autolizie natomiast poza substancjami odżywczymi, jeszcze zawartymi w komórce, głębokim przekształceniom i zniszczeniu podlega sama struktura komórkowa.

Układy enzymatyczne, normalnie od siebie przestrzennie oddzielone, zaczynają działać obok siebie i na siebie. Powodować to może, że składnik białkowy układu apoenzym-koenzym może być rozłożony, uwolniony zaś w ten sposób koenzym bądź przestaje być czynny, bądź, co wydaje się nie być wykluczonym, łączy się z innym nośnikiem, uzyskując w ten sposób specyficzność już względem jakiegoś innego substratu. Tworzące się i nie usuwane z komórki — jak to bywa normalnie — produkty przemiany materii mogą działać bądź jako aktywatory, bądź też jako paralizatory. Wskutek tego niektóre z reakcyj enzymatycznych wysuwają się na plan pierwszy, inne natomiast zanikają. W powstającej w ten sposób jak gdyby zawierusze biochemicznej możemy nieraz wykryć gromadzenie się substancyj, nigdy w komórce normalnie nie obserwowanych. Między innymi jednak na tym właśnie polega znaczenie i wartość badań procesów autolitycznych, mogących dać wskazówki o możliwości istnienia reakcyj chemicznych dotychczas pozostających w ukryciu.

Ogromna większość badań w tej dziedzinie skierowana była na procesy rozpadu białek. Prac dotyczących zachowania się w autolizie innych składników komórki, a między innymi tłuszczów, ogłoszono stosunkowo niewiele.

Pomijając prace dawniejsze, które ze względu na stosowanie nie dość pewnych metod analizy chemicznej należy odrzucić, możemy rozpocząć omówienie literatury od prac japońskich autorów O h t a'y (1910) i S h i b a t a'y (1911) Autorowie ci poddawali autolizie wątrobę, mięśnie i inne narządy królika, psa, kota i człowieka i stwierdzili, że w czasie autolizy trwającej od kilku do 100 dni ilość kwasów tłuszczowych, oznaczonych metodą Kumagawa-Suto, pozostaje bez zmiany. R o n a, M i s l ó w i t z e r i S e i d e n b e r g (1924) w analogicznych badaniach wykazali, że aczkolwiek

tłuszcze zachowują się w autolizie dość biernie, to daje się jednak stwierdzić w niektórych doświadczeniach ubytek ich, wynoszący 10 — 20%. Stosowane przez autorów różne stężenie jonów wodorowych (pH 3.9—7.8) nie wywierało wpływu na to zjawisko. W przeciwieństwie do prac powyższych R o g e r i i B i n e t (1922) wykryli znaczne znikanie tłuszczów w autolizowanej wątrobie dochodzące do 50%, T e r r o i n e i B e l i n (1926) natomiast, poddając autolizie krew, przekonali się, że nawet po roku zawartość tłuszczów nie ulega zmianom. Największą ilość badań, dotyczących zachowania się tłuszczów w autolizie, wykonał i ogłosił L o m b r o s o (1927) wraz z licznymi współpracownikami. Doświadczenia swoje autor przeprowadzał na wątrobie psów, stosując jako środek antyseptyczny NaF i oznaczając tłuszcze metodą Kumagawa-Suto. Lombroso stwierdził przede wszystkim, że znikanie lub nie znikanie tłuszczów w autolizie zależy od stanu fizjologicznego zwierzęcia. Jeżeli wątroba pochodziła ze zwierzęcia dobrze odżywionego i zabitego w okresie trawienia, wówczas po autolizie trwającej od kilku do 24 godz. wykrywano spadek zawartości kwasów tłuszczowych dochodzący do 20%. Natomiast w wątrobie zwierząt głodzonych, bądź też pozbawionych uprzednio trzustki, zmian w zawartości kwasów tłuszczowych po autolizie nie obserwowano. Lombroso na podstawie tych doświadczeń wysunął teorię o znaczeniu trzustki dla przemiany tłuszczów w organizmie. Dalsze jego badania potwierdzające tę teorię wykazały, że dodatek *in vitro* wyciągów z trzustki (nie zaś sok trzustkowy) do autolizowanej wątroby zwierząt pozbawionych trzustki, jak również i zwierząt głodzonych, wywoływał znikanie kwasów tłuszczowych po autolizie, które, jak wspomniano, bez tego dodatku u takich zwierząt nie zachodziło. Badania L o m b r o s o wykryły w przebiegu autolizy jeszcze jedno niezmiernie ciekawe zjawisko. Mianowicie znikanie kwasów tłuszczowych obserwowano jedynie w autolizie trwającej stosunkowo krótko; zauważono bowiem, że jeżeli doświadczenie przedłużano ponad 24 godz., ilość znikających kwasów tłuszczowych była mniejsza, w doświadczeniach zaś, w których autoliza trwała szereg dni, znikania kwasów tłuszczowych wogóle nie obserwowano, ilość ich bowiem była

zwykle taka sama, jak w doświadczeniach kontrolnych. Z danych tych można było wyprowadzić wniosek, że w czasie autolizy po początkowym znikaniu następuje ponowne tworzenie się kwasów tłuszczowych. Tym też faktem L o m b r o s o tłumaczy rozbieżności w wynikach prac innych autorów.

Cytowane dotychczas badania zachowania się tłuszczów w autolizie uwzględniały, jak widać, tylko ilościową stronę tego zagadnienia. Nie zastanawiano się w nich bowiem nad możliwością występowania jakościowych zmian w kwasach tłuszczowych. Pierwszą i jedyną znaną mi próbę w tym kierunku podjęli L o m b r o s o i F r i s c o (1927), którzy oznaczali liczbę jodową kwasów tłuszczowych w przebiegu autolizy. Stwierdzili oni spadek liczby jodowej, związany wg ich przypuszczenia ze znikaniem kwasów tłuszczowych nienasyconych, bądź z ich saturacją; stwierdzili również i wzrost liczby jodowej, przebiegający równolegle z obserwowanym w dłuższej autolizie ponownym zwiększeniem się zawartości kwasów tłuszczowych do poziomu wyjściowego.

Daleki od całkowitego wyświeatlenia stan omawianych zagadnień zachęcił nas do ponownego zajęcia się sprawą tłuszczów w procesach autolitycznych. Nawiązując do zaobserwowanego przez nas (N i e m i e r k o 1929) znikania kwasów tłuszczowych w drażnionych mięśniach izolowanych żaby, zdecydowaliśmy się przeprowadzić badania zachowania się kwasów tłuszczowych w czasie autolizy na mięśniach i wątrobie właśnie tych zwierząt. Skłoniła nas ku temu i ta jeszcze okoliczność, że wszystkie dotychczasowe badania tych zagadnień wykonane były wyłącznie na narządach zwierząt stałocieplnych, całkowity natomiast jest brak danych o losach tłuszczów w autolizie zwierząt zmiennocieplnych.

Metodyka

Objektem do badań służyły nam żaby (*Rana esculenta*). Doświadczenia wykonano na mięśniach i wątrobach, które bezpośrednio po wyjęciu z organizmu i zważeniu, cięto nożyczkami, umieszczano w erlenmeyerkach z korkiem doszlifowanym, zalewano 5 ml roztworu Ringera, dodawano wg wskazówek F ü r t h a (1926) i U t k i n - L j u b o w c o w a i S t e p

puhna (1936) do każdej próby po kilka kropel zarówno chloroformu jak i toluenu, wstrząsano, korkowano i trzymano w termostacie w $t = 37^{\circ}$.

Specjalnie wykonane analizy wstępne przekonały nas, że mięśnie symetryczne tego samego zwierzęcia zawierają praktycznie biorąc jednakowe ilości kwasów tłuszczowych o zbliżonej do siebie liczbie jodowej. W przeciwieństwie do tego wartości powyższe wykazują duże wahania indywidualne u różnych zwierząt. Ponadto w poszczególnych pociętych i osobno analizowanych kawałkach wątroby zawsze można było stwierdzić jednakową % zawartość kwasów tłuszczowych o jednakowym stopniu nienasyce-
nia. (Tab. I).

Tab. I

Zawartość kwasów tłuszczowych w mięśniach symetrycznych żaby oraz w dwóch połówkach wątroby

Nr anal.	Zawartość kwasów tłuszczowych				Liczba jodowa kwasów tłuszczowych			
	Mięśnie prawe mg/1 g	Mięśnie lewe mg/1 g	1/2 wątroby mg/1 g	1/2 wątroby mg/1 g	Mięśnie prawe	Mięśnie lewe	1/2 wątroby	1/2 wątroby
1	4.8	4.9	60.2	62.1	89	88	97	97
2	6.3	6.0	38.6	38.0	120	114	65	63
3	7.0	7.1	11.3	11.3	96	98	88	86
4	5.9	5.7	46.7	45.6	111	109	101	100
5	6.8	6.8	28.9	28.6	120	124	91	88

Analizy powyższe pozwalały na stosowanie jako doświadczeń kontrolnych mięśni symetrycznych drugiej kończyny żaby, względnie połówek tej samej wątroby. Uznaliśmy prócz tego za konieczne przeprowadzić doświadczenia, które upewniałyby nas, że wykrywane różnice pomiędzy materiałem autolizowanym i kontrolnym zależą wyłącznie od reakcyj enzymatycznych w czasie autolizy, nie są zaś spowodowane jakimiś wpływami ubocznymi, np. wnikaniami i czynnością mikroorganizmów, względnie czynnikami fizycznymi. Aby się o tym przekonać, postępowaliśmy w sposób następujący. Próbę materiału, która miała służyć jako kontrolna, analizowaliśmy natychmiast, drugą zaś próbę, która we właściwych doświadczeniach miała być autolizowana, ogrzewaliśmy przez kilka minut w łaźni wodnej celem zainaktywowania enzymów, dodawaliśmy do niej roztworu Ringera, chloroformu i toluenu i umieszczaliśmy następnie na przeciąg kilku dni w $t = 37^{\circ}$. Ponieważ nigdy nie stwierdziliśmy przy tym jakichkolwiek znaczących różnic w zawartości kwasów tłuszczowych i liczbie jodowej w porównaniu z próbami analizowanymi bezpośrednio po wyjęciu z organizmu, uzyskaliśmy w ten sposób całkowitą pewność słuszności naszego postępowania. (Tab. II).

Tab. II

Zawartość kwasów tłuszczowych i ich liczby jodowe w próbach materiału analizowanego bezpośrednio i przechowywanych (po ogrzaniu do 100°) w termostacie w $t = 37^{\circ}$ przez 7 dni

Nr anal.	Rodzaj materiału	Zawartość kwasów tłuszczowych		Liczba jodowa kwasów tłuszczowych	
		analizowane bezpośr.	przechowywane przez 7 dni w $t = 37^{\circ}$	analizowane bezpośr.	przechowywane przez 7 dni w $t = 37^{\circ}$
1	mięśnie	7.1	7.0	136	132
2	"	6.1	6.3	98	97
3	"	4.2	4.2	121	125
4	"	4.3	4.5	106	101
5	"	5.8	5.4	123	120
6	wątroba	30.2	30.7	78	75
7	"	64.6	64.0	96	98
8	"	41.0	42.1	84	84
9	"	49.7	48.2	80	78

Zawartość kwasów tłuszczowych oznaczano metodą Kumagawa-Suto, która ze względu na nieznaczne ilości tych związków w poszczególnych próbach musiała być odpowiednio do tego zmodyfikowana, przy czym ważenie kwasów tłuszczowych odbywało się na „pół-mikro” wadze z dokładnością do 0.02 mg. Do oznaczania liczby jodowej stosowano metodę R o s e n m u n d a i K u h n h e n n a w e własnej modyfikacji (N i e m i e r k o, 1947).

Część doświadczalna i omówienie wyników

Przeprowadzono dwie serie doświadczeń, jedną na mięśniach, drugą na wątrobach żabich. Ze względu na rodzaj kontrolnych doświadczeń (mięśnie symetryczne, względnie „połówki” wątroby) musiano się ograniczyć do jednorazowych analiz za cały okres autolizy, która w poszczególnych doświadczeniach trwała 2 do 13 dni. Wyniki tych doświadczeń umieszczone są w Tab. III i IV.

Przyglądając się danym Tab. III, dotyczącym autolizy mięśni, możemy stwierdzić, że w większości doświadczeń daje się zaobserwować ubytek kwasów tłuszczowych po autolizie. Ubytek ten wynosi w niektórych przypadkach powyżej 20% początkowej zawartości kwasów tłuszczowych i dochodzi w poszczególnych doświadczeniach do 40 i nawet 50% (Tab. III, Nr 6 i 9). Przeciętna wartość obliczona ze wszystkich 29 doświadczeń wykazuje znikanie w czasie autolizy przeszło 12% kwasów tłuszczowych.

Tab. III.

Zawartość kwasów tłuszczowych w mięśniach żaby w czasie autolizy

Nr dośw.	Czas trwania dośw. dni	Zawartość kwasów tłuszczow.				Liczba jodowa kw. tłuszczowych		
		Mięśnie kontr. mg/1 g	Mięśnie autoliz. mg/1 g	Różnica bezwzgl. mg/1 g	Różnica %	Mięśnie kontr.	Mięśnie autoliz.	Różnica %
1	10	4.1	4.2	+0.1	+ 3	55	67	+ 22
2	10	5.2	4.9	-0.3	- 6	125	114	- 7
3	10	4.4	2.8	-1.6	-36	130	135	+ 4
4	8	4.7	5.0	+0.3	+ 6	85	105	+ 24
5	8	4.6	4.1	-0.5	- 9	92	101	+ 10
6	6	7.9	4.4	-3.5	-44	52	121	+133
7	6	6.9	4.9	-2.0	-29	45	57	+ 27
8	8	4.7	3.1	-1.6	34	48	117	+144
9	8	4.9	2.2	-2.7	-55	109	111	+ 2
10	8	5.7	5.9	+0.2	+ 4	49	131	+165
11	7	3.7	3.8	+0.1	+ 3	84	155	+ 85
12	9	4.4	3.6	-0.8	-24	50	104	+108
13	9	4.7	3.4	-1.3	-28	48	48	0
14	8	7.3	6.2	-1.1	-15	104	120	+ 15
15	8	7.8	5.9	-1.9	-24	80	144	+ 80
16	7	5.3	4.7	-0.6	-11	129	129	0
17	7	6.7	5.8	-0.9	-13	127	141	+ 15
18	7	5.5	5.2	-0.3	- 5	105	127	+ 20
19	7	4.7	4.1	-0.6	-13	122	133	+ 9
20	7	5.1	5.0	-0.1	- 2	128	134	+ 5
21	7	4.5	4.3	-0.2	- 4	113	136	+ 20
22	13	3.5	3.8	+0.3	+ 9	127	144	+ 11
23	8	5.8	5.9	+0.1	+ 2	120	141	+ 18
24	2	6.7	6.2	-0.5	- 7	134	139	+ 4
25	8	6.7	5.8	-0.9	-13	134	138	+ 3
26	2	6.1	6.2	+0.1	+ 2	135	141	+ 6
27	8	6.1	6.3	+0.2	+ 3	135	140	+ 4
28	9	5.0	4.4	-0.6	-12	136	139	+ 2
29	9	5.1	5.1	0	0	132	132	0
Przeciętnie				-0.7	-12.5			+ 32.0

Niemniej wyraźne zmiany dają się zobserwować w stopniu nienasyce-
nia kwasów tłuszczowych w czasie autolizy. Widzimy bowiem w ogromnej
większości doświadczeń znaczny wzrost liczby jodowej. Ponieważ wzrost
ten obserwujemy również i w tych przypadkach, gdy ogólna zawartość kwa-
sów tłuszczowych nie zmienia się ponad granice błędu doświadczenia (Tab.
I Nr 10, 11), można wnioskować, że w czasie autolizy mięśni odbywa się
proces desaturacji kwasów tłuszczowych. Doświadczenia nasze stwierdzają

wobec tego istnienie w mięśniach żaby dehydraz wyższych kwasów tłuszczowych. Dehydrazy takie po raz pierwszy wykryte były metodami bezpośrednimi przez *Lang'a* i *Fengera* (1917). Autorowie ci działali na tłuszczce żółcią i sokiem trzustkowym i stwierdzili wzrost stopnia nienasylenia kwasów tłuszczowych. *Tan gl i Berend* (1931) w podobnych badaniach wykryli powstawanie kwasów tłuszczowych z czterema podwójnymi wiązaniami. Inni autorzy, jak *Quaglia i Rello* (1932) i *Mazza* (1936) przekonali się o istnieniu dehydraz wyższych kwasów tłuszczowych metodami pośrednimi, badając działanie skrawków z wątroby, mięśni i innych narządów na dodane do środowiska kwasy tłuszczowe i wykrywając to działanie za pomocą manometrycznego oznaczania zużycia tlenu. *Mazza* (1943) w ogłoszonym ostatnio artykule w *Ergebnisse der Enzymforschung* podaje dokładny opis wydobywania i oczyszczania czynnego preparatu dehydraz wyższych kwasów tłuszczowych z miążgi różnych tkanek i narządów. Autor ten opisuje właściwości tych enzymów oraz warunki i mechanizm ich działania. Dehydrazy wyższych kwasów tłuszczowych odznaczają się przede wszystkim niezwykłą labilnością i inaktywują się przeważnie już po 48 godzinach nawet przechowywane w temperaturze poniżej 0°. Jak zaznacza *Mazza* „właściwość ta powoduje, że niezawsze wyciągi z tkanek są dość aktywne: często zaś są nawet zupełnie nieczynne” (ibid str. 216). Tym też zupełnie łatwo można wytłumaczyć, że uzyskane przez nas wyniki nie są całkowicie jednolite. Labilność omawianych enzymów przejawia się niewątpliwie również i w procesach autolitycznych, co więcej, na uzyskiwane wyniki wpływać musi między innymi labilność i innych biorących udział w tych procesach układów enzymatycznych. Wypływa stąd, że w tego rodzaju badaniach pozytywne wyniki powinny posiadać większą wartość niż wyniki negatywne: brak stwierdzenia jakichkolwiek zmian w pewnej liczbie naszych, w jednakowy sposób przeprowadzonych, doświadczeń nie powinien zadecydować o odrzuceniu wysuwanych wniosków.

Przechodząc z kolei do omówienia danych uzyskanych w doświadczeniach z autolizy wątroby, zestawionych w Tab. IV, stwierdzamy, że i w tym przypadku w większości doświadczeń obserwujemy w czasie autolizy znikanie kwasów tłuszczowych. Średnia wielkość tego znikania obliczona ze wszystkich doświadczeń wynosi 7% początkowej zawartości kwasów tłuszczowych, wobec 12,5% w przypadku mięśni. Jeżeli jednak weźmiemy pod uwagę, że procentowa zawartość kwasów tłuszczowych w wątrobie, aczkolwiek bardzo zmienna, — jest jednak kilkakrotnie większa niż w mięśniach, to będziemy musieli skonstatować, że absolutne ilości znikających kwasów tłuszczowych są w autolizie wątroby jeszcze nawet znacznie, bo dwukrotnie większe, niż w mięśniach (1.4 mg wobec 0.7 mg na 1 g tkanki).

Zachowanie się liczby jodowej kwasów tłuszczowych wydaje się być w przypadku wątroby odmienne, obserwujemy bowiem zarówno wzrost jak i spadek liczby jodowej, przy czym różnica przeciętna ze wszystkich doświadczeń leży w granicach błędu. Spadek liczby jodowej przy równoczesnym dość znacznym zmniejszeniu się ilości kwasów tłuszczowych (Tab. IV

Nr 5 i 6) jest zgodny z tym, co obserwował w swoich doświadczeniach L o m b r o s o i co tłumaczył znikaniem głównie kwasów nienasyconych. W naszych doświadczeniach obserwujemy jednak ponadto i wzrost liczby jodowej przy zachowaniu się poziomu kwasów tłuszczowych. Stwierdzamy zatem, że w czasie autolizy wątroby prócz znikania kwasów nienasyconych zachodzi również i wzrost stopnia nienasycecia.

Tab. IV

Zawartość kwasów tłuszczowych w wątrobie żaby w czasie autolizy

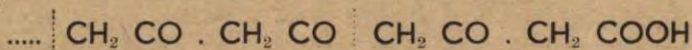
Nr dośw.	Czas trwania dośw. dni	Zawartość kwasów tłuszczow.				Liczba jodowa		
		Wątroba kontr. mg/1 g	Wątroba autoliz. mg/1 g	Różnica bezwzgl.	Różnica ‰	Wątroba kontr.	Wątroba autoliz.	Różnica ‰
1	10	29.4	24.2	-5.2	-18	100	94	-6
2	10	25.3	22.6	-2.7	-11	79	88	+11
3	8	21.4	19.3	-2.1	-10	74	76	+3
4	6	98.0	92.4	-5.6	-6	53	58	+9
5	8	18.6	15.3	-3.3	-18	101	52	-50
6	8	27.0	22.9	-4.1	-15	66	59	-11
7	7	60.2	65.4	+5.2	+9	84	76	-10
8	9	10.0	8.1	-1.0	-19	24	24	0
9	8	21.0	20.0	-1.0	-5	101	102	+1
10	7	23.4	20.6	-2.8	-12	93	83	-11
11	7	20.7	19.2	-1.5	-7	98	97	-1
12	4	25.0	24.5	-0.5	-2	86	88	+2
13	13	25.0	24.8	-0.2	-1	85	101	+18
14	2	112.7	114.5	+1.8	+2	102	107	+5
15	8	112.7	112.2	-0.5	-0.5	102	116	+14
16	9	57.5	60.2	+2.7	+5	98	98	0
Przeciętnie				-1.4	-7			-2

Stwierdzone przez nas dość znaczne zmniejszenie się zawartości kwasów tłuszczowych w czasie autolizy zarówno mięśni jak i wątroby, nasuwa pytanie, jakie mogą być losy znikających w tych procesach kwasów tłuszczowych. Nad zagadnieniem tym, które wydaje się być w omawianym zjawisku najważniejszym i najciekawszym, o ile nam wiadomo, nikt z wymienionych wyżej badaczy głębiej się nie zastanawiał. Ze względu na nikłe efekty cieplne procesów autolitycznych należy z góry odrzucić możliwości całkowitego spalania się tych związków. Również mało prawdopodobnym wydaje się zmniejszanie się wielkości cząsteczek kwasów tłuszczowych, ja-

kie mielibyśmy np. wskutek beta-oksydacji przy skróceniu łańcucha C_{18} do C_{16} . Aczkolwiek proces taki tłumaczyłby nam zmniejszenie się masy kwasów tłuszczowych o około 10%, i aczkolwiek powstawanie kwaru palmitynowego ze stearynowego było w sposób zupełnie przekonywujący stwierdzone przez Schopenhaimera i Rittenberga (1936) w doświadczeniach na szczurach, musimy proces taki w przypadku autolizy odrzucić i to na podstawie głębszej analizy badań Lombroso. W badaniach jego ogólna zawartość kwasów tłuszczowych oznaczana była nie w drodze ważenia, lecz za pomocą miareczkowania. Na gramocząsteczkę zaś kwasu tłuszczowego zużywa się jednakowa ilość ml roztworu ługu, niezależnie od tego czy się ma łańcuch węglowy o 18, 16 czy jakiejś innej liczbie atomów węgla. Ponieważ Lombroso o zmniejszeniu się ilości kwasów tłuszczowych sądził z ilości ml NaOH, która szła na ich zobojętnienie, wobec tego stwierdzone przez niego znikanie kwasów tłuszczowych nie mogło być wytłumaczone skróceniem łańcuchów węglowych.

Znacznie jednak większe znaczenie w tych rozważaniach ma następujący argument. Znikanie kwasów tłuszczowych Lombroso obserwował, jak już zaznaczono wyżej, tylko w początkowych okresach autolizy. Natomiast po autolizie, trwającej dłużej, stwierdzał stopniowy powrót zawartości kwasów tłuszczowych do poziomu wyjściowego. Wydaje się nam wobec tego, że w procesach przekształceń kwasów tłuszczowych prowadzących do ich „znikania” ściślej zaś — do nie wykrywania ich metodą Kumagawa-Suto, zmiany, którym te kwasy podlegają, nie mogą być bardzo głębokie, skoro w tak łatwy sposób następuje ich ponowna regeneracja. Nie może być wobec tego również mowy o skracaniu się łańcucha wg typu beta-oksydacji.

W latach ostatnich ukazał się cały szereg ciekawych prac nad mechanizmem spalania się kwasów tłuszczowych w organizmie zwierzęcym. Badania autorów hiszpańskich Leloir'a i Munoz'a (1939) wykonane na skrawkach wątroby umieszczonych w roztworach, do których dodawano n'ższe kwasy tłuszczowe do C_{80} , wykazały, że kwasy te pod wpływem enzymów komórkowych niewątpliwie przekształcają się w odpowiednie beta-ketokwasy i częściowo rozpadają się przy tym na związki o łańcuchach krótszych. Badania Jowetta i Quastella (1935), wykonane jak i poprzednio cytowane na skrawkach, również wskazują na powstawanie z kwasów tłuszczowych ciał ketonowych. Ci sami autorzy wykonali doświadczenia z odżywianiem zwierząt kwasami tłuszczowymi. Stwierdzili oni, że zwierzęta wydalają z moczem ilości ciał acetonowych większe, niż odpowiadałoby spalaniu się drogą kolejnych procesów beta-oksydacji i powstawaniu ciał acetonowych z wytwarzanego pod koniec tego procesu kwasu masłowego. Autorowie wysunęli przypuszczenie, że beta-oksydacja może rozpoczynać się jednocześnie w kilku miejscach cząsteczki kwasu tłuszczowego i doprowadzić do powstawania związków o następującym schemacie budowy:



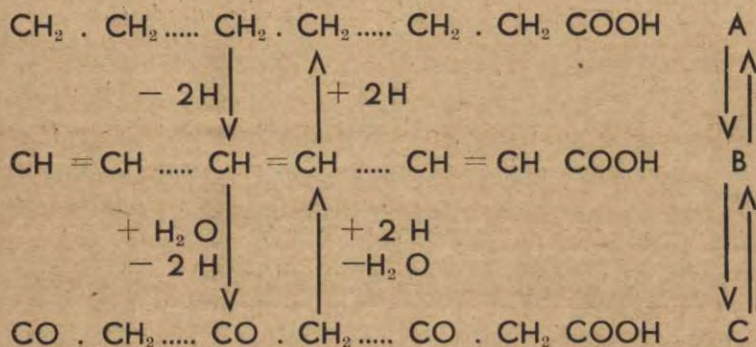
związki takie mogą następnie rozpadać się w miejscach zaznaczonych linią kropkowaną, dając przy tym rozpadzie szereg cząsteczek ciał acetonowych.

W świetle powyższych badań i teorii wydaje się nam możliwym w następujący sposób wy tłumaczyć wyniki uzyskane przez nas oraz wyniki doświadczeń L o m b r o s o.

Znikanie kwasów tłuszczowych w czasie autolizy związane jest prawdopodobnie z częściowym utlenieniem tych związków i wytworzeniem się substancyj o typie poli-keto-kwasów (A→C). Substancje takie jako nierozpuszczalne w eterze naftowym nie mogą być oznaczone za pomocą metody Kumagawa-Suto.

Jednym z etapów powyższego utlenienia jest powstanie nowych podwójnych wiązań, przejawiające się we wzroście liczby jodowej.

Ilustruje to następujący schemat przebiegu reakcyj:



Obserwowana przez Lombroso po długotrwałej autolizie „regeneracja” kwasów tłuszczowych, związana ze wzrostem liczby jodowej, byłaby odwróceniem reakcji powstawania keto-kwasów (C→B)¹⁾.

Stwierdzone w naszych doświadczeniach różnice w zachowaniu się liczby jodowej kwasów tłuszczowych w autolizie mięśni: wątroby tłumaczyłyby się w sposób następujący: I w jednym i w drugim przypadku znikanie kwasów tłuszczowych związane jest prawdopodobnie z wytwarzaniem keto-kwasów (C), które zachodzi poprzez powstawanie nienasyconych związków (B). Reakcje zatem przebiegają wg schematu: A→B→C. Przepuszczalnie

1) W doświadczeniach naszych znikanie kwasów tłuszczowych obserwowano po kilkudniowej autolizie, tj. w okresie czasu, w którym w doświadczeniach Lombroso zachodziła już regeneracja kwasów tłuszczowych doprowadzająca zwykle do powrotu ich zawartości do poziomu wyjściowego. Pozostaje kwestią otwartą, czy również i u żaby po przedłużeniu okresu doświadczeń dałaby się stwierdzić analogiczna regeneracja, czy też u badanych przez nas zwierząt czynność enzymów katalizujących reakcje C → B jest z tych czy innych względów upośledzona.

jednak enzymy, pod wpływem których zachodzą procesy $B \rightarrow C$ są w wątrobie bardziej czynne niż w mięśniach, dlatego też w tych ostatnich dochodzi do gromadzenia się związków typu B, co się przejawia w wybitnym wzroście liczby jodowej. Za słusznością takiego poglądu, jak nam się wydaje, przemawia fakt znikania w wątrobie większych ilości kwasów tłuszczowych niż w mięśniach przy obliczeniu na 1 g tkanki.

Powyższe rozważania nasuwają przypuszczenie, że być może w przekształceniach, jakim ulegają kwasy tłuszczowe w organizmach zwierzęcych tworzenie się wymienionych poli-keto-kwasów odgrywa jakąś ogólniejszą rolę w przemianach cząsteczkowych. Związki te mogłyby działać jako akceptory i donatory wodoru, biorąc udział jako jeszcze jeden z układów czynnych w procesach oksydoredukcyjnych obok takich, jak układy: kw. bursztynowy, kw. fumarowy, kw. jabłkowy, kw. szczawiooctowy.

Sprawdzenie słuszności tego poglądu wymagałoby jednak specjalnych badań i, jak się wydaje, badań nie łatwych do przeprowadzenia.

Streszczenie.

W czasie autolizy mięśni i wątroby żaby daje się zaobserwować znikanie dość znacznych ilości kwasów tłuszczowych. Znikanie to idzie prawdopodobnie poprzez etap powstania związków nienasyconych, które ulegając dalszemu utlenieniu, przechodzą być może w poli-keto-kwasy. Wysuwa się przypuszczenie, że tego rodzaju reakcje mogą zachodzić w ustrojach zwierzęcych w obydwu kierunkach, biorąc udział w procesach oksydo-redukcyjnych.

Piśmiennictwo.

- F ü r t h. 1926. Lehrb. d. physiol. u. path. Chemie, str. 63.
 H a e h n. 1936. Autolyse. Erg. d. Ensymf. 5, 117.
 J o w e t t : Q u a s t e l. 1935. Biochem. J. 29, 2143, 2159, 2181.
 L a n g i F e n g e r. 1917. Cyt, wg Mazza 1943.
 L e l o i r i M u n o z. 1939. Biochem. J. 33, 734.
 L o m b r o s o. 1927. Arch. Int. Physiol. 28, 300 (zawiera zestawienie wszystkich prac autora o autolizie).
 L o m b r o s o. i F r i s c o. 1927. Bull. Soc. ital. Biol. sper. 2, 326.
 M a z z a. 1936. Arch. Sci. biol. Napoli. 22. Nr 3.
 " 1934. Erg. d. Ensf. 9, 207.
 N i e m i e r k o. 1929. Acta Biol. Exper. 3, 143.
 " 1947. Acta Biol. Exper. 14, 199.
 O h t a. 1910. Biochem. Z. 29, 1.
 Q u a g l i a r e l l o. 1932. Atti R. Accad. Lincei 16, 287.
 R o g e r i B i n e t. 1922. Bull. Soc. Biol. 87, 24.

Rona, Mislowitzer i Seidenberg. 1924. Biochem. Z. 154, 290.

Schoenheimer i Rittenberg. 1936. J. biol. Chem. 114, 381.

Shibata. 1911. Biochem. Z. 31, 321.

Tangl i Berend. 1931. Biochem. Z. 232, 181.

Terroine i Belin. 1926. Arch. Int. Physiol. 26, 295.

Utkin-Ljubowcoff i Steppuhn. 1936. Abderh. Biol. Arbm.

Przyczynek do biochemii oogenezy¹⁾

Contribution to the Biochemistry of Oogenesis

W. Niemierko i C. Goldman

(Zakład Biochemii Instytutu im. M. Nenckiego w Łodzi).

We can discern from the viewpoint of changes in the composition of the ooplasm of the growing eggs of hens three following periods: the first which ends with the reaching by the egg cell a weight above 100 mg; the second — in which it is increasing its weight to about 1 g and the third ending with the attainment of the final size.

The first period in which the water content is the greatest is characterised by a proportional increase of proteins and fats, the former being the chief constituent of the egg cell. The transition of the oocytes from the first into the second period of growth is a turning point in the life of the egg cell, as in this period the greatest changes ensue in their chemical composition. These changes consist in a large increase of the dry substance and in a marked shift in the ratio of fatty acids to proteins, fatty acids being prevalent.

In the third period, during which the absolute increase of weight is the greatest, the chemical composition of the egg cell remains unchanged the growth consists then in a proportional accumulation of the investigated organic constituents; here fats being the principal egg constituents.

1) Praca przedstawiona na posiedzeniu Warszawskiego Towarzystwa Naukowego w dniu 3.7.1945 r. Część doświadczalną wykonano przed 1939 r. w Zakładzie Fizjologii Zwierząt U. W.

Zjawisko histogenezy należy do zagadnień, którymi dotychczas interesowano się głównie z punktu widzenia zmian morfologicznych i histochemicznych, jakim ulegają elementy komórkowe w okresie różnicowania się. Natomiast bardzo skąpe wiadomości posiadamy o ilościowych zmianach chemicznych, zachodzących w składzie komórki w czasie jej wzrostu.

Nie ulega jednak wątpliwości, że dokładne prześledzenie tych zmian i poznanie ewolucji stosunku wzajemnego składników protoplazmy mogłoby rzucić ciekawe światło na dynamikę metabolizmu komórki w okresie jej specjalizacji funkcjonalnej.

Do rzędu elementów, ulegających w okresie dyferencjacji bardzo wybitnym przeobrażeniom chemicznym, należą komórki jajowe zwłaszcza o typie komórki meroblastycznej, zawierające w stanie definitywnym znaczne ilości substancji zapasowych. Ze względów powyższych, jak również ze względu na dostępność materiału, do badań oogenezy wybraliśmy znajdujące się w okresie wzrostu komórki jajowe kury, na których przeprowadzono oznaczenie zawartości poszczególnych składników organicznych.

W literaturze, bezpośrednio dotyczącej obiektu naszych poszukiwań, znaleźliśmy jedynie pracę R o m a n o f f a (1931). Autor ten oznaczał zawartość tłuszczów oraz ich liczbę jodową w rosnących komórkach jajowych kury. Zbadane zostały jednak tylko komórki, znajdujące się w ostatnich okresach wzrostu. Autor bowiem ograniczył się do analizy oocytów o masie ponad 2 g i stwierdził przy tym, iż zawartość procentowa tłuszczów w tych komórkach jest stała i odpowiada mniej więcej tej, jaka znajduje się w żółtku jaja zniesionego.

Celem pracy niniejszej było prześledzenie całego cyklu wzrostowego i analiza chemiczna wszystkich, począwszy od możliwie najmniejszych, komórek jajowych, znajdujących się w jajniku kury. Oznaczano przy tym substancję suchą, kwasy tłuszczowe, cholesterol i ogólną zawartość związków azotowych.

M e t o d y k a

Doświadczenia przeprowadzono na oocytach kury, przy czym postępowano w sposób następujący:

Po zabiciu zwierzęcia wypreparowano wszystkie znajdujące się w jajniku komórki jajowe, począwszy od komórek o masie kilku mg aż do oocytów największych, ważących kilkanaście gramów¹). Zebrane komórki jajowe umieszczano (mniejsze po kilkadziesiąt wzgl. kilka, większe — pojedynczo) w naczyniach wagowych, ważono, ogrzewano następnie przez kilka minut w celu inaktywacji enzymów na wrzącej łaźni wodnej i suszono do stałej wagi w suszarce próżniowej w $t = 40^{\circ}$.

W otrzymanej w powyższy sposób substancji suchej, w całości lub w części jej oznaczano azot, cholesterol, kwasy tłuszczowe oraz ich liczbę jodową.

Zawartość azotu oznaczano bądź zwykłą metodą *K j e l d a h l a*, bądź w przypadku mniejszych ilości — mikrometodą *P a r n a s a i W a g n e r a* (1921), obliczając ilość białek za pomocą mnożenia otrzymanej wartości przez współczynnik 6.25. Do oznaczania kwasów tłuszczowych posługiwano się metodą wagową *K u m a g a w a - S u t o*, przy ilościach zaś poniżej 5 mg — metodą miareczkową *S h. K a t s u r a i T. H a t a k e y h a m a* (1931). Liczbę jodową oznaczono metodą *R o s e n m u n d a i K u h n h e n n a* w mikromodyfikacji *Y a s u d a ' y* (1931), cholesterol zaś wg *T u r n e r* (1931).

Część doświadczalna i omówienie wyników.

Uzyskane wyniki, pochodzące z analizy oocytów z jajników trzech kur, zestawione są w Tabl. I, II, i III. Tabele te zawierają dane odnoszące się do liczby jaj, ich masy, zawartości substancji suchej oraz procentowej zawartości białek, kwasów tłuszczowych, cholesterolu i pozostałości. Dane te uzupełnione są przez obliczenie stosunku kwasów tłuszczowych do białek oraz stosunku cholesterolu do kwasów tłuszczowych. Procentowe zawartości kwasów tłuszczowych i białek przedstawione są ponadto w postaci krzywych na rysunku.

1) Z analizy komórek jeszcze mniejszych ze względu na trudności techniczne analiz musiano zrezygnować.

Tab. I

Skład chemiczny rosnących oocytów (kura Nr 1)

Nr próby	Ilość oocytów	Masa 1 oocytu g	Okres wzrostu	Subst. sucha o/o	o/o zawartość w substancji suchej				Stosunek kw. tłuszcz. do białek	Stosunek cholesterolu do kw. tłuszcz.
					Białka o/o	Kw. tłuszcz. o/o	Cholesterol o/o	Reszta o/o		
1	23	0.016	I	12.5	54.7	17.0	2.1	26.2	0.31:1	0.12:1
2	10	0.025		13.8	55.9	17.4	2.2	24.5	0.31:1	0.13:1
3	4	0.039		12.8	53.6	17.5	2.2	26.7	0.33:1	0.13:1
4	7	0.079		12.8	53.9	21.3	1.9	23.9	0.40:1	0.099:1
5	5	0.133		13.1	51.6	23.0	2.1	23.3	0.45:1	0.091:1
6	1	0.171	II	18.0	46.9	37.7	2.9	12.5	0.80:1	0.077:1
7	1	0.259		20.2	42.7	40.3	3.3	14.7	0.90:1	0.082:1
8	1	0.346		29.3	39.1	48.0	2.6	10.3	1.23:1	0.054:1
9	1	1.24	III	45.0	27.8	56.3	3.2	12.7	2.03:1	0.057:1
10	1	3.44		50.4	30.1	60.1	3.5	6.3	2.00:1	0.057:1
11	1	6.65		54.1	29.7	61.5	3.4	5.4	2.07:1	0.055:1
12	1	11.1		53.5	29.6	58.2	3.7	8.5	1.97:1	0.063:1
13	1	13.9		52.6	29.9	57.9	3.3	8.9	1.94:1	0.057:1
14	1	16.0	52.3	30.1	59.2	3.7	7.0	1.97:1	0.062:1	

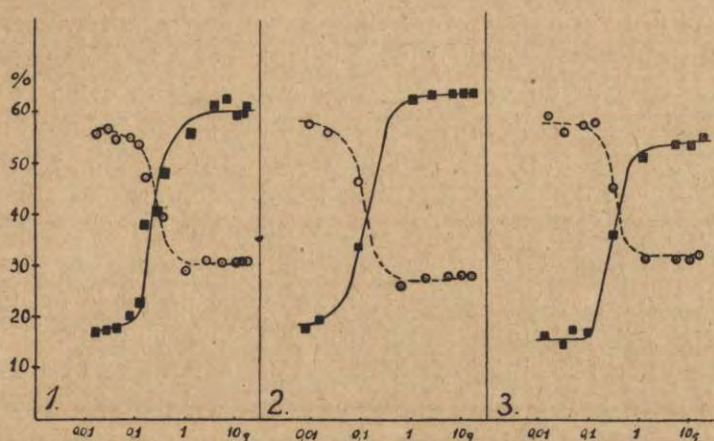
Tab. II
Skład chemiczny rosnących oocytów (Kura Nr 2)

Nr próby	Ilość oocytów	Masa 1 oocytu g	Okres wzrostu	Subst. sucha %	% zawartość w substancji suchej				Stosunek cholesterolu do kw. tłuszcz.	Stosunek kw. tłuszcz. do białek
					Białka %	Kw. tłuszcz. %	Cholesterol %	Reszta %		
1	21	0.009	I	13.1	56.0	18.2	1.5	24.3	0.082:1	0.33:1
2	24	0.022		11.7	53.9	20.1	1.3	24.7	0.065:1	0.38:1
3	6	0.138	II	13.5	43.9	34.6	1.9	19.6	0.055:1	0.79:1
4	1	0.938	III	40.5	26.6	61.6	3.1	8.7	0.050:1	2.32:1
5	1	2.50		50.2	28.1	62.2	3.0	5.7	0.049:1	2.25:1
6	1	6.15	III	52.2	28.4	62.8	2.9	5.9	0.045:1	2.21:1
7	1	11.4		53.7	28.6	62.8	2.9	5.7	0.045:1	2.20:1
8	1	15.6	53.9	28.4	62.8	2.9	5.9	0.045:1	2.21:1	

Skład chemiczny rosnących oocytów (Kura Nr 3)

Tab. III.

Nr próby	Ilość oocytów	Masa 1 oocytu g	Okres wzrostu	Subst. sucha %	%/o zawartość w substancji suchej				Stosunek kw. tłuszcz. do białek	Stosunek cholesterolu do kw. tłuszcz.
					Białka %	Kw. tłuszcz. %	Chole- sterol %	Reszta %		
1	25	0,013	I	14,2	57,5	17,0	2,1	23,4	0,30:1	0,12:1
2	10	0,033		12,8	53,8	15,2	2,2	28,8	0,28:1	0,14:1
3	5	0,070		11,6	55,6	17,9	2,8	22,7	0,32:1	0,16:1
4	3	0,118	II	11,2	56,1	17,3	2,6	24,0	0,31:1	0,15:1
5	1	0,314		21,9	46,8	37,7	3,8	11,7	0,93:1	0,10:1
6	1	2,02	III	42,4	31,8	52,7	4,8	10,7	1,66:1	0,091:1
7	1	7,19		48,9	32,1	54,8	4,6	8,5	1,71:1	0,084:1
8	1	11,9		52,2	32,1	54,8	4,5	8,6	1,71:1	0,082:1
9	1	17,0		54,0	33,0	57,2	4,2	5,6	1,77:1	0,073:1



Rys. 1

% zawartość białek i kw. tłuszczowych w rosnących oocytach kury.

Protein and Fatty Acid Content in the Growing Oocytes of Hens.

..... Białka. *Proteins.*

—— Kw. tłuszczowe. *Fatty Acids.*

Porównując ze sobą wyniki wszystkich wykonanych analiz, należy stwierdzić, że z punktu widzenia zmian w składzie chemicznym ooplazmy możemy odróżnić trzy następujące okresy wzrostu. Okresy początkowy i końcowy, które charakteryzują się równomiernym gromadzeniem się w komórce jajowej głównych jej składników, oraz okres środkowy, w którym wzajemny stosunek zawartości wody, białek, kwasów tłuszczowych i cholesterolu ulega głębokim zmianom, prowadzącym do ustalenia definitywnego składu żółtka, właściwego wykształconemu i gotowemu do rozwoju jaju kurzemu.

W okresie początkowym oocyty posiadają dużą zawartość wody (85—89%) i białek (50—58% w substancji suchej). Zawartość kwasów tłuszczowych stanowi zaledwie jedną trzecią część zawartości białek. Ilość cholesterolu jest w tym okresie względnie duża, ze stosunku bowiem cholesterolu do kwasów tłuszczowych wynika, że przypada na niego w lipidach 8—14%.

Powyższy skład chemiczny komórka jajowa zachowuje do osiągnięcia masy około 100 mg. Szybkość przyswajania poszczególnych substancji odżywczych jest zatem w tym okresie dla wymienionych składników dość równomierna.

W drugim okresie wzrostu obserwujemy gwałtowne zmiany w szybkości względnej przyswajania przez komórkę rosnącą poszczególnych związków organicznych. Okres ten rozpoczyna się po osiągnięciu przez oocyt masy ponad 100 mg i trwa do osiągnięcia masy około 1 g. Obserwowane zmiany składu chemicznego dotyczą wszystkich badanych przez nas składników komórki. Wzrasta przede wszystkim zawartość substancji suchej, co w głównej mierze zależy od zwiększenia się procentowej zawartości kwasów tłuszczowych. Substancje te stanowią pod koniec tego okresu główny składnik oocytu, osiągając wartość charakterystyczną zarówno dla ostatniego tj. trzeciego okresu wzrostu jak i dla komórki jajowej definitywnie wykształconej. Zawartość procentowa cholesterolu w okresie drugim również wzrosła, aczkolwiek w mniejszym stopniu, niż zawartość tłuszczów, co znajduje swój wyraz w obniżeniu się wielkości, charakteryzującej stosunek cholesterolu do kwasów tłuszczowych. Procentowa zawartość białek natomiast maleje.

Trzeci okres wzrostu, tak samo jak i pierwszy, znowu charakteryzuje się równomiernym gromadzeniem się głównych składników komórki jajowej. W tym ostatnim okresie wzrostu komórka jajowa zawiera duże ilości substancji suchej (40—54%), składającej się głównie z kwasów tłuszczowych (około 60%). Zawartość ich jest dwukrotnie większa niż zawartość białek. Skład chemiczny lipidów jest również inny niż w początkowym okresie wzrostu, zawierają one bowiem tylko około 5% cholesterolu.

Aczkolwiek inne składniki chemiczne (tj. głównie węglowodany i związki nieorganiczne) w analizach naszych bezpośrednio badane nie były, jednak pośrednie obliczenie ich z różnicy wykazuje, że w pierwszym okresie przypada na nie dwadzieścia kilka procent substancji suchej, w okresie natomiast ostatnim zawartość ich spada do 5—10%.

Stopień nienasycenia kwasów tłuszczowych nie wykazał wyraźnych zmian kierunkowych w czasie wzrostu oocytów. Obserwowano następujące wahania w liczbie jodowej: 70—80 u kury Nr 1, względnie 63—68 i 80—90 u dwóch pozostałych.

Wyróżnione w pracy niniejszej z punktu widzenia składu chemicznego komórki jajowej trzy okresy wzrostu zgadza-

ją się w ogólnych zarysach z okresami, ustalonymi dla oocytów ptaków przez innych autorów za pomocą badań histochemicznych. Okres pierwszy odpowiada ostatnim fazom tzw. wzrostu powolnego. Okres drugi, związany z rozpoczęciem wzrostu szybkiego i z gwałtownymi przekształceniami składu chemicznego trwa około tygodnia, okres trzeci trwa również około tygodnia i kończy się dojrzewaniem komórki jajowej, owulacją i uformowaniem jaja gotowego do zniesienia (por. Marza, 1938).

Streszczenie wyników.

We wzroście komórek jajowych kury odróżniamy z punktu widzenia zmian w składzie chemicznym ooplazmy trzy następujące okresy: pierwszy, kończący się osiągnięciem przez komórkę jajową masy ponad 100 mg, drugi — w którym powiększa ona swój ciężar do około 1 g, oraz trzeci — kończący się dojściem do wielkości ostatecznej.

Pierwszy okres, w którym zawartość wody jest największa, charakteryzuje się równomiernym przyrostem związków azotowych i tłuszczowych. Głównym składnikiem komórki jajowej w tym okresie są białka.

Przejście oocyty z pierwszego w drugi okres wzrostu jest momentem przełomowym w życiu komórki jajowej, w okresie tym bowiem zachodzą najgłębsze zmiany w jej składzie chemicznym. Zmiany te polegają na znacznym przyroście substancji suchej i na wybitnym przesunięciu się stosunku kwasów tłuszczowych do białek na korzyść kwasów tłuszczowych.

W okresie trzecim, w którym bezwzględny przyrost masy jest największy, skład chemiczny komórki jajowej pozostaje prawie bez zmiany: wzrost polega zatem na równomiernym gromadzeniu się badanych składników organicznych. Głównym składnikiem komórki są przy tym tłuszcze.

Piśmiennictwo.

- Katsura i Hatakeyama. 1931. *Biochem Z.* 234, 462.
Marza 1938. *Histophysiologie de l'ovogenèse.* Paris.
Romanoff. 1931. *Biochem. J.* 25, 994.
Rosenmund i Kuhnhehn. 1923. *Z. für Nahrungsmittelunt*
46, 154.
Yasuda 1931. *J. biol. Chem.* Vol. 94, 401.

W jakim stopniu tak zwane prawo biegunowego drażnienia
stosuje się do mięśni szkieletowych? ¹⁾

The Law of Polar Excitation in the Case of Striated Muscles

Br. Zawadzki

(Zakład Fizjologii Człowieka Uniwersytetu Warszawskiego.
Kierownik Prof. Dr Fr. Czubalski.)

The stimulation of partly poisoned muscles suggested doubts whether the Law of Polar Excitation in the case of striated muscles is true, so I looked over carefully the literature in this subject, and came to the conclusion that no sufficient proofs of this law exist as regards the striated muscles stimulated by strong currents however it is generally accepted in handbooks as true for all kinds of currents. H e r i n g wanting to conciliate divergent results of old authors, asserts that the deviations from the Law of Polar Excitation were caused by compression or other lesions of the investigated muscles. The general belief concerning the Law of Polar Excitation is mainly due according to my opinion, to the fact, that this law was definitely proved for nerves and by analogy transferred on the muscles. I tested in the first place if the experiments on which is based the Law of Polar Excitation for nerves i. e. the experiments of P f l ü g e r as well as those of H a r l e s s and B i e d e r m a n n will give the same result also for muscles. It appeared that both kinds of experiments have given completely different results for muscles than for nerves. And namely in the experiments of the P f l ü g e r type which I have performed so, that only one half of the muscle could contract

1) Przedstawione na posiedzeniu Polskiego Towarzystwa Fizjologicznego dn. 16 lutego 1939 r

whereas the second was stimulated. The stimulation of the motionless half was causing the contraction of the loose part notwithstanding whether the anode or cathode were nearer to this last, both at the make or break of the current, even by currents till 10 ma. In experiments of the Harless and Biedermann type when the physiological conductivity in the centre muscle was blocked and I was stimulating it so, that on one side was the cathode and on the other the anode. Although by making of very weak currents only the half connected with the cathode contracted, but already by currents thrice the threshold value for the cathode were causing contractions on the side of the anode. By still stronger currents there also appeared contractions of breaking as well on the side of the anode as that of the cathode. During the passage of constant current the lasting contraction appeared on both sides. However owing to the circumstance, that the muscle was poisoned in the centre and compressed, the excitation on the side of the anode by making and on the side of the cathode by breaking appear on the Hering poles. Anyhow the experiments of this type have given also a different result for the muscles than for the nerves, notwithstanding that the nerves were by the mentioned above authors also compressed or poisoned between the poles. From this experiments I conclude that the muscles are behaving in a different way towards the Law of Polar Excitation than the nerves and that the Law of Polar Excitation for striated muscles in the view point of the handbook are true only in a very limited scope, and namely for weak currents.

To avoid the reproach that stimulation in the vicinity of the anode at the making of the current arises on the Hering cathodes i. e. owing to compression or lesion of the muscle, I performed two groups of experiments, in which the muscles were neither compressed nor poisoned and only I evoked in them a relative inexcitability for the said direction of the current. Such muscles are not injured, it suffices to inverse the direction of the current to obtain anew a contraction of the

former size. (The effect of inversion „Wendungseffekt“ of S c h e m i n z k y). In the first group of experiments instead of inverting the direction of the current I pushed through the poles, supposing that if the stimulation by the making was originated only in the vicinity of the cathode, the shifting of the anode cannot influence the size of contraction. It appeared that both by shifting the cathode as well as the anode I obtained at the make of current a considerable development of contractions, although by the shifting of the cathode the growth of contractions was increasing. The increase of contractions by shifting the poles I named by analogy to the effect of inversion the effect of shifting of the anode or the cathode. The effect of shifting the anode appeared as well then when I was bringing the anode closer to the cathode as well as when removing it.

In the second group of experiments I was evoking the recovery of excitability of relatively unexcitable muscle, acting with a constant current so that whether only the cathode of this current occurred for the anode of the exciting or only the anode of the constant for the cathode of the exciting. In both cases I obtained the increase of contractions (the effect of local restitution). I concluded owing to these experiments that for strong currents the Law of Polar Excitation is not true for striated muscles, neither in the classical view point or in the view point of Hering, and that the relative inexcitability caused by prolonged stimulation by a constant current appears both in the vicinity of the cathode as well that of the anode.

Poisoning one or both ends of the muscle and locating on them the poles I came to the conviction that by strong enough currents the contractions appear as well then when on the intact part only the cathode is visible as well as then when only the anode, and even then when no one pole was located on the unpoisoned part. However the threshold of excitation in this last case was many times stronger than in the previous cases,

and less only then, when the cathode was solely situated on the unpoisoned part. I perceived then that by making strong enough constant current the original excitement in the striated muscle arises on the whole way of the passage of the current even when it is not compressed. By breaking strong current I ascertained that the original excitement arises as well in the vicinity of the anode as that of the cathode. Finally it appeared that by letting through of the strong current the constant contraction arises both in the vicinity of the cathode as well as that of the anode.

Trying to verify if really the compression of the muscle evokes the reception of the current there, where previously it did not appear as Hering supposed without any proof, I tied the muscle which was relatively inexcitable between the poles with a thick string. With the moment of tightening of the string the contraction of the muscle increased to a great extent: This proves that the contraction of the muscle causes the reception of the current there, where previously it did not appear.

I convinced myself also that by letting through strong currents of short duration the excitement is manifest on the whole way of the passage of the current. Besides the vicinity of the cathode it is the strongest and on the section of interpolar segment the weakest. Comparing the size of the contractions obtained by the excitement with a current of short duration in the vicinity of the anode with contractions of making and breaking of a constant strong current of the same strength, I noticed that the contraction of making is as strong as the contraction by a current of short duration, but the contraction of breaking either did not appear at all or was much weaker. I concluded that a current of short duration excites in the vicinity

of the anode not at the moment of breaking but at that of making.

Finally I noticed that in tired muscles the Law of Polar Excitation is true for stronger currents and to a larger extent than in fresh muscles. I explain it with the rising of the threshold of excitability owing to the fatigue of the muscle.

In order to explain the above results I suppose in opposition to the viewpoint of Hering that in completely fresh and uncompressed muscles on the whole way of the passage of the current so even in the nearest vicinity of the anode, are arising physiological cathodes. As to the place of appearance of these cathodes I presume two things. According to the first the cathodes arise in the muscle fibres less superficial then, when the current is passing through them to the deeply situated fibres. This supposition does not explain the creation of excitements on the inter-polar section. According to the second supposition the cathodes arise in the fibres of the periterminal network of Boeke. This supposition explains much more phenomena than the first. Unfortunately owing to the lack of adequate apparatus I could not perform the above mentioned experiments.

My point of view differs from the view point of Hering in this that it explains the creation of excitements at the making of the current along the portion flow already in quite fresh and uncompressed muscles, whereas the view point of Hering assumes that only in the compressed or injured muscles may appear the excitement on the whole course of the flow of the current, and in completely uninjured muscles it arises according to this author only in the vicinity of the cathode.

W S T Ę P

1. Ustalenie tematu pracy.

Z p \acute{o} śród wszystkich podniet stosowanych w badaniach fizjologicznych, podniety elektryczne wysuwają się niewątpliwie na plan pierwszy. Zalety podniet elektrycznych, jako to stosunkowo małe uszkodzenie drażnionej tkanki, co pozwala

na wielokrotne i długotrwałe powtarzanie drażnienia, możność dokładnego dawkowania oraz mierzenia siły podniety, możność ograniczenia działania podniety w czasie i przestrzeni — powodują, że podniety te stanowią ulubiony i najczęściej stosowany sposób drażnienia wszelkich tkanek, a w szczególności mięśni szkieletowych, w doświadczeniach fizjologicznych. Z tego względu możliwie dokładna znajomość działania prądu elektrycznego na tkanki żywe jest bardzo ważna. W szczególności jest rzeczą ważną wiedzieć, czy prąd elektryczny drażni na całej drodze przepływu, czy tylko w pewnych określonych miejscach. Jak wiadomo, ogólnie panuje obecnie pogląd, że zarówno przy zamykaniu prądu stałego, jak i przy przepuszczaniu prądu krótkotrwałego, podrażnienie pierwotne, czyli jak mówi M a n g o l d (1923), recepcja podniety zachodzi wyłącznie przy katodzie, zaś przy otwieraniu prądu stałego wyłącznie przy anodzie. To tak zwane prawo biegunowego drażnienia ma dotyczyć zarówno nerwów, jak i mięśni. Wyrazem tego, że pogląd ten jest ogólnie przyjęty, może być stanowisko zajęte przez autorów podręczników. Weźmy dla przykładu podręczniki: angielski S t a r l i n g a (wyd. 6 z 1933 r. str. 145), francuski G l e y a (wyd. 7 z 1928 r. str. 986) i niemiecki L a n d o i s - R o s e m a n n a (wyd. 19 z 1929 r. str. 544). Najdokładniej i najwyraźniej wypowiada się podręcznik L a n d o i s: przy zamykaniu prądu zachodzi podrażnienie t y l k o przy katodzie, przy otwieraniu t y l k o przy anodzie. S t a r l i n g a wyraża się następująco: Skurcz zamknięcia wychodzi z katody, skurcz otwarcia z anody, Wreszcie G l e y a pisze: Przy zamknięciu podrażnienie wychodzi z katody, a przy otwarciu z anody. Ci ostatni autorzy nie stwierdzają tak wyraźnie jak L a n d o i s, że przy zamykaniu prądu stałego pierwotne podrażnienie występuje t y l k o w okolicy katody, a przy otwieraniu t y l k o w okolicy anody, jednak trzeba przypuszczać, że i oni tak swoje twierdzenia rozumieli, gdyż inaczej twierdzenia te niezauważone w żadne komentarze nie miałyby sensu. We wszystkich trzech przypadkach chodzi o bezpośrednie działanie długotrwałego prądu stałego zarówno na nerwy, jak i na mięśnie. Działaniem prądów krótkotrwałych naogół podręczniki się nie zajmują, jednak w specjalnych podręcznikach elektrofizjologii, jak np. B i e d e r m a n n a, (1895), można zna-

leżć nie mniej ogólne i kategoryczne twierdzenie, że prądy krótkotrwałe drażnią mięśnie tylko przy katodzie.

Należy tu odrazu podkreślić, że w powyższych twierdzeniach nie ma żadnych zastrzeżeń co do siły prądu, przy której to prawo ma być słuszne, a więc należy przypuszczać — i takie jest ogólne mniemanie, — że prawo to jest słuszne dla wszelkich nateżeń prądu.

Zagadnienie powyższe ma duże znaczenie w elektrofizjologii, zarówno teoretyczne, jak i praktyczne. Znaczenie teoretyczne wynika stąd, że teoria drażnienia prądem elektrycznym musi zależeć od tego, czy drażnienie zachodzi tylko przy jednym biegunie, czy przy obu, czy wreszcie na całej drodze przepływu prądu. Praktyczne znaczenie tego zagadnienia mogłem ocenić w związku z moimi badaniami, dotyczącymi rozdzielności kurczliwości i pobudliwości mięśni. W doświadczeniach tych działałem różnymi czynnikami uszkadzającymi tylko jedną połowę mięśnia, po czym chciałem drażnić tylko uszkodzoną połowę, ażeby się przekonać, czy można uzyskać w tych warunkach taki stan, w którym kurczy się jeszcze połowa nieuszkodzona, natomiast już nie kurczy się połowa uszkodzona. W tym celu drażniłem mięsień silnymi prądami krótkotrwałymi w ten sposób, że prąd przepływał przez cały mięsień, przy czym katoda znajdowała się na końcu uszkodzonym, zaś anoda na nieuszkodzonym. Wierzyłem przy tym, opierając się na podręczniku *Starlinga* oraz na zdaniu *Prof. Schemina* z *Ky'ego*, w którego pracowni rozpocząłem te badania, że podrażnienie, które w tych warunkach ma zgodnie z prawem biegunowego drażnienia powstawać tylko przy katodzie, nie powstanie w części nieuszkodzonej, na której leżała tylko anoda.

Przy wykonywaniu tych doświadczeń zauważyłem, że nawet wówczas, gdy połowa poddana działaniu czynnika szkodliwego była już niewątpliwie martwa, druga połowa nieuszkodzona, na której znajdowała się anoda, dawała niezmiernie skurcze. Natomiast gdy przeniosłem również i anodę na połowę uszkodzoną, tak, że prąd płynął tylko przez tę ostatnią, skurcze połowy nieuszkodzonej natychmiast ustały. Taki wy-

nik podał w wątpliwość wszystkie poprzednio uzyskane rezultaty, z których wynikało, że część uszkodzona może stracić zdolność do wykonywania skurczów, zachowując niezmienną pobudliwość i przewodnictwo. Ażeby upewnić się co do słuszności moich wniosków, musiałem powtórzyć wszystkie poprzednie doświadczenia, przepuszczając prąd tylko przez połowę uszkodzoną, uzyskując zresztą potwierdzenie poprzednich wniosków. W ten sposób wiara w słuszność prawa biegunowego drażnienia w stosunku do mięśni mogła mnie doprowadzić do fałszywych wniosków. Przypuszczam, że podobne sytuacje zdarzały się i innym badaczom. Sądzę, że przykład ten wystarczy, ażeby uzasadnić konieczność sprawdzenia tak ogólnie przyjętego prawa biegunowego drażnienia w przypadku mięśni.

Jeszcze w jednym przypadku spotkałem się z powyższym zagadnieniem, a mianowicie przy badaniu w pracowni Prof. S c h e m i n z k y' e g o tzw. przez niego „*Wendungseffekt*“, tj. efektu odwrócenia. B i e d e r m a n n, (1879 a, 1895), który pierwszy opisał to zjawisko, przedstawia je w następujący sposób: jeżeli powtarzać w krótkich odstępach zamykanie prądu przepływającego przez mięsień żaby, nie zmieniając kierunku prądu, to działanie prądu stopniowo się zmniejsza, i to tym prędzej, im słabszy jest stosowany prąd. Każdy nowy skurcz jest wyraźnie słabszy od poprzedniego i jeśli doświadczenie prowadzić dostatecznie długo, to w końcu przy zamykaniu prądu o tym samym kierunku nie występują żadne zmiany kształtu mięśnia. Jak powiada B i e d e r m a n n, jest on dla tego kierunku prądu „zmęczony“. Jeżeli teraz odwrócić kierunek prądu, to uzyskuje się ponownie maksymalne skurcze przy zamknięciu. W 50 lat później S c h e m i n z k y odkrył ponownie to zjawisko na licznych zwierzętach wodnych. Występuje ono zarówno w mięśniach prążkowanych jak i gładkich. Ze względu na występowanie skurczów po odwróceniu prądu, S c h e m i n z k y nazwał to zjawisko efektem odwrócenia — „*Wendungseffekt*“. Efekt odwrócenia był przedmiotem szczegółowych badań S c h e m i n z k y' e g o i jego współpracowników (S c h e m i n z k y 1929; v. G u l á c s y; F e r d. i F r. S c h e m i n z k y; H e l l e r; S t i a s n y; K a n n; F l e i s c h-

mann i Scheminzky; Krauss, Neumann i Reiffenstühl; Scheminzky 1932; Neumann 1932; Kraus i Reiffenstühl; Habenicht; Zawadzki 1938 a, b).

Stan, w którym znajduje się mięsień po długotrwałym drażnieniu prądem jednokierunkowym, nazywa Scheminzky, podobnie jak i Biederman, zmęczeniem, przy czym dla podkreślenia, że chodzi tutaj tylko o obniżenie zdolności mięśnia do wykonywania skurczów przy ściśle określonych co do miejsca i rodzaju podniętach, wprowadzają wspomniani autorzy nazwę zmęczenie miejscowe (*lokale Ermüdung*) albo zmęczenie względne (*relative Ermüdung*). Przeciwno użyciu w tym przypadku terminu zmęczenia, nawet z dodatkami względne czy miejscowe, wystąpił Winterstein. Zastrzeżenia jego wydają mi się słuszne, gdyż przez zmęczenie należy rozumieć odwracalne obniżenie zdolności organizmu lub narządu do wykonywania pewnej czynności, wywołane przez czynność tegoż organizmu lub narządu. W przypadku zaś „*Wendungseffekt*“ ani nie zachodzi obniżenie zdolności do wykonywania skurczów ze strony mięśnia, gdyż po odwróceniu kierunku prądu uzyskujemy ponownie równie silne skurcze, jak na początku drażnienia, ani zmniejszenie wielkości skurczów przy pierwotnym kierunku prądu nie jest wywołane przez czynność narządu, lecz przez fizyko-chemiczne działanie samej podniety. Natomiast zmniejszenie skurczów jest wywołane przez obniżenie pobudliwości w stosunku do pierwotnej podniety, tj. do prądu o danym kierunku przepływu, czego dowodzi fakt, że wystarczy zwiększyć siłę podniety przy niezmienionym jej rodzaju, albo zmienić sposób przepuszczania prądu przy tej samej jego sile, żeby otrzymać ponownie początkową reakcję. Dlatego wydaje mi się słuszniejszym nazywać stan wywołany przez długotrwałe jednokierunkowe działanie prądu „względną niepobudliwością“ w stosunku do prądu o danym kierunku przepływu, a nie „względnym zmęczeniem“.

Dla wyjaśnienia powstania względnej niepobudliwości przy drażnieniu prądem jednokierunkowym wysuwa Scheminzky (1929) następującą teorię: z doświadczeń Emdena i Adlera oraz Wefissa (literaturę patrz

w pracy H a b e n i c h t a 1932) wiadomo, że prąd elektryczny wpływa na przepuszczalność mięśni, przy czym według E b b e c k e'g o na katodzie zachodzi zwiększenie przepuszczalności mięśni, zaś przy anodzie zmniejszenie. Przy wielokrotnym przepuszczaniu prądu zachodzi sumowanie zmian przepuszczalności, wskutek czego przy katodzie przepuszczalność staje się coraz większa. Wobec tego, że zgodnie z teorią Nernsta działanie drażniące prądu polega na nagromadzeniu się jonów przy błonie otaczającej włókna mięśniowe, z chwilą zwiększenia przepuszczalności tych błon nagromadzenie jonów nie może się utrzymać, względnie wogóle wystąpić, wobec czego prąd nie może drażnić mięśnia. Po pewnym wypoczynku błona wraca do stanu pierwotnego i ta sama podnieta może być znowu skuteczna. Jednak również i bezpośrednio po rozluźnieniu błony może wystąpić reakcja, jeżeli prąd zostanie odwrócony, gdyż teraz biegun drażniący, tj. katoda, znajduje się tam, gdzie nie zaszło rozluźnienie błony, a nawet przeciwnie pod wpływem anody błona została zagęszczona.

Teoria ta opiera się między innymi na dwóch następujących założeniach: 1. że przy działaniu krótkotrwałymi prądami biegunem drażniącym jest w y ł ą c z n i e katoda, tj. że prawo biegunowego drażnienia stosuje się do prądów krótkotrwałych i do mięśni prądkowanych, oraz 2. że obniżenie pobudliwości w stosunku do danego kierunku prądu zachodzi w y ł ą c z n i e przy katodzie.

W 1938 roku ogłosiłem pracę (Z a w a d z k i 1938 a, b) wykonaną w pracowni Prof. S c h e m i n z k y'ego, która zdawała się potwierdzać oba te założenia. Mianowicie okazało się, że jeżeli przez bardzo zmęczony długotrwałym drażnieniem prądami o różnych kierunkach mięsień, umocowany w środku i połączony z dwiema dźwigniami w ten sposób, że jego każda połowa zapisywała niezależne skurcze, przepuszczając w ciągu 10 minut stały prąd elektryczny, to ta połowa, która była pod działaniem anody prądu stałego, daje obecnie bez porównania wyższe aniżeli poprzednio skurcze, przy czym tylko wówczas, gdy na tę połowę działa katoda prądu drażniącego. Natomiast połowa poddana działaniu katody prądu stałego albo wcale się nie kurczy, albo znacznie gorzej, niż poprzednio.

Z tych doświadczeń wywnioskowałem, że pobudliwość mięśnia przy przepuszczaniu prądu stałego wzrasta tylko w tej połowce, która była pod działaniem anody prądu stałego. Stąd z kolei wynikał wniosek, że obniżające pobudliwość działanie prądu drażniącego zachodziło tylko przy katodzie, a zarazem, że biegunem drażniącym była tylko katoda.

Wobec tego, że jak widać z powyższego, różne doświadczenia dawały mi sprzeczne wyniki, a przy tym częściowo różniące się od ogólnie panujących poglądów, postanowiłem zbadać dokładnie zagadnienie, czy i w jakim stopniu prawo biegunowego drażnienia stosuje się do mięśni prądkowanych. Zanim jednak przystąpię do przedstawienia moich doświadczeń, przedstawię pokrótce dowody, na których się to prawo opiera.

2. Historia zagadnienia.

Omówione zagadnienie było przedmiotem licznych badań przede wszystkim w drugiej połowie XIX wieku. W stosunku do nerwów pierwszy P f l ü g e r wysunął w 1859 roku tezę, że pierwotne podrażnienie przy zamykaniu prądu stałego występuje tylko w okolicy katody, zaś przy otwieraniu tylko w okolicy anody. Twierdzenie to ujął P f l ü g e r w następujący sposób: „Erregt wird eine gegebene Nervenstrecke durch das Entstehen des Katelektrotonus und das Verschwinden des Anelektrotonus, nicht aber durch das Verschwinden des Katelektrotonus und das Entstehen des Anelektrotonus“ (str. 456). Opierał się on przy tym na swoim tzw. trzecim prawie skurczów, które powiada, że przy działaniu silnego prądu wstępującego na nerw, skurcz występuje tylko przy otwieraniu prądu, zaś przy prądzie zstępującym tylko przy zamykaniu. Według P f l ü g e r a przy prądzie wstępującym stan czynny, który powstaje przy katodzie w chwili zamykania nie może przedostać się do mięśnia na skutek zniesienia przewodnictwa fizjologicznego w okolicy anody, zaś analogicznie przy prądzie zstępującym podrażnienie powstające w chwili otwierania przy anodzie nie może się przedostać do mięśnia z powodu zniesienia przewodnictwa w okolicy katody.

W dalszym ciągu „prawo biegunowego drażnienia“ będę dla krótkości oznaczał literami PBD. Otóż dalsze dowody po-

twierdzące PBD w stosunku do nerwów podali H a r l e s s (1861) oraz B i e d e r m a n n (1881). Stosując prąd średni, który dawał skurcze zarówno przy zamykaniu, jak i przy otwieraniu, dla obydwu kierunków prądu, znosili oni przewodnictwo fizjologiczne pomiędzy biegunami czynnikami chemicznymi lub mechanicznymi, zachowując jednocześnie przewodnictwo elektryczne. Po takim zabiegu mięsień połączony z tym nerwem dawał skurcze przy zamykaniu prądu średniego tylko wówczas, kiedy katoda znajdowała się między nim i miejscem uszkodzenia nerwu, zaś przy otwieraniu tylko wówczas, gdy anoda była bliżej mięśnia. Doświadczenia wspomnianych autorów stanowią wystarczający dowód, że w stosunku do nerwów PBD jest słuszne zarówno przy prądach słabych, średnich i silnych.

W stosunku do mięśni pierwsze ściślejsze badania przeprowadził v. B e z o l d w 1861 r. Badania jego zasługują na bliższe omówienie, gdyż jakkolwiek mało przekonujące, stały się podstawą dla szeregu innych podobnych, a przy tym stanowią wciąż jeszcze jeden z głównych dowodów twierdzenia o biegunowym drażnieniu w przypadku mięśni prądkowanych. Doświadczenia B e z o l d a miały następujący przebieg. Przytwierdzał on mięsień krawiecki żaby do korka dwoma drutami w ten sposób, że jeden drut przytrzymywał górną część mięśnia, a drugi środkową. Dzięki temu kurczyć się mogła tylko dolna część mięśnia, połączona z dźwignią miografu. Druty przytwierdzające mięsień służyły zarazem jako elektrody doprowadzające prąd. B e z o l d drażnił mięsień zamykaniem i otwieraniem prądu stałego, przy czym katodę stanowił w jednych przypadkach drut doprowadzający prąd do środka mięśnia, a więc bliższy części wykonywującej skurcze, zaś w innych drut umieszczony na górnym końcu mięśnia, a więc położony dalej od swobodnie kurczącej się części. Oznaczając w obu przypadkach okres utajony przy zamykaniu i otwieraniu prądu, B e z o l d stwierdził, że przy zamykaniu okres utajony był krótszy wówczas, gdy katoda znajdowała się bliżej swobodnie kurczącego się odcinka. Natomiast przy otwieraniu prądu okres utajony był krótszy wówczas, gdy anoda była bliżej części zapisującej. W celu wyjaśnienia tych wyników B e z o l d wysunął hipotezę, że mięsień przy zamykaniu prądu

jest przezeń najpierw (*z u n ä c h s t*) drażniony w okolicy elektrody ujemnej, a nie w okolicy elektrody dodatniej (str. 244). Wyrażenie *z u n ä c h s t* jest dość dwuznaczne, gdyż można je rozumieć w ten sposób, że miejscem recepcji jest wcześniej okolica katody, co nie wyklucza możliwości, że okolica anody jest również miejscem recepcji, tylko później niż okolica katody. Można jednak rozumieć również i w ten sposób, że miejscem recepcji jest wyłącznie okolica katody, zaś podrażnienie w okolicy anody powstaje nie wskutek recepcji podniety, lecz wskutek przewodzenia w okolicy katody. Oba te ujęcia równie dobrze tłómaczą uzyskane wyniki, jednak z dalszych rozważań zarówno *B e z o l d a*, jak i innych autorów, którzy opierali się na pomiarze okresu utajonego, wynika, że rozumieć je wyłącznie w tym drugim znaczeniu. Zwłaszcza *H e r i n g* (1879), omawiając prace *B e z o l d a* zupełnie wyraźnie opowiada się za drugim z tych ujęć.

Jeżeli chodzi o podrażnienie powstające przy otwieraniu prądu stałego, to sformułowanie *B e z o l d a* jest bardziej jednoznaczne. Pisze on, że przy otwarciu płynącego przez mięsień prądu bezpośrednie podrażnienie zachodzi przy biegunie dodatnim, a nie przy ujemnym.

Dalsze badania przeprowadził w roku 1862 *A e b y*. Doświadczenia jego były wykonane w następujący sposób: umieszczał on na poziomo leżącym zlekka obciążonym mięśniu za by dwie dźwignie, które w chwili zgrubienia mięśnia pod dźwignią zapisywały na obracającym się walcu odpowiednie krzywe. Jeżeli teraz autor drażnił mięsień w ten sposób, że obie elektrody prądu stałego znajdowały się na jednym końcu mięśnia poza dźwigniami, wówczas zarówno przy zamykaniu jak i przy otwieraniu prądu dźwignia położona bliżej elektrod podnosiła się wcześniej, niż dalsza. Jeżeli natomiast elektrody były umocowane na końcach mięśnia w ten sposób, że obie dźwignie znajdowały się między elektrodami, wówczas zarówno przy zamykaniu jak i przy otwieraniu prądu stałego obydwie dźwignie podnosiły się jednocześnie. Z tych doświadczeń *A e b y* wyciągnął wniosek, że podrażnienie występuje jednocześnie pod obydwoma dźwigniami i wobec tego wysunął hipotezę, że prąd elektryczny zarówno przy zamknięciu jak i przy otwarciu recepcji takich prądów w mięśniach prądkowanych

otwarcu wywołuje podrażnienie nie tylko na biegunach, lecz na całym odcinku przez który przepływa prąd, a zarazem, że podrażnienie to występuje na całej przestrzeni jednocześnie.

Badania oparte na pomiarze okresu utajonego przeprowadzili również inni autorzy, jak Engelmann (1870), Biedermann (1879a) i inni. Wyniki ich są na ogół zgodne z otrzymanymi przez Bezolda co do tego, że podrażnienie występuje wcześniej w okolicy katody przy zamykaniu prądu, zaś w okolicy anody przy jego otwieraniu. Jednak wynik ten nie stanowi dowodu, że podrażnienie pierwotne występuje w pierwszym przypadku wyłącznie w okolicy katody, a w drugim w okolicy anody. Czas trwania okresu utajonego zależy od różnych czynników, a przede wszystkim, jak to stwierdziło wielu autorów, (z nowszych patrz Steinhause 1921) od siły podniety. Mianowicie przy silniejszej podniecie okres utajony staje się krótszy. Otóż już Aeb'y (1867) twierdził, że przy zamykaniu prądu silniejsze podrażnienie powstaje w okolicy katody, zaś przy otwieraniu w okolicy anody. Stąd według Aeb'y'ego wyniki v. Bezolda można wytłumaczyć w ten sposób, że okres utajony w okolicy katody jest przy zamykaniu prądu krótszy dlatego, że działa tu silniejsza podnieta, ale nie dowodzi to zupełnie, że w okolicy anody przy zamykaniu prądu podrażnienie pierwotne w ogóle nie powstaje. Analogiczne rozumowanie można zastosować do drażnienia w okolicy katody i anody przy otwieraniu prądu stałego. Tak więc badań opartych na pomiarze okresu utajonego nie można uważać za dostateczny dowód, że PBD stosuje się również do mięśni prądkowanych.

Z drugiej strony Hering zarzucił, że wyniki Aeb'y'ego pochodzą stąd, że pod dźwigniami zapisującymi skurcze mięśnia, był on uciśnięty, zaś w miejscu uciśnięcia powstaje wg Heringa tzw. „katoda fizjologiczna“, względnie „anoda fizjologiczna“, i że podrażnienie w doświadczeniach Aeb'y'ego powstawało na tych właśnie wytworzonych przez uciśnięcie, a więc sztucznych biegunach. Ażeby zrozumieć to wyjaśnienie, należy dokładniej rozpatrzyć jaki jest przebieg prądu w mięśniu. Jeżeli mamy mięsień o równoległych włóknach, jak np. *sartorius*, i jeżeli ułożymy go tak, żeby od-

ciniek pomiędzy elektrodami nigdzie się nie zakrzywia, to prąd z elektrody dodatniej wchodząc do mięśnia na ogół musi przejść przez tkankę łączną i ciecz międzykomórkową, następnie dopiero przenika do włókien, po czym płynie wewnątrz włókien, nie wychodząc z nich po drodze. Dopiero w okolicy elektrody ujemnej prąd wychodzi z włókien znowu do tkanki łącznej i cieczy międzykomórkowej, skąd przechodzi na elektrodę ujemną. Jeżeli natomiast włókna pomiędzy elektrodami zostaną zakrzywione np. przez uciśnięcie, to prąd może częściowo wychodzić z włókien, względnie z powrotem do nich wchodzić również i w tych miejscach zakrzywienia. Ilustruje to rys. 1.



Rys. 1

Powstawanie biegunów Heringa w uciśniętym mięśniu

W miejscu uciśnięcia A prąd częściowo wychodzi z włókna, tworząc katodę Heringa (—), po czym znowu wchodzi do włókna, dając anodę Heringa (+)

Otóż H e r i n g te miejsca, przez które prąd wychodzi z włókien, nazywa katodą fizjologiczną, zaś te, przez które prąd wchodzi do włókien — anodą fizjologiczną, bez względu na to, czy miejsca te leżą przy elektrodach, czy w miejscach zakrzywienia włókien. Nasuwa się tu uwaga, że nazwa katoda fizjologiczna w ujęciu H e r i n g a powinna by się stosować tylko do miejsc wyjścia prądu przy elektrodzie ujemnej, jako prawidłowych, natomiast jeżeli katoda taka powstaje wskutek uciśnięcia czy zakrzywienia mięśnia, to raczej należało by mówić o katodzie patologicznej, a nie fizjologicznej. Pomijając tę uwagę należy stwierdzić, że terminy katoda i anoda są używane przez różnych autorów w różnym znaczeniu, a wobec tego i PBD może być rozmaicie rozumiane. I tak w klasycznym ujęciu v. B e z o l d a jest mowa tylko o elektrodach ujemnej i dodatniej. Jeżeli więc podręcznik Landois mówi, że przy zamykaniu prądu podrażnienie zachodzi tylko przy katodzie, to widocznie przez katodę rozumie elektrodę ujemną. Natomiast jak widzieliśmy H e r i n g katodą nazywa miejsce,

przez które prąd wychodzi z włókien mięśniowych. Ażeby uniknąć nieporozumień, wynikających z różnego znaczenia przypisywanego nazwom katoda i anoda, wprowadzam następujące pojęcia: Wszelki przewodnik, odprowadzający prąd od nerwu lub mięśnia jako całości, będę nazywał *katodą fizyczną*. Zespół miejsc, przez które prąd wychodzi z włókien w bezpośrednim sąsiedztwie katody fizycznej, będę nazywał *katodą anatomiczną*. Zespoły miejsc, przez które prąd wychodzi z włókien na skutek ich zagięcia przez zakrzywienie, uciśnięcie itp. będę nazywał *katodami Heringa*. Część mięśnia lub nerwu położoną w najbliższym sąsiedztwie katody fizycznej nazywam *okolicą katody*. Analogicznie wprowadzam nazwy *anody fizycznej*, *anatomicznej* i *Heringa*, oraz *okolicy anody*. Wreszcie część mięśnia położoną pomiędzy okolicą katody i anody nazywam *odcinkiem pośrednim*.

Ścisłej granicy pomiędzy okolicą anody czy katody i odcinkiem pośrednim nie można podać, ale naogół ustalenie, czy dany punkt należy np. do okolicy katody nie następuje większych trudności.

Posługując się tymi terminami można prawo biegunowego drażnienia sformułować w ujęciu Heringa w następujący sposób: przy zamykaniu prądu podrażnienie powstaje wyłącznie na katodzie anatomicznej, albo na katodach Heringa, zaś przy otwieraniu tylko na anodzie anatomicznej, albo na anodach Heringa. Dla uproszczenia będę w dalszym ciągu zajmował się tylko pierwszą częścią tego prawa, dotyczącą zamykania prądu, tym bardziej, że praktycznie jest ona ważniejsza.

Jeżeli porównamy sformułowanie PBD podane przez v. Bezolda z ujęciem Heringa, to zobaczymy, że istnieje między nimi duża różnica. V. Bezold mówi wyraźnie, że przy zamykaniu prądu mięsień jest drażniony tylko w okolicy elektrody ujemnej, a nie w okolicy elektrody dodatniej. Natomiast według Heringa mięsień może być przy zamykaniu drażniony również i w okolicy anody, jeżeli, zostanie w tym miejscu uciśnięty lub w jakiś inny sposób powstanietam katoda Heringa.

Otóż należy stwierdzić, że zarówno podręczniki, jak i praktyka laboratoryjna nie uwzględniają powyższych zastrzeżeń, lecz uważają, że PBD jest słuszne bez ograniczenia w ujęciu v. B e z o l d a. Należy przyznać, że gdyby ujęcie H e r i n g a było słuszne, stanowiłoby ono znaczny postęp w stosunku do ujęcia v. B e z o l d a, zwłaszcza gdyby je podawano w formie zastrzeżeń, w jakich warunkach ujęcie v. B e z o l d a zawodzi. Bowiem takie ujęcie zwracałoby uwagę badaczy na to, kiedy muszą się liczyć z tym, że i w okolicy anody może powstać podrażnienie przy zamykaniu, względnie przy prądach krótkotrwałych. To też szkoda, że zastrzeżenia H e r i n g a są tak mało znane i nie uwzględniane przez podręczniki. Nawet ci, którzy dobrze znają te zastrzeżenia, zapominają o nich w praktyce laboratoryjnej.

Nasuwa się jeszcze pytanie, czy twierdzenie H e r i n g a, że wskutek uciśnięcia zachodzi recepcja podniety zamknięcia prądu pomimo, że w tym samym miejscu przed uciśnięciem nie zachodził, jest słuszne. O ile wiem H e r i n g, ani żaden z jego zwolenników nie sprawdzał tego twierdzenia eksperymentalnie. Ze względu na dużą rolę, jaką odegrały bieguny H e r i n g a w historii tego zagadnienia, wykonałem pewne doświadczenia, które potwierdzają tę tezę. Doświadczenia te przedstawiam na końcu części eksperymentalnej pod nazwą „efekt uciśnięcia“.

Wracając do historii mego zagadnienia, muszę stwierdzić, że już pierwsze prace w tej dziedzinie doprowadziły do wniosku, że PBD nie może być bez zastrzeżeń formułowane w taki sposób, jak to czynią podręczniki.

Drugą grupę doświadczeń, które mają stanowić bardziej bezpośredni dowód słuszności wspomnianego prawa, zapoczątkowali B i e d e r m a n n (1879b) i E n g e l m a n n (1881). Doświadczenia te wykonywano w następujący sposób: na jednym końcu mięśnia znoszono pobudliwość działaniem czynników mechanicznych, termicznych, chemicznych lub elektrycznych, po czym przepuszczano prąd przez cały mięsień w ten sposób, że na końcu uszkodzonym znajdowała się na przemian katoda lub anoda prądu stałego. W pierwszym przypadku zniknęły całkowicie przy słabych prądach, l u b

znacznie się zmniejszały przy nieco silniejszych prądach, skurcze występujące przy zamykaniu prądu, w drugim przypadku skurcze otwarcia prądu. Na tej podstawie wysnuto wniosek, że przy zamykaniu prądu podrażnienie pierwotne powstaje tylko w okolicy katody, zaś przy otwieraniu tylko w okolicy anody. Należy stwierdzić, że wniosek ten jest zbyt daleko idący. Można tylko powiedzieć, że zdanie to jest słuszne dla słabych prądów, natomiast dla silniejszych prądów można wysunąć twierdzenie, że w okolicy katody przy zamykaniu działa silniejsza podnieć, niż w okolicy anody, zaś przy otwieraniu silniejsza podnieć działa w okolicy anody. Tymczasem jak już wspomniałem spotykane w literaturze i podręcznikach sformułowania PBD nie robią żadnych zastrzeżeń co do siły prądu, przy których prawo to jest słuszne. Wythumaczenie tego można znaleźć chyba tylko w tym, że zgodnie z ogólnym nastawieniem fizjologów PBD musi być jednakowe dla nerwów i dla mięśni, wobec tego, że dla nerwów PBD jest słuszne przy wszelkich prądach, więc wierzono, że to samo stosuje się i do mięśni.

Podano jeszcze kilka zjawisk, które miały stanowić dowód słuszności PBD w przypadku mięśni prądkowanych, lecz ich wartość dowodowa jest tak niewielka, że nie będę się nimi zajmował.

Jeżeli chodzi o prądy krótkotrwałe, to pierwsze badania dotyczące recepcji takich prądów w mięśniach prądkowanych ogłosił C h a u v e a u w 1859 roku. Stwierdził on, że prąd indukcyjny drażni wyłącznie w okolicy katody tylko wówczas, gdy jest bardzo słaby. Nieco silniejsze prądy drażnią zarówno w okolicy katody, jak i anody, a jeszcze silniejsze na całej drodze przepływu prądu przez mięsień. Badania C h a u v e a u opierały się wyłącznie na obserwacji skurczów niewyosobnionych mięśni koni, więc jakkolwiek wyniki jego były niewątpliwie słuszne, to jednak nie miały większego znaczenia.

Dalsze badania dotyczące działania prądu indukcyjnego na mięśnie prądkowane przeprowadził A e b y (1862)), posługując się metodą opisaną powyżej dla prądów długotrwałych. Uzyskał on przy tym te same wyniki, co i dla prądu stałego, wobec czego doszedł do wniosku, że prąd indukcyjny

drażni na całej drodze przepływu przez mięsień równocześnie. Natomiast B i e d e r m a n n i inni twierdzili, że i przy prądzie indukcyjnym podrażnienie powstaje wcześniej w okolicy katody. Przy silnych prądach indukcyjnych v. R e g é c z y nie znalazł różnicy czasów utajonych dla drażnienia katodą i anodą. Jednak B i e d e r m a n n (1895) uważa, że w tych warunkach podrażnienie w okolicy anody powstawało nie w chwili zamykania, tj. powstawania prądu, lecz w chwili otwierania, tj. zanikania prądu. Gdyby nawet tak było, to w każdym razie nie można twierdzić, że przy drażnieniu prądem k r ó t k o t r w a ł y m podrażnienie powstaje w y ł ą c z n i e w okolicy katody, jak to utrzymuje w dalszym ciągu B i e d e r m a n n oraz S c h e m i n z k y. Nawet i ci autorzy muszą przecież przyznać, że silne prądy krótkotrwałe drażnią zarówno przy katodzie, jak i przy anodzie, a czy przy anodzie drażnią w chwili powstawania, czy zanikania, to już jest praktycznie obojętne, aczkolwiek ma duże znaczenie teoretyczne.

Dalszą starszą literaturę dotyczącą omówionych zagadnień można znaleźć u B i e d e r m a n n a (1895) i v. F r e y a (1909).

W późniejszych czasach B e t h e i H a p p e l (1923) posługując się udoskonaloną metodyką stwierdzili, że przy słabych prądach indukcyjnych podrażnienie występuje wcześniej w okolicy katody, przy nieco silniejszych jednocześnie w okolicy katody i anody, zaś przy maksymalnych n a c a ł e j d ł u g o ś c i p r z e p ł y w u p r ą d u. Autorzy ci utrzymują podobnie jak i B i e d e r m a n n, że w okolicy anody podrażnienie występowało nie w chwili powstawania prądu indukcyjnego, lecz w chwili zanikania prądu. Należy stwierdzić, że twierdzenie to nie jest oparte na żadnych podstawach doświadczalnych.*) Przeciwnie, jak zobaczymy w części

*) Wielka szkoda, że B e t h e nie sprawdził swojego twierdzenia posługując się tą samą metodą, tym bardziej, że mógł to niezwykle łatwo zrobić. Wystarczyłoby ten sam mięsień drażnić naprzemian prądem indukcyjnym oraz zamykaniem i otwieraniem równie silnego prądu stałego, i porównywać uzyskane wyniki.

eksperymentalnej, można wykazać, że twierdzenie to jest niezgodne z doświadczeniem.

Z przytoczonych danych wynika zupełnie wyraźnie że PBD w stosunku do mięśni prądkowanych opiera się na bardzo niedostatecznych podstawach. Doświadczenia przeprowadzone dla wyjaśnienia zagadnienia dały wyniki częściowo sprzeczne, jak w badaniach v. Bezolda i Aebly'ego, częściowo potwierdzają to prawo w stosunku do zamykania prądu, ale tylko dla prądów słabych. Mimo to, jak widzieliśmy, podręczniki podają wspomniane prawo jako zupełnie pewne i ważne dla wszelkich nateżeń prądu. Przyczyną tego jest, jak sądzę, i jak już wspomniałem, analogia jaka istnieje pod wieloma względami pomiędzy nerwami i mięśniami. Ze względu więc na wielką rolę, jaką odegrała ta analogia w ugruntowaniu się wiary w słusność PBD w stosunku do mięśni prądkowanych, postanowiłem w pierwszym rzędzie zbadać, czy rzeczywiście istnieje taka analogia również w stosunku do prawa biegunowego drażnienia. Wobec tego pierwsza część moich doświadczeń polega na powtórzeniu doświadczeń stosowanych na nerwach w przypadku mięśni prądkowanych.

Material i metoda.

Do badań używałem mięśni półbłoniastych (*m. semimembranosus*) i krawieckich (*m. sartorius*) żaby wodnej (*Rana esculenta*). Mięsień półbłoniasty jest długi, gruby, mocny i bardzo wytrzymały, tak, że można na jednym mięśniu wykonać cały szereg badań. Dawało to wielką oszczędność na czasie i materiale. Wobec tego jednak, że w połowie mięśnia przebiega ukośnie smuga ścięgnista (*inscriptio tendinea*), możnaby zarzucić, że w tym mięśniu katoda anatomiczna znajduje się nie tylko na koncu, lecz również w połowie mięśnia. Wobec tego po przeprowadzeniu na mięśniach półbłoniastych badań wstępnych i opracowaniu techniki doświadczeń, powtórzyłem wszystkie doświadczenia na mięśniach krawieckich, w których włókna przebiegają bez przerwy przez całą długość mięśnia. Okazało się, że wszystkie bez wyjątku rodzaje doświadczeń dały identyczny wynik na obu rodzajach mięśni, wobec czego krzywe, które przedstawiam w pracy, pochodzą częściowo z jednych mięśni, a częściowo z drugich.

Używałem zarówno mięśni żab zimowych, jak i wiosennych. Żadnej różnicy w stosunku do mojego zagadnienia w tych dwu rodzajach żab nie zauważyłem.

Wszystkie doświadczenia wykonywałem na mięśniach kuraryzowanych. Stosowałem 0,2% roztwór kurary bardzo czynnej (Merck, auf Wirksamkeit

geprüft, hochwirksam). Po wprowadzeniu 1 — 1,5 ml tego roztworu pod skórę na grzbiecie uzyskiwałem całkowite porażenie po upływie jednej godziny. W tym stanie żaby zabijałem i wypreparowywałem mięśnie możliwie starannie z kawałkami odpowiednich kości lub ścięgien. Po wypreparowaniu pozostawiałem mięśnie na pewien czas w roztworze Ringera. Skład roztworu Ringera był następujący: NaCl 6,5 g, KCl 0,075 g, CaCl₂ 0,15 g, NaHCO₃ 0,1 g w 1 litrze wody destylowanej.

Do drażnienia używałem prądów nasycenia z aparatu Scheminzk'y'e'g'o. Dokładny opis aparatury Scheminzk'y'e'g'o oraz jej zastosowania do drażnienia mięśni można znaleźć w pracach Scheminzk'y'e'g'o (1926, 1930, 1932), Hochstädt'a i Scheminzk'y'e'g'o oraz v. Gulácsy'e'g'o. Modyfikację metody Scheminzk'y'e'g'o podał Szabuniewicz.

Prądy nasycenia, które stanowią prąd anodowy lampy elektronowej, mają tę wielką zaletę, że przy użyciu dostatecznie dużego napięcia posiadają bardzo stałe natężenie, praktycznie niezależne od zmian oporu oraz od występowania polaryzacji w obwodzie. Dzięki temu stosując napięcie powyżej 200 v mogłem używać jako elektrod zwykłych drutów srebrnych, nie potrzebując się uciekać do kłopotliwych elektrod niepolaryzujących się. O stałości natężenia mogłem przekonać się obserwując wmontowany w obwód anodowy lampy miliamperometr, który pozwalał przy prądach do 1 ma odczytywać natężenie prądu z czułością do 0,01 ma. Prądy nasycenia stosowałem albo w postaci krótkotrwałych uderzeń prądu, włączając go na 60 — 120 ms (milisekund) przy pomocy metronomu z kontaktem rtęciowym w odstępach jednosekundowych, albo zamykając prąd kluczem ręcznym na kilka (zwykle 10) sekund. Czas przepływu prądów krótkotrwałych oznaczyłem za pomocą oscylografu katodowego.

Dalsze szczegóły metodyczne muszę omówić dla każdej grupy doświadczeń oddzielnie.

PRZEBIEG I WYNIKI DOŚWIADCZEŃ.

1. Sprawdzenie, czy rzeczywiście mięśnie prądkowane i nerwy zachowują się analogicznie w stosunku do PBD.

A. Powtórzenie doświadczeń Pflügera na mięśniach.

W celu powtórzenia doświadczeń Pflügera na mięśniach prądkowanych zastosowałem metodę podobną do użytej przez v. Bezolda. Mięsień był umocowany w środku i na jednym końcu, zaś drugi koniec był połączony z dźwignią zapisującą skurcze wolnej połówki. Przepuszczając silny prąd tylko przez przymocowaną połówkę, otrzymywałem skurcze swobodnie

kurczącej się połówki niezależnie od kierunku prądu, i to zarówno przy zamykaniu, jak i przy otwieraniu. Gdyby mięsień zachowywał się podobnie jak nerw, wówczas połowa wolna, przez którą prąd nie przepływał, nie powinna się kurczyć przy zamykaniu wówczas, gdy anoda znajdowała się w środku mięśnia, gdyż wówczas stan czynny powstający w okolicy katody na końcu mięśnia nie mógłby się przedostać przez okolicę anody do wolnej połówki. Podobnie gdy katoda była w środku, skurcz nie powinien powstawać przy otwieraniu prądu, gdyż podrażnienie powstające przy anodzie nie mogłoby się przedostać przez okolicę katody do wolnej połówki mięśnia. Fakt, że otrzymywałem równie wielkie skurcze nawet przy bardzo silnych prądach — do 10 ma — zarówno przy zamykaniu, jak i przy otwieraniu prądu bez względu na jego kierunek, dowodzi, że mięśnie prązkowane zachowują się odmiennie niż nerwy, wobec czego nie można opierać PBD w przypadku mięśni prązkowanych na doświadczeniach Pflügera, wykonanych na nerwach.

B. Powtórzenie doświadczeń Harlessa i Biedermanna na mięśniach prązkowanych.

Doświadczenia tej grupy opierają się na następującym rozumowaniu: jeżeli w środku mięśnia zniesiemy przewodnictwo fizjologiczne, zachowując przewodnictwo elektryczne, i będziemy przez cały taki mięsień przepuszczać prąd w ten sposób, że katoda będzie znajdować się na jednym końcu mięśnia, zaś anoda na drugim, to skurcze powinny wystąpić tylko w tej części mięśnia, w której zachodzi recepcja podnieci, gdyż podrażnienie nie będzie mogło przenieść się na drugą stronę poprzez miejsce o zniesionym przewodnictwie. Jeżeli więc PBD jest słuszne dla mięśni, to przy prądach krótkotrwałych oraz przy zamykaniu długotrwałych skurcz powinien wystąpić tylko w tej części mięśnia, do której przylega katoda fizyczna, zaś przy otwieraniu prądu stałego tylko po stronie anodowej mięśnia.

W celu sprawdzenia tego rozumowania wykonałem następujące doświadczenia. Mięsień umieszczałem w potrójnej komorze. Boczne części komory były szklane, zaś środkową

część stanowił niedomknięty pierścień szklany lub bakelito-
wy. Grubość tego pierścienia, a więc długość środkowej ko-
mory wynosiła 5 mm. Poszczególne części komory były od-
dzielone od siebie przegrodami. W środku każdej przegrody
znajdował się otwór, przez który przeciągałem wypreparowa-
ny mięsień. Otwory były tak dobrane, że przeciągnięty przez
nie mięsień był nieco uciśnięty. Zapewniało to oddzielenie za-
wartości poszczególnych komór i umożliwiało działanie czyn-
nikami chemicznymi tylko na środkowy odcinek mięśnia.
Przegrody miały grubość 2 mm, przy tym były mocno uchwy-
cone przez szerokie kołnierze, umieszczone na brzegach ko-
mór. Komory boczne były spięte mocnymi sprężynami zache-
pionymi o występy szklane przytopione do boków komór.
Dzięki temu mięsień był w środku mocno uchwycony i nie
mógł się przesuwać.

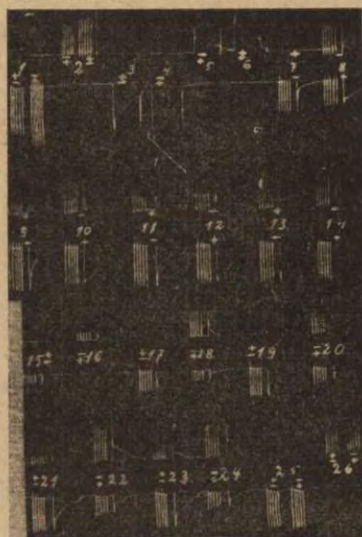
Oba końce mięśnia za pośrednictwem kości lub ścięgien
przywiązywałem nitkami do grubych srebrnych drutów, któ-
re stanowiły zarazem elektrody doprowadzające prąd, oraz
krótsze ramiona zagiętych pod prostym końcem dźwigni.
Dłuższe ramiona dźwigni były ustawione jedno nad drugim
w jednej płaszczyźnie, zaś końce ich zapisywały na obracają-
cym się walcu kimografionu dwie niezależne krzywe. Długość
dźwigni była tak dobrana, że końce ich znajdowały się na jed-
nej linii pionowej. W ten sposób każda połowa mięśnia mogła
kurczyć się niezależnie od drugiej i zapisywać swoje skurcze
w postaci dwóch krzywych, z których jedna była skierowana
ku górze, a druga ku dołowi. We wszystkich doświadczeniach
koniec przyśrodkowy mięśnia znajdował się w prawej części
komory i zapisywał górną krzywą, zaś koniec obwodowy
znajdował się w lewej części i zapisywał dolną krzywą. Sche-
matyczny rysunek tego urządzenia, ale bez środkowej komory,
znajduje się w jednej z moich prac (Z a w a d z k i 1938 c).
Zasadę podwójnej myografii podał poraz pierwszy H e r i n g.
Podwójną komorę stosowali R o b b i n s i W i l h e l m
u S c h e m i n z k y' e g o. Z potrójną komorą nigdzie się do-
tychczas nie spotykałem.

Oprócz elektrod końcowych, stanowiących zarazem krót-
sze ramiona dźwigni zapisujących, wkładałem jeszcze w mię-
sień w obu bocznych komorach srebrne druty tuż przy prze-

grodach gumowych. W ten sposób mogłem przepuszczać prąd albo przez cały mięsień, korzystając z elektrod końcowych, albo przez poszczególne odcinki mięśnia.

Przebieg doświadczeń tego typu był następujący. Wypreparowany mięsień przeciągałem przez otwory w przegrodach, następnie przegrody wsuwałem pomiędzy poszczególne części komory, które spinałem sprężynami. Następnie osadzałem komorę w specjalnym uchwycie i przywiązywałem do kości na końcach mięśnia końce dźwigni. Po wypełnieniu wszystkich trzech części komory roztworem Ringera pozostawiałem mięsień w spoczynku w ciągu jednej godziny w celu wyrównania zmian, jakie zachodzą w mięśniu podczas preparowania i osadzania w komorze. Po upływie tego czasu usuwałem całkowicie roztwory ze wszystkich trzech części komory i przystępowałem do drażnienia. W tych doświadczeniach drażniłem wyłącznie prądami nasycenia, zarówno krótko- jak i długotrwałymi. Typowy przykład uzyskanych wyników przedstawiają krzywe na rys. 2. Znaki — i + na krzywych oznaczają położenie katody względnie anody na mięśniu. Znaki + przy dolnych krzywych oznaczają, że prąd przepuszczałem tylko przez obwodowy, leżący na lewo odcinek mięśnia, który jak wspomniałem zapisywał dolną krzywą. Elektroda końcowa była przy tym połączona z katodą aparatu drażniącego, zaś elektroda wkłuta w lewej części komory przy przegrodzie z anodą aparatu. Ażeby móc możliwie krótko opisywać położenie biegunów w poszczególnych przypadkach drażnienia podaję na rys. 3 schematyczny obraz mięśnia oraz numery elektrod. Tak więc opisany powyżej układ biegunów można krótko przedstawić symbolem —1 +2, t. zn. elektroda Nr 1 na rys. 3 była połączona z katodą, zaś Nr 2 z anodą aparatu drażniącego. Posługując się tymi symbolami mogę następująco opisać przebieg doświadczenia. Po przekonaniu się, iż drażnienie jednej połowy mięśnia daje skurcze obu połówek niezależnie od kierunku prądu, wprowadzałem do środkowej komory 0.1n roztwór H_2SO_4 , zaś do obu bocznych komór roztwór Ringera. Dla oszczędności miejsca nie podałem na rys. 2 krzywych uzyskanych przed zniesieniem przewodnictwa. Takie normalne krzywe przedstawiają zapisy 1 i 2 na rys. 8. Po jednej godzinie działania kwasu usunąłem roztwory ze wszystkich komór i ponow-

nie drażniłem mięsien. Podkreślam, że drażniłem zawsze tylko mięśnie zawieszone w powietrzu, ale jeszcze wilgotne, natomiast po usunięciu roztworów z komory. Zapis 1 na rys. 2 daje wyniki drażnienia w położeniach biegunów $-1 +2$ i $+1 -2$. Dla każdego położenia biegunów uzyskiwałem po 5 skurczów, gdyż niejednokrotnie występuje tu zjawisko schodków Bowditcha, wobec czego jeden skurcz jest nie zawsze m'arodajny. Zapis 2 uzyskałem przy położeniu biegunów $+3 -4$. Zapisy



Rys. 2

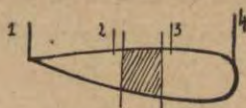
Drażnienie mięśnia (*M. semimembranosus*) o zniesionym w środku przewodnictwie, naprzemian prądem krótkotrwałym (np. w zap. Nr 1 i 2), oraz prądem stałym (czas przepływu 10 s, w zap. Nr 3 i 4).

Rozmieszczenie elektrod patrz rys. 3.

Znak -1 oznacza, że katoda była połączona z elektrodą 1, $+2$, że anoda była połączona z elektrodą 2. Notężenie prądu po każdej serii jednakowej w ma. Poniżej połączenia biegunów z elektrodami w poszczególnych zapisach. Nr 1: $-1 +2$ i $+1 -2$. Nr 2: $+3 -4$ i $-3 +4$. Nr 3: $-1 +2$. Nr 4: $+1 -2$. Nr 5: $+3 -4$. Nr 6: $-3 +4$ 1 ma. Nr 7: $-1 +4$. Nr 8: $+1 -4$, 0,1 ma. Nr 9: $-1 +4$. Nr 10: $+1 -4$, 0,3 ma. Nr 11: $-1 +4$. Nr 12: $+1 -4$ 0,4 ma. Nr 13: $-1 +4$. Nr 14: $+1 -4$, 0,5 ma. Nr 15: $-2 +3$. Nr 16: $+2 -3$, 0,2 ma. Nr 17: $-2 +3$. Nr 18: $+2 -3$, 0,4 ma. Nr 19: $-2 +3$. Nr 20: $+2 -3$, 0,6 ma. Nr 21: $-2 +3$. Nr 22: $+2 -3$, 0,8 ma. Nr 23: $-2 +3$. Nr 24: $+2 -3$, 1,0 ma. Nr 25: $-1 +2$. Nr 26: $-3 +4$, 1,0 ma.

1 i 2 dowodzą, że przewodnictwo fizjologiczne w środkowej części mięśnia zostało działaniem kwasu zniesione. Prąd był tu bardzo silny, wynosił 1 ma, więc gdyby przewodnictwo było zachowane, to obydwie połówki musiałyby dawać skurcze. Po sprawdzeniu, że podrażnienia wywołane przez prąd krótkotrwały nie przenoszą się na drugą połowę mięśnia, wykonałem analogiczną próbę z prądem długotrwałym również o natężeniu 1 ma. Czas przepływu prądu wynosił 10 sek., zaś położenie biegunów było następujące: przy zapisie 3: $-1 +2$, przy zapisie 4: $+1 -2$, przy zapisie 5: $+3 -4$ i przy zapisie 6: $-3 +4$.

Po stwierdzeniu, że przewodnictwo w środkowej części mięśnia zostało zniesione, przystąpiłem do właściwego badania. Przepuszczając prąd w położeniu $-1 +4$ oraz $+1 -4$ oznaczyłem próg dla każdej połowy mięśnia. Dla prądów krótkotrwałych i dla zamykania długotrwałych próg był jednakowy. Dla lewej połowy w położeniu $-1 +4$ próg wynosił



Rys. 3

Rozmieszczenie elektrod w doświadczeniu, przedstawionym na rys. 2. Część zakreślona oznacza miejsce o zniesionym przewodnictwie.

0.01 ma, w położeniu $+1 -4$ zaś 0.03 ma. Dla prawej połowy próg w pozycji $+1 -4$ wynosił 0.04 ma, w położeniu $-1 +4$ wynosił 0.12 ma. Przy ocenie wysokości progu należy wziąć pod uwagę, że mięsień jednak był nieco uszkodzony przez poprzednie zabiegi. Analizując uzyskane wyniki widzimy, że próg jest niższy wówczas, gdy na daną połowę działa katoda. Próg dla działania anody jest dla obu połówek trzy razy wyższy niż dla katody. Tym niemniej jednak skurcz występuje również po stronie, na którą działała tylko anoda i to przy stosunkowo niezbyt silnym prądzie. Uderza tutaj wielka różnica progów pobudliwości lewej i prawej połowy mięśnia. Przypominam, że lewa połowa odpowiadała końcowi obwodowemu mięśnia. Otóż już dawno stwierdzono, że prąd elektryczny działa silniej na końcu obwodowym mięśnia. Pochodzi to stąd, że zarówno

mięsień półbłoniasty jak i krawiecki nie mają jednakowej grubości na całym przebiegu, lecz koniec obwodowy jest znacznie cieńszy od przyśrodkowego. Wskutek tego gęstość prądu, która jak wiadomo jest miarodajna dla siły działania prądu na tkanki, jest wielokrotnie większa na końcu obwodowym niż na przyśrodkowym. Wyniki przedstawione na rys. 2 zostały uzyskane na mięśniu półbłoniastym, jednak jak już wspomniałem mięsień krawiecki daje zupełnie analogiczne wyniki.

Po oznaczeniu progu pobudliwości zacząłem drażnić mięsień coraz silniejszymi prądami. Zapis 7. przedstawia wynik drażnienia w położeniu $-1 +4$ prądem o natężeniu 0.1 ma, najpierw krótko- potem długotrwałym. Wobec tego, że próg dla anody po prawej stronie wynosił 0.12 ma, skurcze dała tylko lewa połowa, na którą działała katoda. Natomiast jak widać z zapisu 8. w położeniu $+1 -4$ lewa połowa dała pod działaniem anody nie wiele mniejsze skurcze, niż poprzednio pod działaniem katody, i to dla prądu długotrwałego tylko przy zamykaniu. Również prawa połowa, która poprzednio nie dała skurczów, w zapisie 8. pod działaniem katody dała skurcze tej samej wielkości, co i lewa połowa pod działaniem anody. Jest to zrozumiałe wobec tego, że próg lewej połowy dla anody wynosił tyle samo, co prawej połowy dla katody, tj. 0.03 ma.

Bardzo charakterystyczne jest tutaj również wystąpienie trwałego skurczu tylko w lewej anodowej połowie przez cały czas przepływu prądu. Tymczasem według B i e d e r m a n n a, E n g e l m a n n a i innych trwały skurcz (*Dauerkontraktion*) ma występować wyłącznie pod działaniem katody. Jednak porównanie zapisów 7. i 8. wyraźnie wskazuje, że trwały skurcz jest o wiele silniejszy przy działaniu anody, pomimo, że prąd tutaj użyty był niezbyt silny.

Zapisy 9. uzyskałem przy natężeniu 0.3 ma w położeniu $-1 +4$; zapis 10. przy tym samym natężeniu w pozycji $+1 -4$. Przy tym natężeniu anoda działając na prawą połowę mięśnia stanowi już podniętą nadprogową przy zamknięciu prądu stałego, względnie przy prądach krótkotrwałych. Skurcze lewej połowy są tu znacznie wyższe niż przy natężeniu 0.1 ma. Uderza przy tym, że wysokość skurczów zamknięcia prądu

długotrwałego jest ściśle równa wysokości skurczów uzyskanych przy prądach krótkotrwałych. Pomimo, że skurcze zamknięcia są już prawie maksymalne, nie ma jeszcze ani śladu skurczów otwarcia. Te dwa fakty są całkowicie sprzeczne z twierdzeniem wielu autorów wspomnianym w części historycznej, że silne prądy krótkotrwałe drażnią przy anodzie tylko w chwili zanikania prądu, tj. mają dawać skurcze otwarcia. Przedstawione krzywe zdają się dowodzić z całą pewnością, że prądy krótkotrwałe zarówno przy katodzie, jak i przy anodzie drażnią wyłącznie w chwili zamykania, tj. powstawania prądu. Jest to zgodne ze znanym faktem, że dla wystąpienia skurczu otwarcia prąd musi przepływać przez mięsień przez dłuższy czas.

Zapisy 11. i 12. uzyskane przy natężeniu 0.4 ma niewiele różnią się od 9. względnie 10. Natomiast w zapisach 13. i 14., przy których natężenie wynosiło 0.5 ma, występują po raz pierwszy skurcze otwarcia, przy czym w obu zapisach wyłącznie pod działaniem katody!

Dotychczasowe zapisy były uzyskiwane w ten sposób, że prąd przepływał przez cały mięsień, a więc recepcja mogła zachodzić nie tylko w najbliższej okolicy biegunów, lecz również na odcinku pośrednim. W następnych zapisach od 15. do 24. przepuszczałem prąd tylko przy pomocy elektrod znajdujących się tuż przy przegrodach. Wskutek tego po obu stronach przegród działały tylko najbliższe okolice biegunów. Wobec tego, że kwas siarkowy działając w ciągu jednej godziny znosi nie tylko przewodnictwo, lecz i pobudliwość mięśnia, zaś grubość przegród wynosiła 2 mm, więc nieuszkodzone odcinki mięśnia, przez które przepływał w tych warunkach prąd wynosiły najwyżej po obu stronach po 2 mm, a wobec nieuniknionej dyfuzji kwasu w mięśniu prawdopodobnie jeszcze mniej. Tak więc można tu mówić rzeczywiście o powstawaniu podrażnień tylko w najbliższej okolicy biegunów, w pasie nieprzekraczającym przy każdym biegunie 2 mm.

Zapisy 15. i 16. uzyskałem przy natężeniu 0.2 ma, w położeniu $-2 +3$ i $+2 -3$. W obu przypadkach skurcze wystą-

piły tylko po tej stronie mięśnia, po której znajdowała się katoda. Potwierdza to raz jeszcze pogląd A e b y' e g o, że w okolicy katody przy zamykaniu prądu działa silniejsza podnieta niż w okolicy anody. Że jednak przy silniejszych prądach podrażnienie powstaje również w okolicy anody, dowodzą następujące zapisy, a mianowicie Nr 18 przy natężeniu 0.4 ma w pozycji $+2 -3$, Nr 19 i 20 przy natężeniu 0.6 ma zarówno w pozycji $-2 +3$ jak i $+2 -3$, dalej 21 i 22 przy natężeniu 0.8 ma również dla obu kierunków prądu i wreszcie 23. i 24. przy natężeniu 1.0 ma. Jednak z porównania naprzykład zapisów 12. i 24. widać, że w tych warunkach kiedy działa tylko najbliższa okolica biegunów — przewaga katody nad anodą przy zamykaniu jest większa, niż wówczas, gdy prąd przepływa przez cały mięsień.

Zapisy 25. i 26. odpowiadają całkowicie 1. i 2. tj. natężenie wynosiło 1.0 ma, zaś położenie biegunów było w zapisie 25. $-1 +2$ i $+1 -2$, a w zapisie 26. $-3 +4$ i $+3 -4$. Dowodzą one, że przewodnictwo do końca doświadczenia było w środku mięśnia zniesione.

Z doświadczeń tego typu zdaje się wynikać, że jeżeli prąd jest dostatecznie silny, to miejscem recepcji prądów długotrwałych jest zarówno okolica katody jak i anody. Przy bardzo słabych prądach recepcja zamknięcia zachodzi rzeczywiście tylko w okolicy katody, jednak różnica progów pobudliwości dla obu biegunów jest niewielka. W chwili otwarcia prądu stałego podrażnienie występuje zarówno w okolicy katody jak i anody, przy czym w wielu przypadkach, jak np. w doświadczeniu przedstawionym na rys. 2 łatwiej w okolicy katody. W innych doświadczeniach anoda działała niekiedy silniej przy otwarciu niż katoda, ale tak wyraźnej przewagi jak katody nad anodą przy zamykaniu nie mogłem stwierdzić.

Można tu zarzucić, podobnie jak H e r i n g w stosunku do doświadczeń A e b y' e g o, że w miejscu uciśnięcia mięśnia przez przegrodę powstaje katoda H e r i n g a jeszcze po stronie anodowej mięśnia, i że podrażnienie powstaje w y ł ą c z n i e na tej katodzie. Gdyby tak było, to nasuwa się pytanie, dlaczego taka katoda H e r i n g a nie powstawała w nerwach w doświadczeniach H a r l e s s a i B i e d e r m a n n a, któ-

rzy przecież niekiedy znosili przewodnictwo właśnie przez uciśnięcie nerwu. Brak objawów występowania katody H e r i n g a w nerwach nasuwa raczej przypuszczenie, że i w mięśniach takie katody albo wcale nie powstają, albo jeżeli nawet powstają, to nie odgrywają wielkiej roli. Dlatego wydaje mi się, że uzyskane przeze mnie wyniki w opisanych powyżej doświadczeniach można interpretować w taki sposób, jak to przedstawiłem. Gdyby zaś ktoś mimo wszystko upierał się, że wyniki te pochodzą stąd, że podrażnienie po stronie katodowej przy zamykaniu powstaje w y ł ą c z n i e na katodzie Heringa, to musiałby tego dowieść dopiero, gdyż o ile wiem dotychczas niema nawet dowodu, że w miejscu u c i ś n i ę c i a rzeczywiście powstają bieguny H e r i n g a, a tym bardziej, że podrażnienie w tym przypadku powstaje w y ł ą c z n i e na tych biegunach. Jest bowiem rzeczą zupełnie możliwą, że bieguny H e r i n g a rzeczywiście powstają w miejscu uciśnięcia, ale podrażnienie może mimo to powstawać zarówno na tych biegunach, jak i w innych miejscach. W każdym razie jako niewątpliwy wynik tych doświadczeń należy uznać fakt, że analogia pomiędzy nerwami i mięśniami nie sięga tak daleko, jak to jest ogólnie przyjęte, wobec czego słuszność PBD dowiedziona przez doświadczenia P f l ü g e r a, H a r l e s s a i B i e d e r m a n n a w stosunku do nerwów nie stanowi dowodu słuszności tego prawa w stosunku do mięśni prądkowanych.

2. Powtórzenie doświadczeń Biedermanna i Engelmana ze znoszeniem pobudliwości na jednym końcu mięśnia przy użyciu prądów o dokładnie znanym natężeniu.

Jak wspomniałem na wstępie, B i e d e r m a n n i E n g e l m a n n opisali doświadczenia, w których różnymi czynnikami znosili pobudliwość na jednym końcu mięśnia, po czym przepuszczali prąd przez cały mięsień w ten sposób, że na końcu uszkodzonym znajdowała się raz katoda, a drugi raz anoda. Wobec tego, że autorzy ci otrzymali różne wyniki, a mianowicie E n g e l m a n n twierdził, że przy wszelkich prądach skurcz powstaje przy zamknięciu tylko wówczas, gdy katoda znajduje się na części nieuszkodzonej, podczas gdy

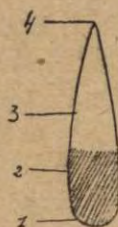
Biedermański taki wynik otrzymywał tylko przy słabych prądach, natomiast przy silniejszych otrzymywał również skurcze zamknięcia wówczas, gdy katoda była na części uszkodzonej, ale znacznie słabsze, postanowiłem powtórzyć te doświadczenia, stosując dokładnie zmierzone prądy o różnych natężeniach.

Pobudliwość na jednym końcu mięśnia znosiłem zanurzając ten koniec do 0.1 n H_2SO_4 . Po godzinie mięsień wyjmowałem z kwasu, i po przemyciu roztworem Ringera zawieszałem w zwykłym myografie izotonicznym w komorze wilgotnej. Prąd doprowadzałem przy pomocy 4 elektrod srebrnych, z których dwie znajdowały się na uszkodzonej części, a dwie na nieuszkodzonej.



Rys. 4

Drażnienie mięśnia (*M. sartorius*) o zniesionej na jednym końcu pobudliwości, naprzemian prądem krótkotrwałym oraz prądem stałym. Rozmieszczenie elektrod na rys. 5. Objaśnienie znaków przy rys. 2. Połączenia biegunów z elektrodami w poszczególnych zapisach: Nr 1: $-1 + 2$. Nr 2: $+1 - 2$, 1.0 ma. Nr 3: $-1 + 4$. Nr 4: $+1 - 4$. Nr 5: $-1 + 4$. Nr 6: $+1 - 4$, 0.1 ma. Nr 7: $-1 + 4$. Nr 8: $+1 - 4$. Nr 9: $-1 + 4$, 0.5 ma. Nr 10: $-1 + 3$. Nr 11: $+1 - 3$, 1.0 ma. Nr 12: $-1 + 2$. Nr 13: $+1 - 2$, 1.0 ma.



Rys. 5

Rozmieszczenie elektrod w doświadczeniu przedstawionym na rys. 4. Część zakreślona mięśnia oznacza miejsce o zniesionej pobudliwości

Przykład takiego doświadczenia przedstawia rys. 4. Na rys. 5 podałem rozmieszczenie elektrod. Część zakreskowana odpowiada uszkodzonej przez kwas. Zapisy 1 i 2 odpowiadają drażnieniu prądem krótko- i długotrwałym o natężeniu 1 ma w pozycjach $-1 +2$ i $+1 -2$. Brak skurczów dowodzi, że pobudliwość części uszkodzonej została zniesiona. Próg dla prądów krótkotrwałych i dla zamykania prądu stałego wynosił w pozycji $-1 +4$ 0,05 ma, przy czym dla obu rodzajów prądu był jednakowy, pomimo, że na części nieuszkodzonej leżała tylko anoda, zaś dla otwierania prąd był jeszcze podprogowy. Dowodzi to, że prądy krótkotrwałe przy anodzie drażnią nie w chwili otwierania, lecz zamykania. W pozycji $+1 -4$ próg wynosił dla obu rodzajów prądu 0,015 ma, a więc podobnie jak w poprzednim doświadczeniu próg przy anodzie był około 3 razy większy, niż przy katodzie. Po oznaczeniu progów pobudliwości drażniłem mięsień prądem o natężeniu 0,1 ma, przy zapisie 3 prądem krótkotrwałym w położeniu $-1 +4$, a przy zapisie 4 w położeniu $+1 -4$, a potem prądem długotrwałym przy zapisie 5. w położeniu $-1 +4$ i przy 6 w pozycji $+1 -4$. Jak widać z tych zapisów nawet przy stosunkowo niezbyt silnym prądzie skurcz powstaje zarówno przy przepuszczaniu prądu krótkotrwałego, jak i przy zamykaniu prądu stałego zarówno wówczas gdy działa tylko katoda, jak i wówczas, gdy po stronie zdrowej jest tylko anoda fizyczna. Ponadto i tutaj widać, że skurcz trwały jest większy wówczas gdy działała anoda, niż wówczas gdy działa katoda. Zapisy 7 i 8 uzyskałem przy prądzie silnym, o natężeniu 0,5 ma. Zapis 7 odpowiada pozycji $-1 +4$ dla obu rodzajów prądu. Widzimy tutaj wyraźny skurcz otwarcia, jest on jednak bez porównania mniejszy niż skurcz przy prądzie krótkotrwałym. Nie da się to pogodzić z przypuszczeniem, że silne prądy krótkotrwałe drażnią w okolicy anody tylko w chwili zanikania, tj. przy otwarciu prądu.

Zapis 8 odpowiada położeniu biegunów $+1 -4$, a więc katoda leżała na końcu nieuszkodzonym. Mimo to uzyskałem znacznie niższe skurcze przy krótkotrwałych prądach i przy

zamknięciu prądu stałego niż w zapisie 7, natomiast skurcz otwarcia, który według hipotezy v. Bezolda wogóle nie powinien w tym przypadku wystąpić, jest co najmniej równie wielki jak przy działaniu anody.

Jak wspomniałem, mięsień krawiecki użyty w tym doświadczeniu męczy się o wiele prędzej, niż półbłoniasty, wobec tego przypuszczałem, że niskie skurcze zapisu 8 są spowodowane zmęczeniem mięśnia. W celu sprawdzenia tego przypuszczenia przy zapisie 9 powtórzyłem jeszcze raz drażnienie w pozycji $-1+4$ przy tym samym natężeniu, co poprzednio. Uzyskane skurcze są rzeczywiście znacznie mniejsze, niż w zapisie 7, ale mimo to wyraźnie wyższe niż w zapisie 8. Tak więc w tym doświadczeniu nawet przewaga działania katody przy zamknięciu wyraziła się tylko w różnicy progów, ale nie w wielkości skurczów przy silnych prądach. Ażeby określić udział najbliższej okolicy biegunów w recepcji podniet, drażniłem jeszcze przy zapisie 10 w pozycji $-1+3$. Wobec tego, że mięsień był już bardzo zmęczony, musiałem użyć prądu o natężeniu 1.0 ma. Mimo to skurcz zamknięcia był już bardzo mały, mniej więcej taki, jak skurcz otwarcia. Zapis 11 przedstawia skurcze uzyskane przy tym samym natężeniu, ale w pozycji $+1-3$, a więc pod działaniem wyłącznie najbliższej okolicy katody. W tym przypadku przewaga katody jest wyraźna przy zamykaniu, natomiast przewaga anody przy otwieraniu. Taki stan występował stale w moich doświadczeniach wówczas, gdy mięśnie były bardzo zmęczone lub uszkodzone. Wyjaśnia to wyniki otrzymane przeze mnie w pracowni Scheminzk'y'ego (1938 a, b), o których wspominałem we wstępie. Uzyskane tam potwierdzenie prawa biegunowego drażnienia dla mięśni prądkowanych wynikło stąd, że używałem do doświadczeń mięśni bardzo zmęczonych i częściowo zatrutych mrówczanem allilu. Natomiast świeże, niezatrute mięśnie stale dawały taki wynik, jak wyżej opisany, to jest wyłączone drażnienie przez katodę otrzymywałem tylko przy prądach słabych, natomiast przy prądach silniejszych występowała tylko przewaga katody przy zamykaniu i przewaga anody przy otwieraniu.

Należy zaznaczyć, że Thö r n e r twierdzi, iż właśnie w mięśniach zmęczonych lub uszkodzonych silniejsze podraż-

nienie przy zamykaniu powstaje przy anodzie. Skąd pochodzi rozbieżność naszych wyników nie umiem objaśnić.

Zapisy 12 i 13 wykonałem w celu sprawdzenia, czy mięsień nie odzyskał pobudliwości w części zatrutej, drażniąc w pozycjach $-1+2$ i $+1-2$ przy natężeniu 1.0 ma. Jak należało oczekiwać, pobudliwość w części uszkodzonej nie powróciła.

Jak widać z powyższego, wyniki moje pokrywają się z uzyskanymi przez B i e d e r m a n n a, są zaś sprzeczne z wynikami E n g e l m a n n a. Natomiast wnioski, jakie z nich wyciągam, są odmienne, niż wnioski B i e d e r m a n n a. Ten ostatni twierdził wbrew oczywistości własnych krzywych, że podrażnienie w chwili otwierania nie powstaje, jeżeli na części nieuszkodzonej znajduje się tylko anoda. Ja natomiast twierdę, że podrażnienie powstaje również i w tych warunkach, ale niekiedy jest ono słabsze, niż wówczas, gdy na stronie nieuszkodzonej znajduje się tylko katoda.

Uzyskane przeze mnie wyniki może każdy z łatwością sprawdzić, to też wydaje mi się dziwnym, że S t a r l i n g w swym znakomitym podręczniku przytaczając doświadczenie z częściowo uszkodzonym mięśniem twierdzi, że uzyskuje się wówczas przy zamykaniu skurcze tylko w takim przypadku, gdy katoda znajduje się na części nieuszkodzonej. Widocznie opierał się on tylko na danych E n g e l m a n n a, albo też stosował tylko bardzo słabe — progowe lub nieznacznie nadprogowe — prądy. Gdyby bowiem użył prądów nieco silniejszych, przekonałby się z łatwością, że skurcz zamknięcia powstaje również wówczas, gdy tylko anoda jest po stronie nieuszkodzonej, zaś skurcz otwarcia również wówczas, gdy katoda leży na tej części.

Tak więc najpoważniejszy, cytowany przez podręczniki dowód słuszności prawa biegunowego drażnienia dla mięśni prądkowanych opiera się na niedostatecznie ściśle przeprowadzonych doświadczeniach, a mianowicie daje się potwierdzić tylko dla pewnego niewielkiego zakresu siły prądu. Tymczasem w doświadczeniach stosuje się przeważnie prądy silne, często maksymalne lub nawet nadmaksymalne. Otóż nie ulega wątpliwości, że dla takich prądów doświadczenia z uszkodzeniem częściowym mięśnia dają wyniki sprzeczne z prawem biegunowego drażnienia.

Hering i jego zwolennicy twierdzą, że skurcze powstające w opisanych doświadczeniach wówczas, gdy katoda znajduje się na miejscu uszkodzonym, pochodzą stąd, że na granicy części uszkodzonej i nieuszkodzonej powstaje tzw. „fizjologiczna katoda“. Pomijam już to, że niema żadnego dowodu powstawania takiej fizjologicznej katody na granicy części nieuszkodzonej i uszkodzonej, jeżeli mięsień nie jest w tym miejscu uciśnięty. Najważniejszą natomiast dla mnie rzeczą jest to, że doświadczenia tego typu nie potwierdzają prawa biegunowego drażnienia dla mięśni prądkowanych.

Wobec tego, że wyniki dotychczas przedstawionych doświadczeń można tłumaczyć występowaniem biegunów Heringa, wykonałem nowe doświadczenia, w których niema żadnych podstaw do przypuszczenia, że wyniki ich są spowodowane wystąpieniem biegunów Heringa.

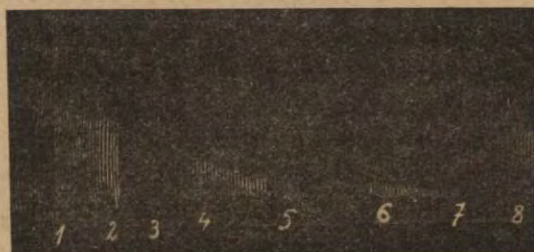
3. Efekt przesunięcia biegunów.

Jeżeli przez długotrwałe drażnienie prądem jednokierunkowym wywołamy w mięśniu stan względnej niepobudliwości w stosunku do danego kierunku prądu i następnie odwrócimy kierunek prądu, to uzyskamy ponownie silne skurcze, czyli tzw. efekt odwrócenia. To, że po odwróceniu prądu mięsień daje nadal skurcze pierwotnej wielkości, dowodzi, że nie jest on uszkodzony. Brak skurczów przy pierwotnym kierunku prądu dowodzi tylko, że pobudliwość mięśnia w tych miejscach, gdzie leżały anoda i katoda, jest dla działania tych biegunów zmniejszona. Przy efekcie odwrócenia zmieniamy zarówno położenie anody, jak i katody, wobec czego nie możemy rozstrzygnąć, w okolicy którego biegun zachodzi recepcja prądu, ani też w którym miejscu wystąpiła względna niepobudliwość. Jeżeli jednak pozostawimy jeden biegun w pozycji niezmienionej, a przesuniemy drugi biegun na odcinek sąsiedni, to zwiększenie skurczów może nastąpić tylko wówczas, jeżeli recepcja podniety i względna niepobudliwość zachodzą w okolicy przesuniętego biegunu. A więc zgodnie z założeniami Schlemm i z Kysel'ego zwiększenie skurczów powinno nastąpić tylko po przesunięciu katody, gdyż wówczas bie-

gun drażniący, który znajdował się w miejscu o zmniejszonej w stosunku do tegoż bieguna pobudliwości znacznie działać na miejsce świeże, w którym nie wystąpiła względna niepobudliwość w stosunku do katody. Natomiast przesunięcie anody nie powinno dać zmiany wielkości skurczów, gdyż biegun drażniący, tj. katoda, w dalszym ciągu działa w miejscu o pobudliwości obniżonej w stosunku do niej.

W dalszym ciągu dla krótkości zmiany, wywołane przesunięciem biegunów, będę nazywał przez analogię do efektu odwrócenia — efektem przesunięcia i oznaczał efekt przesunięcia katody symbolem EP—, efekt przesunięcia anody symbolem EP+, zaś efekt odwrócenia — literami EO.

Rys. 6 przedstawia przykład takiego doświadczenia wykonanego na mięśniu krawieckim, zaś rys. 7 rozmieszczenie



Rys. 6

Efekt przesunięcia biegunów. (*M. sartorius*). Rozmieszczenie elektrod na rys. 7. Drażnienie tylko prądem krótkotrwałym. Natężenie prądu przez cały czas 2 ma. Znaczenie symboli jak w rys. 2. Nr 1: —1 +3. Nr 2: zatrzymano walec na 2 minuty, nie przerywając drażnienia. Nr 3: względna niepobudliwość. Nr 4: —1 +2. Nr 5: —1 +3. Nr 6: —2 +3. Nr 7: —1 +3, Nr 8: +1 —3



Rys. 7

Rozmieszczenie elektrod w doświadczeniu przedstawionym na rys. 6

elektrod. Mięsień był umieszczony w myografie izotonicznym w komorze wilgotnej. Natężenie prądu w tym doświadczeniu było bardzo duże, wynosiło 2.0 ma. W innych doświadczeniach uzyskiwałem podobne wyniki również przy znacznie mniejszych natężeniach. Zapis 1 przedstawia cały szereg skurczów uzyskanych przy drażnieniu prądem nasycenia włączanym przez metronom w odstępach jednosekundowych. Widać stopniowe zmniejszanie się wysokości skurczów. Bieguny znajdowały się w położeniu $-1+3$. Po uzyskaniu kilkudziesięciu skurczów zatrzymałem walec nie przerywając drażnienia. Po 2 minutach walec ponownie puściłem w ruch, uzyskując przy zapisie 3 dalsze skurcze przy niezmienionym natężeniu i kierunku prądu. Skurcze zmniejszyły się bardzo znacznie, co jest wyrazem wystąpienia względnej niepobudliwości. W punkcie 4 przesunąłem anodę od elektrody 3. do 2. nie zmieniając położenia katody. Natychmiast występuje zwiększenie skurczów. Po powrocie do pozycji $-1+3$ uzyskałem w punkcie 5. ponownie skurcze podobne jak w zapisie 3. W punkcie 6. drażniłem w położeniu $-2+3$, tj. przesunąłem tylko katodę. Również i tutaj występuje wyraźne zwiększenie wysokości skurczów. W tym doświadczeniu $EP-$ jest słabszy, niż $EP+$. Nie należy jednak zapominać, że był to mięsień krawiecki, który się bardzo szybko męczy. Tak więc $EP-$, jako uzyskany później, musiał tu wypaść nieco gorzej. Na ogół $EP-$ jest w i ę k s z y, niż $EP+$, natomiast obydwa EP są mniejsze, niż EO , jak to widać np. z zapisu 8. na rys. 6, który uzyskałem w pozycji $+1-3$ (zapis 7. odpowiada położeniu $-1+3$).

Na rys. 6. przedstawione są jedynie wyniki drażnienia prądem krótkotrwałym, jednak również i zamknięcie prądu długotrwałego daje przy przesunięciu anody taki sam skurcz, jak i przepuszczenie prądu krótkotrwałego. Można to stwierdzić np. porównując z jednej strony zapisy 3. i 4., a z drugiej 6. i 7. na rys. 10.

Chcąc wytłumaczyć $EP+$ należy wziąć pod uwagę, że przy przesunięciu anody zmienia się nie tylko jej położenie w stosunku do mięśnia, lecz również odległość anody od katody. Jak już wspominałem we wstępie, anoda działa restytuująco na pobudliwość okolicy katody prądu drażniącego, jeżeli w niej nastąpiła względna niepobudliwość. Można by więc przypuścić,

że wskutek zbliżenia anody do katody następuje właśnie taka restytucja pobudliwości w okolicy katody, i że dzięki temu mogą w niej zachodzić na nowo recepcje prądu. Gdyby to przypuszczenie było słuszne, wówczas znaczniejsze przysunięcie anody do katody powinno dać lepszy EP+, niż nieznaczne przysunięcie. Tymczasem w większości przypadków większe przysunięcie anody dawało mn'ejczy EP+, niż mniejsze przysunięcie. Wobec tego jednak, że wynik ten nie był stale jednakowy, wykonałem doświadczenia, które mogły sprawdzić to przypuszczenie.

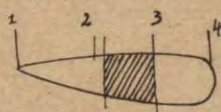
Ażeby zbadać czy recepcja w przypadku przysunięcia anody do katody zachodzi w okolicy starej katody wskutek restytucji pobudliwości tej ostatniej, oddzieliłem miejsce starej katody od miejsca nowej anody odcinkiem o zniesionym przewodnictwie fizjologicznym i zastosowałem podwójną myografię. Rys. 8 przedstawia przykład wyników takiego doświadczenia wykonanego na mięśniu półbłoniastym. Mięsień osadziłem w komorze potrójnej w sposób opisany przy 1. grupie doświadczeń. Rozmieszczenie elektrod przedstawia rys. 9. Zapisy 1. i 2. uzyskałem na mięśniu świeżym przed zadziałaniem kwasu, a mianowicie zapis 1. w położeniu $-3+4$ i $+3-4$, a zapis 2. w pozycji $-1+2$ i $+1-2$. Natężenie prądu wynosiło w obu zapisach 0.5 ma. Jak widać na obydwu zapisach, w nor-



Rys. 8

Efekt przesunięcia biegunów w mięśniu o zniesionym w środku przewodnictwie. *M. semimembranosus*. Drażnienie tylko prądem krótkotrwałym. Rozmieszczenie elektrod na rys. 9. Znaczenie symbolów, jak na rys. 2. Nr 1 i 2 przed zniesieniem przewodnictwa w środku mięśnia. Nr 1: $-3+4$ i $+3-4$. Nr 2: $-1+2$ i $+1-2$, 0.5 ma. Nr 3: $-1+2$ i $+1-2$. Nr 4: $+1-2$ i $-1+2$, 1.0 ma. Nr 5: $-1+4$. Nr 6: zatrzymano walec na 4 minuty. Nr 7: względna niepobudliwość. Nr 8: $-1+3$. Nr 9: $-1+4$. Nr 10: $-2+4$. Nr 11: $-1+4$. Nr 12: $+1-4$, 1 ma

malnym mięśniu drażnienie tylko jednej połówki powoduje skurcze obydwu połówek niezależnie od kierunku prądu. Po zapisaniu skurczów normalnych do środkowej komory wprowadziłem 0.1 n H_2SO_4 i po godzinie uzyskałem zapisy: 3. w położeniu $-1+2$ i $+1-2$, oraz 4. w pozycji $+3-4$ i $-3+4$. Przy tych zapisach drażniłem prądem o natężeniu 1.0 ma. Pomimo zwiększenia natężenia prądu, skurcze występowały tylko w tej połowce, przez którą przepływał prąd, tzn., że podrażnienie nie mogło przenieść się na drugą stronę na skutek znie-



Rys. 9

Rozmieszczenie elektrod w doświadczeniu przedstawionym na rys. 8. Część zakreślona mięśnia oznacza miejsce o zmniejszonym przewodnictwie

sienia przewodnictwa przez kwas w środkowym odcinku. Po stwierdzeniu, że przewodnictwo zostało w środku mięśnia zniesione, zacząłem drażnić mięsień co jedną sekundę prądem krótkotrwałym o natężeniu 1.0 ma w pozycji $-1+4$. Po uzyskaniu zapisu 5. zatrzymałem walec w punkcie 6. na 4 minuty nie przerywając drażnienia, poczem ponownie uruchomiłem walec i uzyskałem zapis 7., który wskazuje na wystąpienie w mięśniu względnej niepobudliwości. Następnie przesunąłem anodę od elektrody 4. do 3., a więc jeszcze po tej samej stronie mięśnia w stosunku do miejsca o zmniejszonym przewodnictwie. Uzyskany przy tym zapis 8. dowodzi zupełnie niewątpliwie, że recepcja podniety po przesunięciu anody zachodziła tylko po stronie anodowej, natomiast nie widać ani śladu zwiększenia skurczów po stronie katodowej pomimo, że anoda była przysunięta do katody nie mniej, niż w wielu innych doświadczeniach z dodatnim EP+. Dowodzi to, że EP+ nie jest wywołany przez restytucję pobudliwości w okolicy katody.

Wzmoczone skurcze po stronie anodowej mogą pochodzić albo wskutek recepcji podniety w okolicy nowej anody, albo wskutek restytucji pobudliwości w miejscu katody Herringa, która jakoby ma powstawać w miejscu uciśnięcia mię-

śnia. Wobec tego jednak, że niema restytucji pobudliwości w okolicy rzeczywistej i niewątpliwej katody, niema powodu przypuszczać, że taka restytucja zachodzi na hipotetycznej katodzie H e r i n g a. Tak więc to doświadczenie wydaje się stanowić niewątpliwy dowód, że EP+ nie jest spowodowany przez restytucję pobudliwości w okolicy katody.

Zapis 9. uzyskałem ponownie w położeniu $-1+4$, zaś zapis 10. w pozycji $-2+4$, a więc po przesunięciu katody. W tym przypadku EP— występuje tylko po stronie katodowej; co dowodzi, że po przesunięciu katody recepcja zachodzi wyłącznie w okolicy katody, a więc że w okolicy katody występuje względna niepobudliwość.

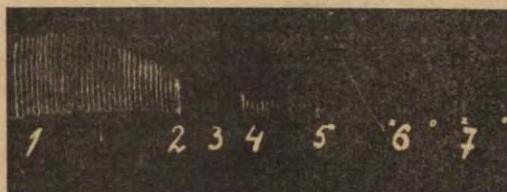
Zapis 11. odpowiada ponownie pozycji $-1+4$, zaś 12. przedstawia efekt odwrócenia, tj. położenie biegunów było tu $+1-4$. W tym przypadku zwiększenie skurczów wystąpiło w obu połówkach mięśnia i to znacznie większe, niż po przesunięciu biegunów.

Można jeszcze w inny sposób wykazać, że EP+ nie jest związany ze zbliżeniem anody do katody. Mianowicie można uzyskać EP+, jeżeli w położeniu elektrod przedstawionym na rys. 7 wywołać względną niepobudliwość, drażniąc w pozycji $-1+2$, a następnie drażnić w pozycji $-1+3$. W tym przypadku anoda została odsunięta od katody, a więc nie może przywrócić pobudliwości w okolicy katody.

Przykład takiego doświadczenia przedstawia rys. 10. Doświadczenie było wykonane na mięśniu półbłoniastym. Rozmieszczenie elektrod było takie same jak na rys. 7. Zapis 1 przedstawia wynik drażnienia w położeniu biegunów $-1+2$ przy natężeniu 0,5 ma. W punkcie 2 zatrzymałem walec na jedną minutę. Zapis 3 dowodzi, że po tym czasie wystąpiła w mięśniu względna niepobudliwość. Zapis 4 uzyskałem w położeniu $-1+3$, a więc po odsunięciu anody od katody. Mimo, że anoda została odsunięta, a więc nie mogła wpłynąć silniej na okolicę katody, wystąpił wyraźny EP+. Przy zapisie 5 powróciłem do położenia $-1+2$.

Zapis 4 przedstawia EP+ dla prądów krótkotrwałych. Ażeby wykazać, że EP+ występuje po przesunięciu anody nie

przy otwarciu prądu krótkotrwałego, lecz przy zamknięciu, wykonałem EP+ dla prądu długotrwałego. Zapis 6 przedstawia wynik drażnienia prądem stałym o natężeniu 0.5 ma w położeniu $-1 +2$. Czas przepływu prądu wynosił 10 sekund.



Rys. 10

Efekt odsunięcia anody od katody. Rozmieszczenie elektrod jak na rys. 7. *M semimembranosus*. Znaczenie symbolów jak na rys. 2. Nr 1: $-1 +2$. Nr 2: zatrzymano walec na 1 minutę. Nr 3: względna nie pobudliwość. Nr 4: $-1 +3$. Nr 5: $-1 +2$. Nr 6: $-1 +2$. Nr 7: $-1 +3$. Nr 6 i 7 prąd stały po 10 sek. Natężenie przez cały czas 0.5 ma

W punkcie 7 drażniłem takim samym prądem długotrwałym, ale w położeniu $-1 +3$. W obu przypadkach skurcz występował tylko przy zamknięciu prądu, przy czym w położeniu $-1 +3$ był znacznie większy, niż w położeniu $-1 +2$. Ponadto w zapisie 7 występuje wyraźny skurcz trwały. Dowodzi to, że w okolicy anody zachodzi recepcja prądu przy zamykaniu i podczas przepływu, gdyż okolica katody była w dalszym ciągu względnie nie pobudliwa zarówno w stosunku do zamykania, jak i przepływu prądu. Zarazem dowodzi to, że względna nie pobudliwość występuje nie tylko w okolicy katody, lecz również w okolicy anody. Poza tym widzimy tu jeszcze raz, że przy prądzie krótkotrwałym podrażnienie w okolicy anody powstaje nie w chwili otwierania, lecz w chwili zamykania prądu, gdyż przy otwarciu prądu stałego w ogóle skurczu nie było, zaś prąd krótkotrwały dał skurcze tej wielkości, co zamknięcie prądu stałego, pomimo, że w okolicy katody podrażnienie z pewnością nie mogło powstać.

Widzimy więc, że przybliżenie anody do katody nie jest czynnikiem niezbędnym do wystąpienia EP+. To stwierdzenie było głównym celem powyższych doświadczeń.

W przypadku przesunięcia anody niema ani uciśnięcia, ani żadnego uszkodzenia mięśnia, wobec czego niema powodu do przypuszczenia, że powstają tu katody Heringa, tj. takie katody, których niema przy przepływie prądu przez świeży, normalny mięsień. Wobec tego, jako jedyne wyjaśnienie EP+, pozostaje przypuszczenie, że recepcja prądu dostatecznie silnego zarówno przy prądach krótkotrwałych, jak i przy zamykaniu długotrwałych, zachodzi zarówno w okolicy anody, jak i w okolicy katody, a zarazem, że względna niepobudliwość również występuje w okolicy obydwu biegunów.

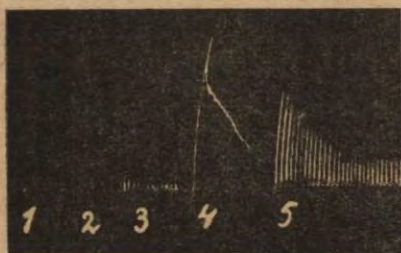
Jednakże wiara w słuszność PBD w stosunku do mięśni w ujęciu klasycznym jest tak silna, że uważałem za stosowne nie poprzestać na tym dowodzie, lecz przeprowadzić jeszcze jedną serię doświadczeń, opartych na efekcie lokalnej restytucji pobudliwości przez prąd stały.

4. Efekt lokalnej restytucji pobudliwości przez prąd stały.

Scheminzy i jego współpracownicy stwierdzili, że jeżeli przez względnie niepobudliwy mięsień przepuścić prąd stały o kierunku przeciwnym do kierunku prądu drażniącego, to uzyskuje się wzmoczenie skurczów przy drażnieniu prądem pierwotnym bez odwrócenia jego kierunku. To wzmoczenie skurczów jest znacznie większe, aniżeli występujące po równie długiej przerwie w drażnieniu. Zgodnie ze swoimi zasadniczymi założeniami Scheminzy tłumaczy to zjawisko przywrócenia, czyli restytucji skurczów, wzmoczeniem pobudliwości oczywiście tylko w okolicy katody, i tylko pod wpływem anody prądu stałego, która przypada na to samo miejsce mięśnia, na którym poprzednio znajdowała się katoda prądu drażniącego. Uważa on bowiem, że skoro obniżenie pobudliwości nastąpiło w okolicy katody wskutek zwiększenia przepuszczalności błon dla jonów, to przywrócenie pobudliwości powstaje również tylko przy katodzie wskutek tego, że anoda prądu stałego powoduje zagęszczenie błon i zmniejszenie ich przepuszczalności.

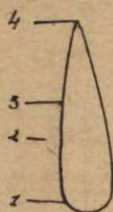
Jeżeli to przypuszczenie było słuszne, to wzmoczenie skurczów powinno wystąpić tylko wówczas, jeżeli anoda prądu stałego przypada na okolicę katody prądu drażniącego, zaś położenie katody prądu stałego powinno być obojętne. Jeżeli natomiast jest słuszne moje twierdzenie, że zarówno podrażnienie, jak i względna niepobudliwość powstają w okolicy obydwu biegunów, to częściowe wzmoczenie skurczów powinno powstać również wówczas, gdy katoda prądu stałego będzie przypadać na okolicę anody prądu drażniącego, natomiast anoda prądu stałego nie będzie działać na okolicę katody prądu drażniącego, tj. na to miejsce mięśnia, na którym przy drażnieniu znajdowała się katoda.

Ażeby się przekonać, które przypuszczenie jest słuszne, wykonałem odpowiednie doświadczenia, przy czym najpierw upewniłem się, czy działanie samej tylko anody na okolicę katody wystarcza do wzmocnienia skurczów.



Rys. 11

Efekt lokalnej restytucji katody. *M. semimembranosus*. Rozmieszczenie elektrod podaje rys. 12. Znaczenie symbolów jak na rys. 2. Nr 1: $-1 + 4$, względna niepobudliwość. Nr 2: pauza 1 minuta. Nr 3: $-1 + 4$. Nr 4: prąd stały $0.5\text{ ma} + 1 - 2$ przez 1 min. Nr 5: $-1 + 4$, 0.5 ma .



Rys. 12

Rozmieszczenie elektrod w doświadczeniu przedstawionym na rys. 11

Przykład doświadczeń tego typu przedstawia rys. 11. Doświadczenie to było wykonane na mięśniu półbłoniastym. Mięsień był zawieszony w myografie izotonicznym w komorze wilgotnej. Położenie elektrod przedstawia rys. 12. Natężenie prądu drażniącego wynosiło przez cały czas 0.5 ma, zaś położenie biegunów przez cały czas drażnienia odpowiadało pozycji $-1 +4$. Dla oszczędności miejsca nie podaję skurczów mięśnia świeżego, a tylko odrazu w punkcie 1 zapis mięśnia względnie niepobudliwego. Punkt 2 odpowiada pauzie trwającej jedną minutę, w ciągu której w okolicach obu biegunów mogła powrócić częściowo pobudliwość. Efekt tej pauzy przedstawia zapis 3. Można na nim stwierdzić nieznaczne zwiększenie pobudliwości, wyrażającej się niewielkim wzrostem skurczów. Następnie w punkcie 4 przepuszczałem przez mięsień w ciągu jednej minuty prąd stały o natężeniu 0.5 ma w położeniu $+1 -2$. Tak więc okolica anody (elektrody 4) mogła tylko „odpocząć“, zaś restytucja pobudliwości wywołana przez prąd stały ograniczyła się do okolicy katody prądu drażniącego (elektrody 1.). Po przerwaniu prądu stałego ponownie drażniłem prądem o natężeniu 0.5 ma w położeniu $-1 +4$. Jak widać z zapisu 5 nastąpiła wyraźna restytucja pobudliwości w okolicy katody prądu drażniącego, co wyraziło się w znakomitym zwiększeniu skurczów. Dowodzi to, że względna pobudliwość zachodzi niewątpliwie w okolicy katody, jak również że w tej okolicy zachodzi recepcja prądu.

Analogiczne doświadczenie wykonałem również, w stosunku do anody. Rys. 13 przedstawia przykład doświadczenia, w którym wywołałem restytucję pobudliwości wyłącznie w okolicy anody. Doświadczenie to było wykonane na mięśniu krwiewickim. Rozmieszczenie elektrod przedstawia rys. 12. Zapis 1 przedstawia skurcze mięśnia świeżego, drażnionego prądem krótkotrwałym o natężeniu 0.5 ma w odstępach jednosekundowych w położeniu biegunów $-1 +4$. W punkcie 2 zatrzymałem walec na 2.5 min. i puściłem go ponownie po wystąpieniu względnej niepobudliwości, której dowodzi zapis 3. Zapis 4 przedstawia EP+, mianowicie został on uzyskany w pozycji $-1 +3$. Zapis 5 odpowiada ponownie położeniu $-1 +4$. W punkcie 6 przerwałem drażnienie na dwie minuty. Zapis 7 wskazuje, że ta pauza dała tylko bardzo nieznaczne zwiększenie

szenie pobudliwości. Następnie w punkcie 8 przestałem drażnić i przepuszczałem w ciągu jednej minuty prąd stały o natężeniu 0.5 ma w pozycji +3 —4. Tak więc prąd stały działał tylko na okolicę anody prądu drażniącego (elektrody 4), natomiast na okolicę katody prądu drażniącego nie działał. Mimo to, jak widać z zapisu 9, przy drażnieniu ponownie w położeniu —1 +4 uzyskałem bez porównania większe skurcze, niż



Rys. 13

Efekt przesunięcia anody i efekt lokalnej restytucji anody. *M. sartorius*. Rozmieszczenie elektrod jak na rys. 12. Znaczenie symbolów jak na rys. 2. Nr 1: —1 +4. Nr 2: zatrzymano walec na 2.5 min. Nr 3: względna niepobudliwość. Nr 4: —1 +3. Nr 5: —1 +4. Nr 6: pauza 2 min. Nr 7: —1 +4 Nr 8: prąd stały 0.5 ma +3 —4 przez 1 min. Nr 9: —1 +4, 0.5 ma

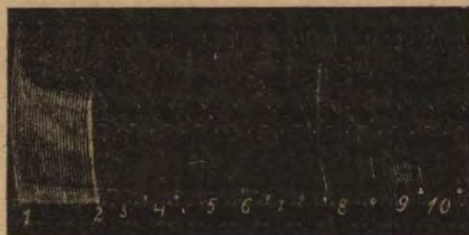
w zapisie 7 po dwukrotnie dłuższej pauzie. Dowodzi to, że restytucja pobudliwości przez prąd stały zachodzi również w okolicy anody prądu drażniącego, a tym samym, że względna niepobudliwość i recepcja prądu krótkotrwałego zachodzi w okolicy anody, jeżeli prąd jest dostatecznie silny.

Można by tu zarzucić, że anoda prądu stałego powodowała restytucję pobudliwości w okolicy katody prądu drażniącego pomimo, że znajdowała się od niej w dość znacznej odległości. Przeciwno temu przemawia uzyskanie lokalnej restytucji pobudliwości w okolicy anody prądu drażniącego również w mięśniach o zniesionym w środku przewodnictwie lub o zniesionej pobudliwości jednego końca. W doświadczeniach tych, których nie będę już tu przedstawiał, restytucja pobudliwości w okolicy anody prądu drażniącego również dawała zwiększenie skurczów i to tylko po stronie anodowej, pomimo, że po-

drażnienia w okolicy katody albo wogóle nie mogły powstać, albo nie mogły przenieść się na stronę anodową.

Jeszcze lepszy dowód na to, że zwiększenie skurczów po przepuszczeniu prądu stałego może nastąpić po restytucji pobudliwości wyłącznie w okolicy anody, stanowią doświadczenia następujące. Względnie niepobudliwość wywołałem przepuszczając prąd drażniący nie przez cały mięsień, lecz tylko przez jego część w ten sposób, że katoda prądu drażniącego znajdowała się na jednym końcu mięśnia, zaś anoda w środku. Prąd stały przepuszczałem w ten sposób, że jego anoda znajdowała się na drugim końcu mięśnia, przez który poprzednio prąd drażniący wogóle nie przepływał, natomiast katodę prądu stałego umieszczałem na miejscu anody prądu drażniącego. W ten sposób anoda prądu stałego była oddzielona od okolicy katody prądu drażniącego przez katodę prądu stałego, wobec czego w żaden sposób nie mogła wywierać działania restytuującego na pobudliwość w okolicy katody prądu drażniącego.

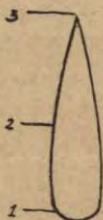
Przykład takiego doświadczenia przedstawia rys. 14. Rozmieszczenie elektrod podaje rys 15. Doświadczenie było wykonane na mięśniu krawieckim. Natężenie prądu wynosiło przez cały czas drażnienia 0.5 ma. Zapis 1. przedstawia krzywe skur-



Rys. 14

Efekt lokalnej restytucji anody. *M. sartorius*. Rozmieszczenie elektrod podaje rys. 15. Znaczenie symbolów jak na rys. 2. Nr 1: $-1 + 2$. Nr 2: zatrzymano walec na 2.5 minuty. Nr 3: $-1 + 2$, względna niepobudliwość. Nr 4: $-1 + 2$, prąd stały 10 sek. Nr 5: pauza 2 min. Nr 6: $-1 + 2$. Nr 7: $-1 + 2$, prąd stały, 10 sek. Nr 8: prąd stały 1 min. $-2 + 3$, 0.5 ma Nr 9: $-1 + 2$. Nr 10: $-1 + 2$, prąd stały 10 sek. 0.5 ma z — zamknięcie, o — otwarcie prądu stałego

czów uzyskane przy położeniu biegunów — 1 + 2. W punkcie 2. zatrzymałem walec na 2.5 minuty, poczem ponownie uruchomiłem go i uzyskałem zapis 3. Widać ogromne zmniejszenie wysokości skurczów, co dowodzi wystąpienia względnej niebudliwości. Zapis 4. przedstawia wynik drażnienia prądem stałym również o natężeniu 0.5 ma w ciągu 10 sek., przy czym litera „z“ oznacza moment zamknięcia, zaś „o“ otwarcia prądu. Wysokość skurczów zamknięcia i otwarcia jest prawie jednakowa. W punkcie 5. przerwałem drażnienie na dwie minuty, poczem ponownie drażniłem prądem o tym samym kierunku i natężeniu, uzyskując zapis 6. dla prądów krótkotrwa-



Rys. 15

Rozmieszczenie elektrod w doświadczeniu przedstawionym na rys. 14

łych oraz 7. dla prądu stałego. Jak widać z tych zapisów, efekt paazy jest bardzo niewielki. W punkcie 8. przepuszczałem przez mięsień w ciągu jednej minuty prąd stały o natężeniu 0.5 ma przy położeniu biegunów — 2 + 3. Dzięki takiemu ułożeniu biegunów tylko najbliższa okolica anody prądu drażniącego była pod działaniem katody prądu stałego, natomiast nie zmieniałem nic ani w pobudliwości okolicy katody prądu drażniącego, ani na odcinku pośrednim.

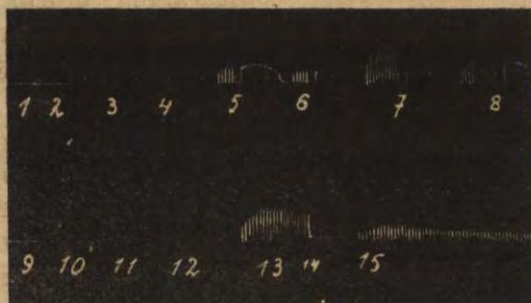
Następnie powróciłem do położenia biegunów — 1 + 2 i uzyskałem zapis 9. drażniąc prądami krótkotrwałymi o natężeniu 0.5 ma, a następnie zapis 10. drażniąc takim samym prądem, ale przepuszczanym w ciągu 10 sekund. Porównanie zapisów 9 i 10 z 6 i 7 oraz 3 i 4 wskazuje wyraźnie, że działanie katody prądu stałego na okolicę anody prądu drażniącego daje bez porównania lepsze wzmożenie skurczów niż dwukrotnie dłuższa przerwa. Wobec tego, że ani okolica katody prądu drażniącego, ani odcinek

pośredni nie były pod działaniem żadnych czynników z wyjątkiem jednominutowej pauzy, zwiększenie skurczów może tu być wywołane moim zdaniem jedynie przez przywrócenie pobudliwości w okolicy anody prądu drażniącego działaniem katody prądu stałego. Stanowi to, jak sądzę, niewątpliwy i jednoznaczny dowód, że recepcja prądu krótkotrwałego, jak również zamknięcia i przepływu prądu stałego może zachodzić w okolicy anody, a zarazem, że względna niepobudliwość powstaje również w okolicy anody. W doświadczeniach tych nie ma żadnego powodu do wystąpienia jakiejś katody fizjologicznej, która by poprzednio nie istniała, ani możliwości restytucji pobudliwości na katodzie anatomicznej. Nie ma tu również zmiany położenia czy odległości biegunów, ani zmiany przebiegu linii sił prądu elektrycznego. Wydaje mi się więc, że jedynym możliwym wyjaśnieniem tych doświadczeń jest wyrażone już poprzednio przypuszczenie, że zarówno recepcja zamknięcia prądu, jak i względna niepobudliwość, występują nie tylko w okolicy katody, lecz również w okolicy anody.

5. Doświadczenia ze znoszeniem pobudliwości na obu końcach mięśnia

Wszystkie opisane dotychczas rodzaje doświadczeń dowodzą zgodnie, że recepcja prądu krótkotrwałego oraz zamykania, otwierania i przepływu prądu stałego może zachodzić zarówno w okolicy katody, jak i anody, jeśli tylko prąd drażniący jest dostatecznie silny. Pozostaje jeszcze do zbadania, czy i na odcinku pośrednim może zachodzić recepcja tych podnieć, oraz czy i na tym odcinku występuje względna niepobudliwość. W celu zbadania tego zagadnienia wykonałem następujące doświadczenia. Mięsień zawieszałem w środku na cienkiej rurce szklanej, poczem oba końce zanurzałem na jedną godzinę do roztworu 0.1 n H_2SO_4 . Po upływie tego czasu mięsień starannie przemywałem roztworem Ringera, poczem umieszczałem w myografie izotonicznym w komorze wilgotnej. Wynik ta-

kiego doświadczenia wykonanego na mięśniu krawieckim przedstawia rys. 16., zaś rozmieszczenie elektrod rys. 17. Zakreskowane części mięśnia na tym ostatnim rysunku odpowiadają odcinkom uszkodzonym przez kwas.



Rys. 16

Wyniki drażnienia mięśnia o zniesionej na obu końcach pobudliwości. *M. sartorius*. Rozmieszczenie elektrod podaje rys. 17. Znaczenie symbolów jak na rys. 2. Nr 1: $-1 +2$. Nr 2: $+1 -2$. Nr 3: $-3 +4$. Nr 4: $+3 -4$. 1.0 ma Nr 5: $-1 +4$. Nr 6: $+1 -4$, 0.4 ma. Nr 7: $-1 +4$. Nr 8: $+1 -4$, 1.0 ma. Nr 9: $-1 +2$. Nr 10: $+1 -2$. Nr 11: $-3 +4$. Nr 12: $+3 -4$, 1.0 ma. Nr 13: $-1 +4$. Nr 14: zatrzymano walec na 1.5 min. Nr 15: $+1 -4$, 1.0 ma



Rys. 17

Rozmieszczenie elektrod w doświadczeniu przedstawionym na rys. 16. Części zakreskowane mięśnia oznaczają miejsca o zniesionej pobudliwości.

Zapisy 1 i 2 uzyskałem drażniąc mięsień prądem o natężeniu 1.0 ma w położeniach $-1 +2$ i $+1 -2$, zaś zapisy 3 i 4 w położeniach $-3 +4$ i $+3 -4$, stosując prąd zarówno krótko- jak i długotrwały. Brak skurczów dowodzi, że pobudliwość na obu końcach mięśnia została zniesiona, gdyż prąd w tych zapisach przepływał tylko przez odcinki poddane działaniu kwasu. Następnie przepuściłem prąd przez cały mięsień

najpierw w położeniu $-1 + 4$, a potem w pozycji $+1 - 4$. Dla obu tych kierunków prądu oznaczyłem próg pobudliwości. Dla kierunku $-1 + 4$ próg wyniósł 0.2 ma, dla $+1 - 4$ wynosił 0.33 ma. Dla obu kierunków próg był znacznie wyższy niż wówczas, gdy na odcinku nieuszkodzonym znajdował się chociaż jeden biegun. Zapis 5 odpowiada drażnieniu prądem o natężeniu 0.4 ma w położeniu $-1 + 4$, zaś zapis 6 w położeniu $+1 - 4$. Zapisy 7 i 8 odpowiadają zapisom 5 i 6 z tą różnicą, że zostały uzyskane przy natężeniu 1.0 ma. Pomimo, że tylko niewielka część mięśnia mogła się kurczyć, skurcze są dość wysokie. Dowodzi to, że recepcja prądu krótkotrwałego oraz zamykania i przepływu prądu stałego może zachodzić również na odcinku pośrednim, gdyż zarówno okolica katody jak i okolica anody przypadają na odcinki o zniesionej pobudliwości. Jednak możnaby i tutaj zarzucić, że recepcja zachodzi na katodzie H e r i n g a, która wytwarzała by się na granicy części uszkodzonej i nieuszkodzonej. Przeciwno temu przypuszczeniu przemawia fakt, że próg pobudliwości jest wielokrotnie wyższy wówczas, gdy oba bieguny znajdują się na miejscach uszkodzonych, aniżeli wówczas, gdy tylko katoda leży na odcinku uszkodzonym, zaś anoda na nieuszkodzonym. Jak podałem na str. 100 w tym ostatnim przypadku próg wynosił około 0.05 ma, zaś wówczas, gdy oba bieguny leżały na odcinkach niepobudliwych 0.2 do 0.3 ma. Tymczasem jeśli recepcja w obu przypadkach zachodziła tylko na katodzie H e r i n g a, to próg powinien być jeżeli nie jednakowy, to przynajmniej tego samego rzędu wielkości. Nie wyklucza to wprawdzie możliwości, że wówczas gdy żaden z biegunów nie leży na odcinku pobudliwym recepcja zachodzi na katodzie H e r i n g a, natomiast wówczas, gdy anoda leży na odcinku pobudliwym recepcja zachodzi przede wszystkim w okolicy anody. I w tym przypadku należałoby oczekiwać różnicy progów pobudliwości. W każdym jednak razie wynika stąd, że przynajmniej w tym drugim przypadku recepcja zachodzi rzeczywiście w okolicy anody, a nie na katodzie H e r i n g a. Tak więc jeżeli doświadczenia tego typu nie stanowią nawet zupełnie pewnego dowodu, że recepcja może zachodzić również i na odcinku pośrednim, to przynajmniej stanowią jeszcze jedno potwierdzenie przypuszczenia, że recepcja zamknięcia prądu

może zachodzić w okolicy anody, jeżeli tylko prąd jest dostatecznie silny.

Żeby upewnić się, że pobudliwość na końcowych odcinkach nie powróciła, drażniłem ponownie przy natężeniu 1.0 ma w położeniach: $-1 +2$, $+1 -2$, $-3 +4$ i $+3 -4$. Jak widać w punktach 9, 10, 11 i 12 drażnienie to nie dało żadnego efektu.

Postanowiłem również zbadać, czy na odcinku pośrednim występuje także względna niepobudliwość. W tym celu w punkcie 13 zacząłem drażnić mięsień prądem o natężeniu 1.0 ma w położeniu $-1 +4$. W punkcie 14 zatrzymałem walec na 1.5 minuty nie przerywając drażnienia, po czym ponownie puściłem walec. Uzyskałem przy tym skurcze bardzo znacznie zmniejszone w stosunku do początkowych. W punkcie 15 odwróciłem kierunek prądu na $+1 -4$ i otrzymałem wyraźne zwiększenie skurczów. Można więc przypuszczać, że i na odcinku pośrednim występuje względna niepobudliwość mięśnia.

Oczywiście można by zarzucić, że i w tym przypadku odgrywała rolę jedynie katoda H e r i n g a, i że to ona uległa względnej niepobudliwości, a po odwróceniu prądu katoda H e r i n g a znalazła się w innym miejscu i to spowodowało zwiększenie skurczów; przypuszczenie to wymagało by jednak dowodu, że rzeczywiście recepcja w tych doświadczeniach zachodziła wyłącznie na katodzie H e r i n g a, zaś o ile mi wiadomo, takiego dowodu nie ma. W świetle zaś poprzednich doświadczeń i rozważań wydaje mi się powyższe przypuszczenie mało prawdopodobnym.

6. Efekt uciśnięcia mięśnia

Na zakończenie przedstawię jeszcze pewne doświadczenia, które dowodzą, że uciśnięcie mięśnia może spowodować wzmożoną recepcję prądu, który poprzednio w tym samym miejscu nie wywoływał podrażnienia, albo wywoływał podrażnienie o wiele słabsze. Doświadczenia te wykonywałem w ten sposób, że mięsień, który wskutek powstania w nim względnej niepobudliwości dawał tylko bardzo małe skurcze, przewiązywałem pomiędzy elektrodami suchą, grubą, miękką nicią bawełnianą.

W chwili zaciśnięcia przewiązki występowały natychmiast silne skurcze pomimo, że ani kierunek ani natężenie prądu nie uległy zmianie. Przykład takiego doświadczenia przedstawia rys. 18. Mięsień półbłoniasty osadziłem w myografie izotonicz-



Rys. 18

Efekt uciśnięcia mięśnia. *M. semimembranosus*. Nr 1: drażnienie mięśnia prądem o nat. 0.5 ma. Nr 2: zatrzymano walec na 5 min. Nr 3: względna niepobudliwość. Nr 4: przewiązano mięsień pomiędzy elektrodami. Nr 5: dalsze drażnienie przy nie zmienionym natężeniu i kierunku prądu.

nym w powietrzu. Drażniłem prądem o natężeniu 0.5 ma, doprowadzając prąd przez elektrody umieszczone na końcach mięśnia. Zapis 1 przedstawia początkowe skurcze. W punkcie 2 zatrzymałem walec na 5 minut. Po upływie tego czasu uzyskałem zapis 3, w którym skurcze znikły prawie zupełnie. W punkcie 4 zaciśnąłem w środku mięśnia pętlę bawełnianą, co spowodowało natychmiastowe wystąpienie silnych skurczów w zapisie 5. Po zdjęciu przewiązki skurcze znikły natychmiast prawie zupełnie. Dowodzi to, że rzeczywiście uciśnięcie mięśnia stwarza warunki do recepcji prądu w miejscu, w którym ta recepcja poprzednio nie zachodziła.

Jak wspominałem we wstępie, H e r i n g, krytykując prace A e b y ' e g o twierdził, że w miejscu uciśnięcia mięśnia zachodzi recepcja prądu na skutek wytworzenia się tam tzw. przez niego katody fizjologicznej. Nie dał jednak żadnego eksperymentalnego dowodu słuszności tego twierdzenia. Powyższe doświadczenie dowodzi, że uciśnięcie mięśnia rzeczywiście powoduje recepcję prądu, nie stanowi to jednak dowo-

du, że ta recepcja zachodzi na wytworzonych przez ucisk katodach Heringa. Bowiem oprócz zakrzywienia włókien mięśnia uciśnięcie powoduje jeszcze zmniejszenie przekroju przepływu prądu, a więc zwiększenie jego gęstości. Być może więc, że recepcja wskutek uciśnięcia jest spowodowana nie powstaniem katod Heringa, lecz właśnie zwiększeniem gęstości prądu. Tak więc zagadnienie, czy po pierwsze w miejscu uciśnięcia mięśnia powstaje katoda Heringa, i po drugie, czy na tej katodzie zachodzi recepcja prądu, musi być nadal uważane za nierozstrzygnięte. Toteż wydaje mi się, że twierdzenie, iż w doświadczeniach ze znoszeniem przewodnictwa w środku, lub pobudliwości na końcu mięśnia, podrażnienie po stronie anodowej przy zamykaniu prądu powstaje w y ł a c z n i e na katodach H e r i n g a, jest twierdzeniem gołosłownym, zaś w przypadku prądów silnych niewątpliwie niesłusznym, jak wynika z doświadczeń z EP + i z efektem lokalnej restytucji. Co najwyżej można by powiedzieć, że w tych pierwszych doświadczeniach o b o k podrażnienia w okolicy anody, powstaje również podrażnienie i na katodach H e r i n g a. Ale nawet i tak ujęte twierdzenie musiało by być dopiero udowodnione.

Omówienie wyników

Uzyskane wyniki można ująć w następujące punkty:

1. W stosunku do prawa biegunowego drażnienia, mięśnie prądkowane żaby zachowują się odmiennie niż nerwy.
2. Prawo biegunowego drażnienia dla mięśni prądkowanych w klasycznym ujęciu jest słuszne tylko w bardzo wąskim zakresie, a mianowicie dla prądów słabych, tj. progowych i nieznacznie — do trzykrotnej wartości prądu progowego — nadprogowych.
3. Dla prądów silniejszych od tej wartości prawo biegunowego drażnienia dla mięśni prądkowanych nie jest słuszne, ani w ujęciu klasycznym, ani w ujęciu H e r i n g a. (Przypominam oba ujęcia: 1. ujęcie klasyczne — przy zamykaniu prądu stałego i przy przepuszczaniu prądu krótkotrwałego mię-

się jest drażniony tylko w okolicy katody, zaś przy otwieraniu prądu stałego tylko w okolicy anody; 2. ujęcie Heringa — przy zamykaniu prądu stałego podrażnienie w mięśniu powstaje wyłącznie na katodzie anatomicznej, albo na katodach Heringa, zaś przy otwieraniu tylko na anodzie anatomicznej, albo na anodach Heringa. Prąd krótkotrwały drażni w okolicy anody tylko w chwili otwierania).

4. Przy zamykaniu dostatecznie silnego prądu stałego podrażnienie pierwotne powstaje w mięśniu prążkowym na całej drodze przepływu prądu, nawet wówczas, gdy nie jest on nigdzie uciśnięty ani uszkodzony, tj., gdy nie występują na nim katody Heringa. W okolicy katody prąd drażni najsilniej, zaś na odcinku pośrednim najslabiej.

5. Przy otwieraniu silnego prądu stałego podrażnienie pierwotne powstaje w mięśniach prążkowanych zarówno w okolicy anody, jak i katody, nawet wówczas, gdy nie ma warunków do powstania anod Heringa. W okolicy anody prąd drażni przeważnie silniej, niż w okolicy katody. Na odcinku pośrednim, przy stosowanych przeze mnie natężeniach prądu, podrażnienia przy otwarciu nie uzyskałem.

6. Przy przepuszczaniu silnego prądu stałego skurcze trwały powstaje zarówno w okolicy katody, jak i w okolicy anody, przy czym w okolicy anody często jest silniejszy.

7. Silne prądy krótkotrwałe drażnią na całej długości przepływu prądu, przy czym w okolicy katody najsilniej, zaś na odcinku pośrednim najslabiej.

8. Podrażnienie, które powstaje w okolicy anody przy przepuszczaniu przez mięsień silnych prądów krótkotrwałych, nie jest wywołane otwarciem prądu, lecz zamknięciem, gdyż skurcze otwarcia są ceteris paribus wielokrotnie mniejsze, niż skurcze występujące przy prądach krótkotrwałych.

9. Względna niepobudliwość, wywołana długotrwałym drażnieniem prądem jednokierunkowym, powstaje zarówno w okolicy katody jak i w okolicy anody, a także i na odcinku pośrednim.

10. Uciśnięcie mięśnia powoduje recepcję prądu w miejscu, w którym ona poprzednio nie zachodziła.

11. W mięśniach zmęczonych przewaga drażnienia w okolicy katody w stosunku do okolicy anody przy zamykaniu prądu stałego i przy prądach krótkotrwałych jest znacznie większa, niż w mięśniach świeżych.

Na pierwszy rzut oka wszystkie moje wyniki są sprzeczne z teoriami drażnienia prądem elektrycznym. Jest to jednak tylko sprzeczność pozorna. Przez cały czas bowiem twierdziłem tylko, że podrażnienie przy zamykaniu powstaje nie tylko przy katodzie, lecz również w okolicy anody i na odcinku pośrednim, natomiast nigdzie nie twierdziłem, że podrażnienie przy zamykaniu powstaje na anodzie. Rozróżnienie to jest bardzo ważne, bowiem twierdzenie, że podrażnienie następuje w okolicy anody nie wyłącza możliwości, że zachodzi ono na jakichś katodach w sensie Heringa, tj. w miejscach wyjścia prądu z pobudliwych części mięśnia. Jedynie w przeciwieństwie do Heringa twierdzę, że te katody są rzeczywiście fizjologiczne, to znaczy, że nie powstają one na skutek uciśnięcia lub uszkodzenia mięśnia, lecz że występują już w zupełnie świeżych i nienaruszonych mięśniach. Podczas, gdy więc wg Heringa z powstawaniem podrażnień w okolicy anody przy zamykaniu prądu należało się liczyć tylko wówczas, gdy mięsień był uciśnięty lub uszkodzony, to wg mnie należy się z tym liczyć już w zupełnie świeżych i normalnych mięśniach.

Gdzie i w jaki sposób mogą powstawać te prawdziwe fizjologiczne katody? Nasuwają się tu co najmniej dwie możliwości. Po pierwsze można przyjąć, tak jak w stosunku do drażnienia niewyosobnionych nerwów, że prąd już w okolicy anody wychodzi z części włókien leżących bardziej powierzchownie, i następnie wchodzi do głębiej położonych, jak to ilustruje rys. 19. Przy prądach wywołujących maksymalne skurcze, jest to niewątpliwie słuszne, gdyż wówczas wszystkie włókna się kurczą, a więc wszystkie są podrażnione. Wobec tego zaś, że prąd żeby dostać się do głębiej położonych włókien musi przechodzić przez włókna bardziej powierzchowne, więc musi

z tych ostatnich wyjść, i to już w najbliższej okolicy anody. Takie przypuszczenie tłumaczyłoby również, dlaczego przy działaniu tylko anody mamy naogół słabsze skurcze, niż przy samej katodzie. Pochodziłoby to stąd, że w okolicy anody prąd wychodzi tylko z części włókien, natomiast w okolicy katody prąd opuszcza wszystkie włókna i wobec tego wszystkie je drażni. Przy bardzo słabych prądach rozgałęzienia prądu idące włąb mięśnia są za słabe do wywołania podrażnienia, wobec czego w okolicy anody podrażnienie przy zamknięciu wogóle nie powstaje.



Rys. 19

Schematyczny obraz przepływu prądu przez mięsień. Prąd przechodzi przez zewnętrzne włókna, ażeby dostać się do głębiej położonych. — katody fizjologiczne, + anody fizjologiczne

Jak widzimy przypuszczenie powyższe tłumaczy dobrze niektóre fakty, jednak nie wszystkie. Po pierwsze takie same zjawiska powinny by występować i w pniu nerwowym, złożonym z wielkiej liczby włókien. Tymczasem spotykamy je tylko w nerwach in situ, a więc oddzielonych od właściwej elektrody grubą warstwą izolujących tkanek, a zwłaszcza skóry. To zjawisko można by wytłumaczyć w ten sposób, że w nerwie wyosobnionym w okolicy anody przy silnym prądzie występuje tak silne działanie anelektrotoniczne prądu, obniżające pobudliwość, że podrażnienie na katodach fizjologicznych w okolicy anody nie może powstać. Natomiast w nerwach in situ anoda jest na tyle odsunięta od nerwu, że anelektrotonus nie wystarcza do zniesienia pobudliwości dla katod fizjologicznych. W mięśniach anoda nie zdaje się znosić ani pobudliwości, ani przewodnictwa, jak tego dowodzi I grupa moich doświadczeń, w których podrażnienie przenosiło się poprzez okolicę anody do części mięśnia nie będącej pod prądem. Być może, że ta różnica pochodzi stąd, że włókna mięśniowe są znacznie grubsze od nerwowych, wobec czego głębiej położone włókna mięśniowe są mniej narażone na działanie anody, podobnie jak włókna nerwowe in situ, i że tylko te głębiej poło-

zone włókna biorą udział w powstawaniu i przerodzeniu podrażnień w mięśniu.

Natomiast trudniej jest wytłumaczyć powstanie podrażnień na odcinku pośrednim na dość znacznej odległości od obu biegunów. Prąd na tym odcinku powinien już przebiegać po liniach równoległych, a więc niema powodu do przypuszczenia, że wychodzi on z włókien.

Istnieją poza tym pewne dane, które pozwalają wątpić, czy podrażnienie we włóknach mięśniowych wogóle powstaje w miejscach wyjścia prądu z włókien, tj. w błonie komórkowej. Gdyby bowiem tak było, to te czynniki, które działając na powierzchnię włókna nerwowego wywołują podrażnienie, powinnyby je również wywoływać, działając na każdą część powierzchni włókna mięśniowego. Tym czasem wg *B u c h t h a l a i L i n d h a r d a* (1939) KCl, które jak wiadomo wywołuje normalne podrażnienie nerwu działając na jego powierzchnię, przy działaniu na izolowane włókno mięśniowe drażni tylko wówczas, jeżeli podać roztwór KCl wprost na płytkę końcową, natomiast w innych częściach włókna mięśniowego podrażnienia nie wywołuje. Wobec tego, że KCl drażni nerw podobnie jak zamykanie prądu na katodzie, wywołując depolaryzację błony, można przypuszczać, że i we włóknach mięśniowych zamykanie prądu elektrycznego działa na katodzie jak podanie KCl. Jeżeli więc podanie KCl poza płytkę końcową nie wywołuje podrażnienia, to być może, że i zamykanie prądu nie drażni na katodach w rozumieniu *H e r i n g a*, jeżeli one nie leżą na płytce końcowej.

Powyższy wniosek nie jest zbyt pewny i należałoby przeprowadzić jeszcze szczegółowe i krytyczne badania drażnienia pojedynczych izolowanych włókien mięśniowych prądem elektrycznym. Jeżeli by się jednak rzeczywiście okazało, że podrażnienie we włóknach mięśniowych nie powstaje w błonie mięśnia w miejscu wyjścia prądu, to przemawiałoby to bardzo silnie za słusnością drugiego przypuszczenia, mogącego wyjaśnić moje wyniki.

To drugie przypuszczenie opiera się na hipotezie *B o e k e ' g o*, dotyczącej roli fizjologicznej wykrytej przez niego t.zw. sieci periterminalnej. *B o e k e* stwierdził, że w sarko-

plazmie odpowiednio utrwalonych i zabarwionych włókien mięśniowych występuje sieć złożona z cieniutkich włókienek. Punktem wyjścia tej sieci wydaje się być włókienkowa sieć zakończeń nerwowych. W okolicy tych ostatnich sieć periterminalna jest bardzo gęsta i dobrze widoczna. W miarę odsuwania się od miejsca wejścia nerwu sieć periterminalna staje się coraz rzadsza i linie jej są mniej widoczne, ale można ją prześledzić nawet między myofibrilami. Końcowe rozgałęzienia sieci periterminalnej ściśle przylegają do anizotropowej substancji myofibrili. Sieć periterminalna po przecięciu nerwów ulega degeneracji, ale nieco później niż aparat neurofibrilarny. Po regeneracji nerwów regeneruje również i sieć periterminalna. Te właściwości sieci skłoniły B o e k e'g o do wysunięcia przypuszczenia, że może ona grać rolę przy przewodzeniu podrażnień od zakończeń nerwowych do włókienek mięsnych, tj. do właściwej substancji kurczliwej.

Hipoteza B o e k e'g o może wyjaśnić cały szereg zjawisk, jak np. niezależność kurczliwości, pobudliwości i przewodnictwa w mięśniach, która jest tematem innej mojej pracy równocześnie ogłoszonej, dalej analogię w zachowaniu się nerwów i mięśni w stosunku do całego szeregu czynników itd. W tym miejscu ograniczę się do wyjaśnienia opisanych w tej pracy zjawisk.

Opierając się na hipotezie B o e k e'g o, możemy przyjąć, że podrażnienie przy zamykaniu prądu elektrycznego zachodzi nie na zewnętrznej powierzchni, tj. w błonie otaczającej włókno mięśniowe, lecz w błonach otaczających włókienka sieci periterminalnej. W tym celu należało by przypuścić, że sieć składa się z włókienek otoczonych podobnie jak włókna nerwowe błoną nieprzepuszczalną dla większości jonów, zaś przepuszczalną tylko dla jednego rodzaju jonów. Opierając się dalej na analogii pomiędzy włóknami nerwowymi i włóknami sieci periterminalnej, możnaby przyjąć, że skład jonowy wewnątrz włókienek sieci jest inny, niż otaczającej je sarkoplazmy. Jeżeli więc przyjmiemy, że tylko jeden rodzaj jonów, występujący we włóknkach w stężeniu innym niż w sarkoplazmie, może przechodzić przez błonę włókienka, podczas gdy inne jony przez tę błonę przechodzić nie mogą, to

błona będzie spolaryzowana. W tych warunkach prąd elektryczny, powodując depolaryzację włókienek sieci, mógłby wywołać podrażnienie tych włókienek w ten sam sposób, jak wywołuje podrażnienie nerwów. Tak więc zarówno katody, jak i anody fizjologiczne mogłyby powstawać na każdym włókienku sieci, a nie tylko na powierzchni włókien mięśniowych. Wobec tego zaś, że sieć periterminalna rozciąga się po całym włóknie mięśniowym, podrażnienie może powstawać na całej drodze przepływu prądu, a więc nie tylko w okolicy katody i anody, lecz także i na odcinku pośrednim. Widzimy więc, że drugie przypuszczenie wyjaśnia nie tylko te same zjawiska, co pierwsze, lecz nawet i takie, których pierwsze wyjaśnić nie mogło, tj. powstawanie podrażnień na odcinku pośrednim.

Miejsca wychodzenia prądu z włókienek sieci periterminalnej będą zgodnie z H e r i n g i e m nazywał również katodami, ale dla odróżnienia od innych k a t o d a m i w e w n ę t r z n y m i, zaś odpowiednio miejsca wejścia prądu do włókienek — anodami wewnętrznymi. Otóż żeby podrażnienie, powstające na biegunach wewnętrznych tylko na niektórych włóknach sieci, doprowadzało do skurczu całego włókna mięśniowego, wystarczy przyjąć, że przewodzenie podrażnień we włóknach sieci może się odbywać w obydwu kierunkach, oraz że istnieje ciągłość funkcjonalna wszystkich włókien sieci w obrębie włókna mięśniowego, tzn. możliwość przechodzenia podrażnień z jednych gałęzi na inne.

Różnica w zachowaniu się nerwów i mięśni pochodziłaby stąd, że w nerwie istnieje tylko błona zewnętrzna, wobec tego podrażnienie powstaje tylko na zewnętrznej powierzchni włókna. Tak więc katodowe działanie na błonę występuje tylko w miejscu wyjścia prądu z włókna nerwowego, tj. na katodzie anatomicznej. Natomiast w mięśniach podrażnienie powstaje niezależnie na wszystkich włóknach sieci periterminalnej, objętych przez prąd, gdyż katody wewnętrzne powstają we wszystkich punktach wyjścia prądu z włókien sieci. Wobec tego zaś, że te punkty znajdują się w całym włóknie takie katody wewnętrzne występują nawet w najbliższym sąsiedztwie anody fizycznej. Nic więc dziwnego, że w nerwach przy zamknięciu prądu podrażnienie powstaje tylko na katodach zewne-

trznym, zaś w mięśniach na całej drodze przepływu prądu, ale zawsze na katodach.

Oczywiście i względna niepobudliwość powstawałaby na wszystkich katodach wewnętrznych. Jeżeli więc przesuniemy anodę fizyczną, to zmieni się przebieg prądu wewnątrz włókien mięśniowych i katody wewnętrzne powstaną teraz na innych włóknach sieci per-terminalnej, nie objętych względną niepobudliwością i wystąpi EP+. Ażeby wyjaśnić efekt lokalnej restytucji wówczas, gdy prąd stały przepływa tylko przez odcinek nieobjęty poprzednio prądem drażniącym, należy uwzględnić to, że prąd w mięśniu nie biegnie po najkrótszej linii łączącej oba bieguny, lecz rozgałęzia się dość znacznie (rys. 20). Otóż jeśli na miejsce anody prądu drażniącego



Rys. 20

Schematyczny obraz przepływu prądu przez pojedyncze włókno mięśniowe. W miejscach, w których poprzednio występowały katody wewnętrzne na włóknach sieci perterminalnej, przy przepuszczaniu prądu stałego powstają anody wewnętrzne.

damy katodę prądu stałego, to rozgałęzienia prądu stałego w pewnej części włókienek sieci będą miały kierunek przeciwny, niż rozgałęzienia prądu drażniącego. Dzięki temu w tych włóknkach katody wewnętrzne prądu drażniącego zostaną poddane działaniu anod wewnętrznych prądu stałego. W ten sposób zachodzi restytucja pobudliwości na tych katodach wewnętrznych, znajdujących się w okolicy anody fizycznej, i przy ponownym drażnieniu pierwotnym prądem otrzymujemy zwiększenie skurczów.

Przewagę drażnienia w okolicy katody nad okolicą anody, a zwłaszcza nad odcinkiem pośrednim przy zamykaniu prądu można wyjaśnić tym, że gęstość prądu na katodach wewnętrznych jest największa w okolicy katody, a najmniejsza na odcinku pośrednim. Jak wiadomo bowiem miarodajna dla siły drażnienia jest gęstość prądu, a nie jego ogólne natę-

zenie. Otóż w okolicy katody mamy zbieganie się linii prądu, a więc jego zagęszczanie, zaś w okolicy anody rozchodzenie się, tj. zmniejszanie się gęstości prądu. Wreszcie na odcinku pośrednim gęstość prądu musi być najmniejsza. Stąd w okolicy katody działanie prądu winno być najsilniejsze, zaś na odcinku pośrednim najsłabsze.

Podobnie w przypadku uciśnięcia mięśnia ten sam prąd musi przechodzić przez mniejszy niż poprzednio przekrój, a więc gęstość jego wzrasta. Ten wzrost gęstości może wytłumaczyć zwiększenie skurczów w efekcie uciśnięcia bez uciekania się do przypuszczenia, że w miejscu uciśnięcia powstają katody H e r i n g a i że na tych właśnie katodach powstaje podrażnienie.

Jak widzimy, hipoteza B o e k e g o w mojej interpretacji pozwala wyjaśnić więcej zjawisk, niż przypuszczenie pierwsze, tj., że podrażnienie w okolicy anody powstaje przy zamykaniu w miejscach wyjścia prądu z powierzchniowych włókien. Przeciwno temu przypuszczeniu przemawia również do pewnego stopnia praca B u c h t h a l a i L i n d h a r d a, aczkolwiek pośrednio. Wobec tego jednak, że niema dotychczas wyraźnego dowodu na to, że podrażnienie nie może powstawać na zewnętrznych katodach włókien mięśniowych, możliwe jest również, że obie koncepcje są słuszne, t. zn. że podrażnienie powstaje zarówno na zewnętrznych, jak i na wewnętrznych katodach fizjologicznych. Rozstrzygnięcie tego, czy pierwsza koncepcja jest słuszna, czy druga, czy wreszcie obie równocześnie wymaga dalszych trudnych i skomplikowanych badań na izolowanych pojedynczych włóknach mięśniowych. Gdyby się bowiem okazało, że takie izolowane włókno podlega przy wszelkich prądach PBD w klasycznym ujęciu, to byłoby słuszne pierwsze wyjaśnienie odchyłeń od tego prawa. Gdyby natomiast i w tych warunkach okazało się, że PBD w klasycznym ujęciu jest niesłuszne, to pierwsze wyjaśnienie by odpadło, a tym samym wzrosło by prawdopodobieństwo słuszności wyjaśnienia opartego na hipotezie B o e k e g o. Niestety nie miałem do dyspozycji urządzeń niezbędnych do badania pojedynczych włókien mięśniowych, wobec czego nie mogłem przeprowadzić tego rodzaju badań.

Jeżeli chodzi o założenia S c h e m i n z k y' e g o, wysunięte w jego teorii względnej niepobudliwości, to należałoby je zmienić w ten sposób, że zwiększenie przepuszczalności błon powstaje na wszelkich katodach, na których powstaje podrażnienie, a więc nie tylko na katodzie anatomicznej, lecz również na wszelkich katodach fizjologicznych, czy to zewnętrznych, czy wewnętrznych. Tak więc zarówno podrażnienie, jak i względna niepobudliwość powstawałaby na wszystkich wymienionych katodach. Oczywiście powyższa poprawka nie znaczy, że zgadzam się z teorią S c h e m i n z k y' e g o jako taką, gdyż przeciwnie wysunąłem inną własną teorię tych zjawisk. Jednak przedstawienie mojej koncepcji muszę odłożyć do innej pracy, gdyż nie wiąże się ona bezpośrednio z niniejszym tematem.

Pozostaje jeszcze do wyjaśnienia wynik uzyskany w mojej pracy wykonanej w pracowni prof. S c h e m i n z k y' e g o (Z a w a d z k i 1938 a, b). Wspomniałem poprzednio, że mięśnie bardzo znużone w szerszym zakresie stosują się do PBD w ujęciu klasycznym, niż mięśnie świeże. Pochodzi to jak sądzę stąd, że w mięśniach bardzo znużonych próg pobudliwości jest o wiele wyższy, niż w świeżych. Wobec tego zaś, że jak stwierdziłem PBD jest słuszne dla prądów progowych oraz nadprogowych do trzykrotnej wartości prądu progowego, więc w miarę podnoszenia się progu PBD stosuje się do coraz silniejszych bezwzględnie prądów, a przy tym bezwzględna wartość zakresu stosowalności tego prawa również wzrasta. Jeżeli bowiem przy progu pobudliwości równym 0.01 ma PBD ma zastosowanie tylko do 0.03 ma, tj. do trzykrotnej wartości progu, to zakres stosowalności PBD wynosi zaledwie od 0.01 do 0.03, czyli 0.02 ma. Natomiast przy progu 0.2 ma zakres słuszności PBD powinien sięgać do 0.6 ma, czyli wynosić 0.4 ma, tj. 20 razy więcej, niż w pierwszym przypadku. Wprawdzie nie oznaczałem stosunku progów pobudliwości dla drażnienia w okolicy katody i anody w mięśniach bardzo zmęczonych, ale wydaje mi się, na podstawie przytoczonych spostrzeżeń, że powyższe wyjaśnienie jest słuszne.

Z powyższych rozważań wynika, że stoję w dalszym ciągu na gruncie słuszności tezy, że podrażnienie przy zamykaniu prądu powstaje tylko na katodzie, jednak wobec tego, że ka-

tody w mięśniach prązkowanych są rozproszone na całej drodze przepływu prądu już w zupełnie świeżych i normalnych mięśniach, PBD dla mięśni musi być inaczej sformułowane, niż to czyniły dotychczas podręczniki, a nawet niż to robił H e r i n g. Mianowicie możemy powiedzieć, że w mięśniach prązkowanych zamykanie prądu elektrycznego drażni na całej drodze przepływu prądu, ale prawdopodobnie dlatego, że już w zupełnie świeżych i normalnych mięśniach na całej drodze powstają katody fizjologiczne, czy to zewnętrzne, czy też wewnętrzne. Jakkolwiek więc z punktu widzenia teoretycznego praca moja nie wprowadza zmian do PBD, to jednak praktycznie ma ona duże znaczenie. O ile bowiem dotychczas eksperymentator przy drażnieniu elektrycznym liczył się tylko z drażnieniem w okolicy katody zarówno przy prądach długotrwałych przy zamykaniu, jak i przy prądach krótkotrwałych a conajwyżej znając zastrzeżenia H e r i n g a uwzględniał drażnienie przy zamykaniu w okolicy anody w przypadku uciśnięcia lub innego uszkodzenia mięśnia, o tyle obecnie musi się liczyć z tym, że nawet w zupełnie świeżych, nieuciśniętych i nie uszkodzonych mięśniach przy zamykaniu silnego prądu podrażnienie powstaje na całej drodze przepływu tego prądu. Jeżeli więc w mojej pracy występowałem niejednokrotnie przeciwko stanowisku H e r i n g a, być może ze zbyt silnym naciskiem, to czyniłem to dlatego, że w jego ujęciu drażnienie w innych miejscach niż przy katodzie jest czymś wyjątkowym i występującym tylko w wyjątkowych warunkach, wobec czego w praktyce przeważnie o jego zastrzeżeniach zapomniano. Jeżeli natomiast badacze będą wiedzieli, że takie drażnienie jest zjawiskiem stałym, występującym przy wszelkich nieco silniejszych drażnieniach, to nie będą popełniać błędów wynikających z przypuszczenia, że PBD jest słuszne dla mięśni w ujęciu klasycznym.

S t r e s z c z e n i e

Naskutek wątpliwości, jakie mi się nasunęły przy drażnieniu mięśni częściowo zatrutych, co do słuszności PBD (prawa biegunowego drażnienia) w przypadku mięśni prązkowanych,

przejrzałem starannie literaturę dotyczącą tego przedmiotu i doszedłem do wniosku, że niema dostatecznych dowodów słuszności tego prawa w stosunku do mięśni prądkowanych przy drażnieniu silnymi prądami. Mimo to jest ono ogólnie w podręcznikach podawane jako słuszne dla wszelkich prądów. *Herिंग*, chcąc pogodzić rozbieżne wyniki dawnych autorów, twierdził, że odchylenia od PBD były powodowane uciskaniem lub innym uszkodzeniem badanych mięśni. Ponieważ ogólne przekonanie co do słuszności PBD dla mięśni pochodzi wg mnie głównie stąd, że prawo to zostało zupełnie pewnie dowiedzione dla nerwów i przez analogię przeniesione na mięśnie, sprawdziłem przede wszystkim, czy doświadczenia, na których opiera się PBD dla nerwów, tj. doświadczenia *Pflügera* oraz *Harlessa* i *Biedermanna*, dadzą taki sam wynik na mięśniach. Okazało się, że obydwa rodzaje doświadczeń dały wyniki zupełnie odmienne na mięśniach, niż na nerwach. Mianowicie w doświadczeniach typu *Pflügera*, które wykonałem w ten sposób, że tylko jedna połowa mięśnia mogła się kurczyć, a tylko druga była drażniona, drażnienie nieruchomej połowy wywoływało skurcze wolniej bez względu na to, czy bliżej tej ostatniej była anoda, czy katoda, zarówno przy zamykaniu, jak i przy otwieraniu prądu, nawet przy prądach do 10 ma. W doświadczeniach typu *Harlessa* oraz *Biedermanna*, gdy znosiłem przewodnictwo fizjologiczne w środku mięśnia i drażniłem go tak, że po jednej stronie znajdowała się katoda, a po drugiej anoda, to wprawdzie przy zamykaniu bardzo słabych prądów kurczyła się tylko połowa połączona z katodą, ale już przy prądzie trzy razy silniejszym od progowego dla katody, występowały również skurcze po stronie anodowej. Przy jeszcze silniejszych prądach występowały również skurcze otwarcia, i to zarówno po stronie anodowej, jak i katodowej. Podczas przepływu prądu stałego skurcz trwały również występował po obu stronach. Wobec tego jednak, że mięsień był w środku zatruty i uciśnięty, mogło podrażnienie po stronie anodowej przy zamykaniu, a po stronie katodowej przy otwieraniu powstawać na biegunach *Herिंगa*. W każdym razie doświadczenia tego typu dały również odmienny wynik na

mięśniach, niż na nerwach, pomimo, że nerwy były przez wspomnianych autorów również uciskane lub zatrutowane pomiędzy biegunami. Z powyższych doświadczeń wyciągam wnioski, że mięśnie zachowują się w stosunku do PBD odmiennie niż nerwy, oraz że PBD dla mięśni prążkowanych w ujęciu podręcznikowym jest słuszne tylko w bardzo wąskim zakresie, a mianowicie dla prądów słabych.

Ażeby uniknąć zarzutu, że podrażnienie w okolicy anody przy zamykaniu prądu powstaje na katodach Heringa, tj. wskutek uciśnięcia lub uszkodzenia mięśnia, wykonałem dwie grupy doświadczeń, w których mięśnie nie były ani uciśnięte, ani zatrute, a tylko wywoływałem w nich względną niepobudliwość dla danego kierunku prądu. Mięśnie takie nie są uszkodzone, gdyż wystarczy odwrócić kierunek prądu, żeby ponownie uzyskać skurcz pierwotnej wielkości (efekt odwrócenia, „Wendungseffekt“ Schemin z Kye go). W pierwszej grupie doświadczeń zamiast odwracać kierunek prądu, przesuwałem bieguny, wychodząc z założenia, że gdyby podrażnienie przy zamykaniu powstawało tylko w okolicy katody, to przesunięcie anody nie powinno wpływać na wielkość skurczów. Okazało się, że zarówno przy przesuwaniu katody, jak i anody, otrzymywałem przy zamykaniu prądu znaczne wzmoczenie skurczów, jakkolwiek przy przesunięciu katody wzrost skurczów był większy. Wzrost skurczów przy przesuwaniu biegunów nazwałem przez analogię do efektu odwrócenia — efektem przesunięcia anody, względnie katody. Efekt przesunięcia anody występował zarówno wówczas, gdy anodę przybliżałem do katody, jak gdy ją oddalałem.

W drugiej grupie doświadczeń wywoływałem restytucję pobudliwości mięśnia względnie niepobudliwego, działając prądem stałym w ten sposób, że albo tylko katoda tego prądu przypadała na anodę drażniącego, albo tylko anoda stałego na katodę drażniącego. W obu przypadkach uzyskałem wzrost skurczów (efekt lokalnej restytucji). Na podstawie tych doświadczeń doszedłem do wniosku, że dla prądów silnych PBD nie jest słuszne dla mięśni prążkowanych, ani w ujęciu klasycznym, ani

w ujęciu Heringa, oraz że względna nie-pobudliwość wywołana długotrwałym drażnieniem prądem jednokierunkowym powstaje zarówno w okolicy katody, jak i anody.

Zatruwając jeden albo dwa końce mięśnia i umieszczając odpowiednio na nich bieguny, przekonałem się, że przy dostatecznie silnych prądach skurcze powstają przy zamykaniu zarówno wówczas, gdy na nieuszkodzonej części występuje tylko katoda, jak też wówczas, gdy tylko anoda, a nawet i wówczas, gdy żaden biegun nie znajdował się na części niezatrutej. Jednak próg pobudliwości w tym ostatnim przypadku był wielokrotnie wyższy, niż w poprzednich przypadkach, zaś najmniejszy był wówczas, gdy tylko katoda leżała na części niezatrutej. Wyciągnąłem stąd wniosek, że przy zamykaniu dostatecznie silnego prądu stałego podrażnienie pierwotne w mięśniu prądkowanym powstaje na całej drodze przepływu prądu, nawet wówczas, gdy nie jest on uciśnięty. Przy otwieraniu silnego prądu przekonałem się, że pierwotne podrażnienie powstaje zarówno w okolicy anody, jak i katody. Wreszcie okazało się, że przy przepuszczaniu silnego prądu stałego skurcz trwały powstaje zarówno w okolicy katody, jak i w okolicy anody.

Chcąc sprawdzić, czy rzeczywiście uciśnięcie mięśnia wywołuje recepcję prądu w miejscu, w którym poprzednio nie występowała, jak to przypuszczał bez dowodu Hering, przewiązywałem mięsień względnie niepobudliwy pomiędzy biegunami grubą nicią. Z chwilą zaciśnięcia nici skurcze mięśnia wzrosły. Dowodzi to, że uciśnięcie mięśnia powoduje recepcję prądu w miejscu, w którym ona poprzednio nie zachodziła.

Przekonałem się również, że przy przepuszczaniu silnych prądów krótkotrwałych podrażnienie powstaje na całej drodze przepływu prądu, przy czym w okolicy katody najsil-

niej, zaś na odcinku międzybiegunowym najslabiej. Porównując wielkości skurczów uzyskanych przy drażnieniu prądem krótkotrwałym w okolicy anody ze skurczami zamknięcia i otwarcia równie silnego prądu stałego, przekonałem się, że skurcz zamknięcia jest równie silny, jak skurcz przy prądzie krótkotrwałym, natomiast, skurcz otwarcia albo wcale nie występował, albo był o wiele słabszy. Wyciągnąłem stąd wniosek, że prąd krótkotrwały drażni w okolicy anody nie w chwili otwierania, lecz w chwili zamykania.

Wreszcie przekonałem się, że w mięśniach zmęczonych PBD jest słuszne dla silniejszych prądów i w większym zakresie, niż w mięśniach świeżych. Tłumaczę to podniesieniem progu pobudliwości wskutek zmęczenia mięśnia.

Ażeby wyjaśnić powyższe wyniki wysunąłem przypuszczenie, że w przeciwieństwie do ujęcia Heringa, już w zupełnie świeżych i nieuciśniętych mięśniach na całej drodze przepływu prądu, a więc nawet w najbliższej okolicy anody, powstają katody fizjologiczne. Co do miejsca występowania tych katod, wysunąłem dwa przypuszczenia: wg pierwszego katody powstają we włóknach mięśniowych bardziej powierzchniowych wówczas, gdy prąd przechodzi przez nie do głębiej położonych włókien. To przypuszczenie nie tłumaczy powstawania podrażnień na odcinku międzybiegunowym. Wg. drugiego przypuszczenia katody powstają na włóknach sieci periterminalnej B o e k e g o. To przypuszczenie tłumaczy znacznie więcej zjawisk, niż pierwsze. Podałem projekt doświadczeń, które mogłyby rozstrzygnąć, które z tych przypuszczeń jest słuszne. Niestety z braku odpowiednich przyrządów nie mogłem wspomnianych doświadczeń wykonać.

Moje ujęcie różni się od ujęcia Heringa tym, że wyjaśnia powstawanie podrażnień przy zamykaniu prądu na całej drodze jego przepływu już w zupełnie świeżych i nieuciśniętych mięśniach, podczas gdy ujęcie Heringa zakłada, że tylko w uciśniętych lub uszkodzonych mięśniach może zachodzić podrażnienie na całej drodze przepływu prądu, zaś w zupełnie nienaruszonych mięśniach ma ono wg tego autora powstawać tylko w okolicy katody.

Piśmiennictwo

- A e b y C h. Untersuchungen über die Fortpflanzungsgeschwindigkeit der Reizung in der quergestreiften Muskelfaser. Braunschweig, 1862.
- A e b y C h. Arch. f. Anat. u. Physiol. Physiol. Abt. (688). 1867.
- B e t h e A und H a p p e l P. Pflügers Arch. 201. (157). 1923.
- v. B e z o l d A. Untersuchungen über die elektrische Erregung der Nerven und Muskeln. Leipzig, 1861.
- B i e d e r m a n n W. Sitz. ber. d. K. Wiener Ak. 79.III Abt. (289) 1879a
- B i e d e r m a n n W. Sitz. ber. d. K. Wiener Ak. 80.III Abt. (367) 1879b.
- B i e d e r m a n n W. Sitz. ber. d. K. Wiener Ak. 83.III Abt. (289) 1881.
- B i e d e r m a n n W. Elektrophysiologie. Jena, 1895.
- B o e k e J. Erg. Physiol. 19. (448) 1921.
- B u c h t a l i L i n d h a r d J. Physiol. 95. (59 P) 1939.
- C h a u v e a u M. A. Jour. de physiol. 2. (490) 1859.
- E n g e l m a n n T h. W. Pflügers Arch. 3. (247) 1870.
- E n g e l m a n n T h. W. Pflügers Arch. 26. (97) 1881.
- F l e i s c h m a n n W. u. S c h e m i n z k y F. Klin. Wschr. Jg. 9. (1773). 1930.
- v F r e y M. Nagels Handb. d. Physiologie. T. 4. (427). 1909.
- v G u l á c s y Z. Pflügers Arch. 223. (407). 1929.
- H a b e n i c h t W. Pflügers Arch. 231. (181). 1932.
- H a r l e s s E. Zeitschr. f. rat. Med. III Reihe. 12. (68) 1861.
- H e l l e r R. Pflügers Arch. 225. (194) 1930.
- H e r i n g E. Sitz. ber. d. K. Wiener Ak. 79.III.Abt. (237) 1879:
- H o c h s t ä d t O. u. S c h e m i n z k y F. Pflüg. Arch. 230. (647) 1932.
- K a n n S. Pflügers Arch. 225. (265) 1930.
- K r a u s H., N e u m a n n F. u. R e i f f e n s t u h l W. Pflügers Arch. 230. (575) 1932.
- K r a u s H. u. R e i f f e n s t u h l W. Pflügers Arch. 230. (656) 1932.
- M a n g o l d E. Erg. Physiol. 21. (361) 1923.
- N e u m a n n F. Pflügers Arch. 230. (584) 1932.
- P f l ü g e r E. Untersuch. u. die Physiologie des Elektrotonus. 1859.
- v. R e g é c z y E. N. Pflügers Arch. 43. (533). 1888.
- R o b b i n s S. S. u. W i l h e l m M. L. Pflügers Arch. 234. (707) 1934.
- S c h e m i n z k y F. Klin. Wschr. Jg. 8. (1264) 1929.
- S c h e m i n z k y F. u. S c h e m i n z k y F. Pflügers Arch 225. (145) 1930.
- S c h e m i n z k y F. Pflügers Arch. 229. (570) 1932a.
- S c h e m i n z k y F. Pflügers Arch. 213. (119) 1926.
- S c h e m i n z k y F. Pflügers Arch. 225. (303) 1930.
- S c h e m i n z k y F. Erg. Physiol. 34. (583) 1932b.
- S t e i n h a u s e n W. Pflügers Arch. 187. (26) 1921.
- S t a s n y F. Pflügers Arch. 225. (230) 1930.
- S z a b u n i e w i c z B. Pflügers Arch. 235. (737) 1935.
- T h ö r n e r W. Pflügers Arch. 206. (411) 1924.
- W i n t e r s t e i n H. Hdb. d. Neurol., Bumke u. Förster, T. 2. (78) 1937.
- Z a w a d z k i B r. Acta Biol. Exper. 12. (96) 1938a.
- Z a w a d z k i B r. Pflügers Arch. 240. (325) 1938b.
- Z a w a d z k i B r. Klin. Wschr. Jg. 17. (813) 1938c.

Przemiany kwasów tłuszczowych gasienic jedwabnika ¹⁾.

Fatty Acid Metabolism in Silk Worm Larvae.

W. Niemierko

(Zakład Biochemii Instytutu im. M. Nenckiego w Łodzi)

During the last (5-th) growing stage of *Bombyx mori* larvae an increase of fatty acids content in larval body is observed. The unsaturated fatty acids increase more than saturated. Desaturation of saturated acids occurs; besides an increase of the amount of double bonds takes place.

After cessation of feeding, during formation of cocoons nearly 12% of fatty acids disappear. Their degradation is accompanied by desaturation. From the amount of the saturated acids, the iodine and the rhodan numbers it was possible to calculate the content of oleic, linoleic and linolenic acids by means of the method of Kaufmann. The results obtained seem to indicate that large quantities of linolenic acid are formed from linoleic acid, the amount of which diminishes correspondingly. Unsaturated acids play an important role in anabolism as well as in catabolism of fats.

W poszukiwaniach mających na celu wyświetlenie procesów powstawania, rozpadu i przebudowy substancji chemicznych w organizmach zwierzęcych owady stanowią niezwykle wartościowy obiekt do badania.

¹⁾ Praca wykonana w r. 1937-8 w Zakładzie Fizjologii Zwierząt U. W. i przedstawiona na posiedzeniu Oddziału Polskiego Towarzystwa Fizjologicznego w Łodzi dn. 1.II. 1947 r.

W rozwoju tych zwierząt, jak podkreśla Białaszewicz (1933), spotykamy się z okresami ich wzrostu, połączonymi z intensywnym pobieraniem pokarmów, z przyrostem masy żywej i z gromadzeniem się w ich ciele dużych ilości różnorodnych związków organicznych. Spotykamy się też i z okresami przerw w odżywianiu (linka, metamorfoza), związanymi z przekształceniami morfologicznymi i towarzyszącymi im procesami rozpadu i przebudowy nagromadzonych uprzednio substancji chemicznych.

Nie też dziwnego, że już od połowy zeszłego stulecia szereg wybitnych fizjologów poświęcał uwagę swoją tym organizmom, badając bądź ich procesy oddechowe (Regnault i Reiset 1844), bądź też analizując ich skład chemiczny w różnych momentach rozwoju (Kellner, 1884). Te ostatnie badania, poświęcone rozwojowi larwalnemu jedwabników, niezależnie od niedoskonałości ówczesnych metod analizy chemicznej, posiadają pewne znaczenie i do dnia dzisiejszego. Stwierdzono w nich, że skład chemiczny gąsienic analizowanych w kolejnych okresach snu larwalnego jest mniej więcej jednakowy.

Obszerne piśmiennictwo w dziedzinie biochemii owadów zebrane jest w pracy Hellera (1928), w artykule D. M. Nedham (1929), w monografii J. Nedham (1931), oraz w podręcznikach Wiggleworth'a (1934 i 1939). Z nowszych prac poświęconych jedwabnikom przytoczymy badania Białaszewicza, dotyczące odżywiania się jedwabnika w ostatnim okresie wzrostu (1936) i zmian składu chemicznego zwierzęcia w tym czasie (1937). W pracach tych zostało między innymi stwierdzone, że procentowa zawartość tłuszczów w ciele gąsienicy wzrasta w badanym okresie żerowania z 0.5 do 3.4%. Jak wynika poza tym z przytoczonych przez autora danych, tylko część gromadzonych przez zwierzę tłuszczów może pochodzić z tłuszczów pokarmowych, tj. liści morwy, pozostała zaś ilość wytwarza się drogą przeróbek z innych związków organicznych. Wyniki te były potwierdzeniem słuszności spostrzeżeń dawniejszych autorów. (Kellner 1884).

Niewątpliwie zatem zachodząca w ciele gąsienic synteza tłuszczów doprowadza w przeciągu zaledwie kilku dni do wytwarzania przez zwierzę dużych ilości tych związków. Fakt powyższy może służyć jako dobry przykład wspomnianej wartości owadów jako obiektu badań biochemicznych, w szczególności zaś zjawisko gromadzenia tłuszczów przez rosące gąsienice jedwabnika może nadawać się do badania mechanizmu procesów anabolicznych związanych z powstawaniem kwasów tłuszczowych.

W związku z tym została też podjęta niniejsza praca, której celem było wyświetlenie zagadnienia udziału poszczególnych kwasów tłuszczowych w zjawiskach przemiany tych związków.

Metodyka

Jako materiał do badań służyły gąsienice jedwabnika (*Bombyx mori*), znajdujące się w ostatnim okresie rozwoju po czwartej wylince. Hodowlę gąsienic prowadzono w sposób dokładnie opisany przez Biała szewicza (1937).

Z gąsienic (3 — 15 osobników), znajdujących się w kolejnych dniach rozwoju wydobywano i oczyszczano kwasy tłuszczowe za pomocą metody Kumagawa-Suto, oznaczano ogólną ich ilość drogą ważenia i rozpuszczano w kolbkach miarowych w chloroformie. Próbkę uzyskanego w ten sposób roztworu kwasów tłuszczowych służyły następnie jako materiał do przeprowadzenia szczegółowej analizy tych związków. Analizy te obejmowały: 1) oznaczenie ilości nasyconych kwasów tłuszczowych za pomocą modyfikacji metody Bertrama (Niemierko) (1947a) i 2) oznaczenie liczby jodowej i liczby rodanowej (Niemierko) (1947b). Z uzyskanych w ten sposób danych, posługując się sposobem opisanym przez Kaufmanna (1935), można było następnie obliczyć % zawartość kw. tłuszczowych nasyconych, oraz kwasu oleinowego, linolowego i linolenowego, tj. kwasów nienasyconych, zawierających jedno, dwa i trzy podwójne wiązania. Analizy powyższe uzupełnione były ponadto oznaczeniem liczby kwasowej, co pozwalało na określenie przeciętnej wielkości cząsteczki kwasów tłuszczowych.

Wyniki doświadczeń i omówienie

Uzyskane w drodze analiz i odpowiednich przeliczeń liczby dotyczące % składu chemicznego kwasów tłuszczowych gąsie-

nic jedwabnika od momentu po ostatniej wylince aż do chwili zapoczwarczenia się są zestawione w tabeli I i na wykresie Nr 1. Zawartości poszczególnych kwasów przypadające na jednego osobnika podane są w tab. II i na wykresie Nr. 2.

Porównanie ze sobą uzyskanych liczb pozwala w następujący sposób scharakteryzować zmiany w % składzie kwasów tłuszczowych w badanym okresie rozwoju jedwabnika (Tab. I).

Tabela I.

Procentowy skład kwasów tłuszczowych w gąsienicach
Bombyx mori po IV wylince.

Distribution of fatty acids in Bombyx mori larvae after the 4-th ecdysis.

Nr	Dzień po wylince Day after ecdysis	Stan fizjologiczny <i>Physiol.</i> <i>state</i>	Kwasy nasycone <i>Saturated</i> acids %	Kwas oleinowy <i>Oleic acid</i> 0/0	Kwas linolowy <i>Linoleic</i> acid %	Kwas linolenowy <i>Linolenic</i> acid %
1	0		62.3	23.0	14.7	0
2	1	żerowanie <i>feeding</i>	51.3	23.4	25.3	0
3	2	"	43.4	10.1	46.5	0
4	3	"	34.5	15.0	50.5	0
5	4	"	34.0	16.0	45.0	5.0
6	5	"	33.0	16.4	42.6	8.0
7	6	"	32.5	15.6	40.9	11.0
8	7		32.0	16.0	38.2	13.8
9	8		31.6	17.7	34.2	16.5
10	9	snucie <i>cocoon</i> <i>formation</i>	31.0	17.0	33.7	18.3
11	10	"	30.5	18.8	29.7	21.0
12	11	"	30.0	19.3	29.0	21.7
13	12	zapoczw. <i>pupation</i>	29.6	20.4	26.5	23.5

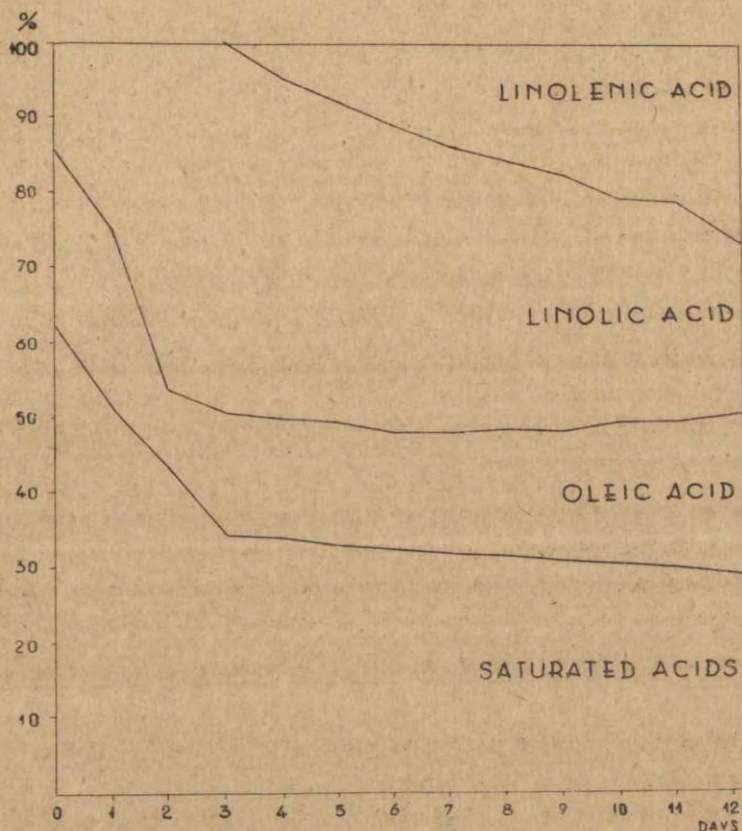


Fig. 1. Procentowy skład kwasów tłuszczowych w ostatnim okresie wzrostu gąsienic jedwabników.

Distribution of Fatty Acids in Bombyx Mori Larvae during the Last Growing Stage.

Bezpośrednio po czwartej wylicze obserwujemy znaczną przewagę nasyconych kwasów tłuszczowych nad nienasyconymi. Ilość kwasów nasyconych, wynosząca na początku okresu przeszło 60% ogólnej zawartości kwasów, już w przeciągu pierwszych trzech dni żerowania gwałtownie spada do 34.5%. Spadek ten robi się następnie bardzo powolnym

i w chwili zapoczwarczenia się ilość kwasów nasyconych stanowi 29.6% ogólnej ilości kwasów.

Udział poszczególnych kwasów nienasyconych w tłuszczach gąsienicy wykazuje wybitne różnice. Obserwujemy np. w drugim dniu żerowania gwałtowny względny spadek zawartości kwasu oleinowego, któremu towarzyszy znaczny przyrost % zawartości kwasu linolowego. Po tym gwałtownym spadku zawartość względna kwasu oleinowego zaczyna wzrastać i stopniowo dochodzi do 20.4%.

Udział kwasu linolowego w tłuszczach osiąga swoje maksimum w trzecim dniu żerowania, w którym stanowi on połowę wszystkich kwasów, dalej zaś obserwujemy stopniowe zmniejszanie się jego względnej zawartości, dochodzące w końcu badanego okresu do 26.5%.

Kwasu linolenowego ani bezpośrednio po 4-ej wylince, ani w pierwszych trzech dniach żerowania w gąsienicy nie spotykamy, zjawia się on dopiero w czwartym dniu, w którym stanowi 5% wszystkich kwasów i od tego czasu zawartość jego nieustannie wzrasta, dochodząc w momencie zapoczwarczenia się do 23.5%.

Omawiając liczby, uzyskane po przeliczeniu zawartości poszczególnych kwasów tłuszczowych, przypadających na jednego osobnika (Tab. II, rys. Nr 2), które pozwalają sądzić o absolutnych przyrostach względnie stratach tych związków, możemy badany przez nas okres rozwoju podzielić na dwie części. Pierwsza połowa okresu obejmuje czas od ostatniej linki aż do chwili zaprzestania przyjmowania pokarmu, tj. w naszych doświadczeniach okres około sześciu dni, — druga połowa, trwająca również około sześciu dni, odpowiada przygotowaniu do snucia kokonu, samemu snuciu i zapoczwarczeniu się.

Pod koniec żerowania ogólna zawartość kwasów tłuszczowych w gąsienicy jest największa i wynosi 116.4 mg w przeliczeniu na jednego osobnika, w czasie snucia kokonu i zapoczwarczenia się zawartość ta nieco spada, dochodząc do 102 mg. Spadek ten dotyczy jednak tylko kwasów nasyconych (z 37.8

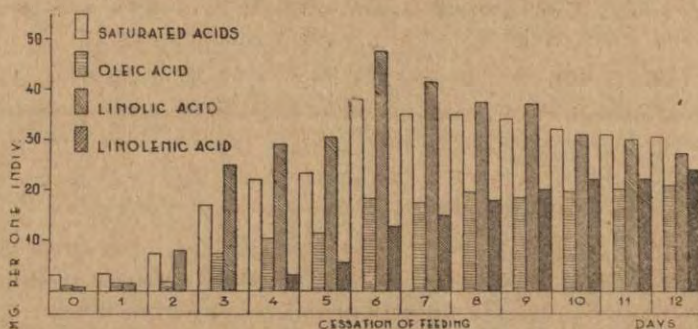
do 30.3 mg) i kwasu linolowego (z 47.6 do 27.2 mg), zawartość bowiem w ciele zwierzęcia kwasu oleinowego pozostaje mniej więcej bez zmian, zawartość zaś kwasu linolenowego w tym czasie znacznie nawet wzrasta, od 12.8 do 24.1 mg.

Tabela II.

Zawartość kwasów tłuszczowych w ostatnim okresie wzrostu gąsienic
Bombyx mori.

Fatty acid content in larvae of Bombyx mori after the 4-th ecdysis,

Nr	Dzień po wylince <i>Day after ecdysis</i>	Stan fizjologiczny <i>Physiol. state</i>	Kwasy tłuszczowe w 1 osobniku <i>Fatty acid content in 1 indiv.</i>				
			Suma kwasów tłuszczowych mg <i>Total fatty acid amount mg</i>	Kw. nasyc. mg <i>Saturated fatty acids mg</i>	Kwas oleinowy <i>Oleic acid mg</i>	Kwas linolowy <i>Linoleic acid mg</i>	Kwas linolenowy <i>Linolenic acid mg</i>
1	0		5.12	3.19	1.18	0.75	0
2	1	żerowanie <i>feeding</i>	6.56	3.36	1.53	1.66	0
3	2	"	17.4	7.55	1.76	8.20	0
4	3	"	49.2	17.0	7.48	24.8	0
5	4	"	64.9	22.1	10.4	29.2	3.25
6	5	"	71.3	23.5	11.7	30.4	5.70
7	6	"	116.4	37.8	18.2	47.6	12.8
8	7		108.9	34.9	17.4	41.6	15.0
9	8		110.0	34.7	19.5	37.6	18.1
10	9	snucie <i>cocoon formation</i>	109.7	34.0	18.7	37.0	20.1
11	10	"	104.8	32.0	19.7	31.1	22.0
12	11	"	103.2	31.0	19.9	29.9	22.4
13	12	Zapoczw. war. <i>pupation</i>	102.5	30.3	20.9	27.2	24.1



Rys. 2

Zawartość kwasów tłuszczowych w gąsienicach *Bombyx mori* w ostatnim okresie wzrostu.

Fatty Acid Content in Bombyx Mori Larvae during the Last Growing Stage

Jak wynika z cytowanej wyżej pracy Bielaśzewicza (1936) tylko około połowy gromadzonych przez zwierzę tłuszczów może pochodzić z tłuszczów liści morwy. Wynika z tego, że kształtowanie się zawartych w ciele gąsienicy w czasie żerowania kwasów tłuszczowych jest wypadkową dwóch procesów: przyswajania tłuszczów pokarmowych i tworzenia się kwasów tłuszczowych wskutek przeróbek innych związków organicznych.

Nie posiadając danych co do zawartości poszczególnych kwasów tłuszczowych w tłuszczach liści morwy, nie jesteśmy w stanie wyjaśnić, które z kwasów tłuszczowych gromadzonych przez zwierzę w czasie żerowania mają za swe źródło tłuszcze pokarmowe, które zaś powstają z innych substancyj. Rozstrzygnięcie tego zagadnienia napotykałoby zresztą na poważne trudności. Nawet bowiem ustalenie bilansów dla poszczególnych kwasów tłuszczowych nie byłoby przy tym wystarczającym, ze względu na możliwości wzajemnych przekształceń się kwasów tłuszczowych. Zastanawiającym jest jednak fakt, że w pierwszych trzech dniach żerowania zupełnie nie spotykamy w ciele gąsienicy kwasu linolenowego. Kwas ten zjawia się, jak już zaznaczono, dopiero w czwartym dniu po wylince i od tej chwili ilość jego ustawicznie wzrasta, dochodząc do wartości największej u poczwarki. Ponieważ po-

karm przyjmowany przez rosnące gąsienice jest ten sam w ciągu całego okresu żerowania, nasuwa się przypuszczenie, że właśnie kwas linolenowy, a być może częściowo i kwas linolowy, którego ilość począwszy od czwartego dnia żerowania, również zaczyna gwałtownie wzrastać, powstaje w ciele zwierzęcia, nie tyle wskutek odkładania się tłuszczów pokarmowych, ile raczej w drodze przeróbki innych związków. Pozostaje jednak niewyjaśnionym, jaki udział w tych procesach przypada na syntezę kwasów tłuszczowych, jaki natomiast — na zjawisko desaturacji kwasów już zawartych w ciele gąsienicy, bądź w pokarmie.

Skład kwasów tłuszczowych na początku i w końcu żerowania wskazuje na wybitne różnice w ustosunkowaniu się wzajemnym kwasów nasyconych i kwasów nienasyconych. Zwiększenie się ilości tłuszczów w gąsienicy związane jest z gromadzeniem się głównie kwasów tłuszczowych nienasyconych.

Obliczając absolutne przyrosty poszczególnych kwasów tłuszczowych w jednej gąsienicy przez cały okres żerowania, jak również zmiany od zaprzestania żerowania do chwili zapoczwarczenia się, otrzymujemy dane zestawione w tab. III.

Tabela III.

Zmiany w zawartości kwasów tłuszczowych w ostatnim okresie wzrostu gąsienic *Bombyx mori*.

Changes in fatty acid content in Bombyx mori larvae after the 4 th ecdysis.

	Przyrost w okresie żerowania mg/1 osobn. <i>Increase during feeding period</i> mg/1 indiv.	Zmiany od zaprzestania żerowania do zapoczwarczenia mg/1 osobn. <i>Changes after cessation of feeding till pupation</i> mg/1 indiv.
Suma kwasów tłuszczowych <i>Total fatty acid amount</i>	+ 111.3	— 13.9.
Kwasy nasycone <i>Saturated fatty acids</i>	34.6	— 7.5
Kwasy nienasycone <i>Unsaturated fatty acids</i>	76.7	— 6.4
Kwas oleinowy — <i>Oleic acid</i>	17.0	+ 2.7
Kwas linolowy — <i>Linoleic acid</i>	46.8	— 20.4
Kwas linolinowy — <i>Linolenic acid</i>	12.8	+ 11.3

Z liczb tej tabeli wynika, że gąsienica gromadzi przez cały czas żerowania po czwartej wylince 34.6 mg kwasów nasyconych i 76.7 mg kwasów nienasyconych. Wśród tych ostatnich pierwsze miejsce pod względem ilościowym zajmuje kwas linolowy (46.8 mg), dalej idą kwas oleinowy (17.0 mg) i linolenowy (12.8 mg).

Nasuwa się przypuszczenie, że gromadzenie przez gąsienicę bardziej nienasyconych kwasów, szczególnie w drugiej połowie okresu żerowania (tab. II) jest związane z powstawaniem innego rodzaju związków tłuszczowych, niż te, które się tworzą na początku żerowania. Wchodzić tu w rachubę mogą np. fosfatydy, które są zwykle bogatsze w kwasy wielonienasycone, niż np. tłuszcze obojętne. Za słuszością tego poglądu przemawia między innymi zaobserwowane przez nas (N i e m i e r k o 1 9 4 7 c) występowanie w gąsienicy w okresie przed zapoczwarczeniem się dość dużych ilości tych substancji i ich labilność, przejawiająca się w ich znikaniu i ponownym tworzeniu się w czasie metamorfozy. Rozstrzygnięcie tego zagadnienia wymaga jednak przeprowadzenia specjalnych badań, w których w czasie wzrostu gąsienic muszą być oznaczone nie tylko kwasy tłuszczowe, lecz również i poszczególne frakcje tłuszczów i ciał tłuszczowatych.

Poprzestając na stwierdzeniu gromadzenia przez rosnące gąsienice większych ilości kwasów nienasyconych, niż nasyconych, sądzimy, że w procesach adipogenetycznych zjawisko takie musi być w świecie zwierzęcym bardzo rozpowszechnionym. Spotykaliśmy się z nim np. w naszych badaniach przemian tłuszczowych u szprota (N i e m i e r k o i Ł o s z y c e r, 1938). Wsunęliśmy wówczas przypuszczenie, że w czasie anabolizmu tłuszczów ma miejsce wytwarzanie się kwasów tłuszczowych nienasyconych z nasyconych, względnie zwiększenie się stopnia nienasycenia.

Pod tym kątem widzenia zrozumiałym robi się fakt (tab. I) zaobserwowania począwszy od trzeciego dnia żerowania stałości względnej %-ej zawartości sumy kwasów tłuszczowych nasyconych i kwasu oleinowego, jak również — sumy kwasu linolowego i linolenowego. Zmniejszeniu się względnej zawartości kwasów nasyconych towarzyszy przy tym przy-

rost kwasu oleinowego, z drugiej zaś strony zmniejszeniu się względnej zawartości kwasu linolowego towarzyszy przyrost kwasu linolenowego. Stwierdzony w drugim dniu żerowania spadek względnej zawartości kwasu oleinowego przy jednoczesnym przyroście kwasu linolowego (tab. I) może być zaliczony do tej samej kategorii zjawisk. Obserwujemy zatem w czasie gromadzenia przez gąsienicę tłuszczów zarówno proces desaturacji kwasów nasyconych, jak i wzrost stopnia nienasylenia.

W drugiej połowie badanego przez nas okresu, po zaprzestaniu przez zwierzę żerowania w czasie snucia kokonu i zapoczwarczenia się, gąsienica traci około 14 mg kwasów tłuszczowych, co stanowi przeszło 12% ich ogólnej zawartości. Udział kwasów tłuszczowych jest zatem w procesach katabolicznych, zachodzących w tym czasie dość znaczny. O udziale tym świadczą również i niskie ilorazy oddechowe stwierdzone przez B a l s a m a (1933) i B i a ł a s z e w i c z a (1937, b) dla omawianych okresów.

Badania nasze wykazują, że ilość zmetabolizowanych kwasów nasyconych (7.5 mg) mniej więcej równa się przy tym ilości nienasyconych (6.4 mg). Zmiany jednak obserwowane w ilościowych wzajemnych stosunkach poszczególnych nienasyconych kwasów tłuszczowych, jak widać z tab. III, wskazują na to, że wspomniane wyżej zjawisko desaturacji kwasów tłuszczowych towarzyszy nie tylko procesom tworzenia się, lecz również jest związane i z rozpadem tłuszczów. W procesach katabolizmu tłuszczów zjawiska te występują nawet w sposób bardziej wyraźny: absolutny bowiem wzrost zawartości w ciele gąsienicy kwasu linolenowego, który stwierdzamy w ciągu całego tego okresu, najprościej da się wytłumaczyć powstawaniem go z kwasu linolowego. Duże zatem straty tego ostatniego (20,4 mg) są przypuszczalnie związane zarówno z jego spalaniem się w ustroju, jak i z jego desaturacją. Czy taka desaturacja jest jednym z nieodzownych etapów w procesach spalania się, jak przyjmuje teoria Leathes'a, czy też związana ona jest z wytwarzaniem się wielonienasyconych kwasów tłuszczowych ważnych dla dalszych procesów fizjologicznych nie da się na podstawie danych naszych badań

rozstrzygnąć. To co z tych badań wynika, wskazuje na niezwykle żywy udział kwasów tłuszczowych nienasyconych we wszelkiego rodzaju przemianach tłuszczowych, zarówno związanych z powstawaniem tych substancyj, jak i ich rozpadem.

Wykonane przez nas oznaczenia liczby kwasowej w mieszaninie wszystkich kwasów tłuszczowych pozwoliło na obliczenie przeciętnej wielkości ich cząsteczki. Uzyskane przez nas liczby nie wykazują znaczniejszych wahań w ciągu całego badanego okresu i odpowiadają łańcuchom węglowym z 18 atomów. Liczby kwasowe oznaczono również i dla samych kwasów nasyconych, z różnicy zaś obliczono następnie wartości przypadające na kwasy nienasycone. W ciągu badanego przez nas okresu daje się zaobserwować pewne nieznaczne skrócenie łańcuchów kwasów nasyconych, które być może związane jest z betaoksydacją. Zmiany w średniej wielkości cząsteczki kwasów nienasyconych zachodzą w kierunku odwrotnym, są one jednak jeszcze mniejsze, ze względu zaś na to, że oznaczone są nie bezpośrednio lecz w drodze obliczeń z różnicy, musimy się powstrzymać od interpretowania ich. Obliczone przy tym wielkości cząsteczki kwasów nienasyconych dla ostatnich dni badanego przez nas okresu rozwoju jedwabnika dość ściśle odpowiadają teoretycznym wartościom dla C_{18} , tj. właśnie dla kwasów oleinowego, linolowego i linolenowego.

Zestawienie stwierdzonych w pracy niniejszej wybitnych zmian w jakościowym składzie kwasów tłuszczowych,—rozpoczynających się bezpośrednio po ostatniej wylince i trwających do momentu zapoczwarczenia się, — ze stałością składu chemicznego gąsienic jedwabnika znajdujących się w kolejnych momentach snu larwalnego (K e l l n e r 1884) nasuwa przypuszczenie, że i pierwsze cztery okresy wzrostu gąsienic prawdopodobnie związane są z analogicznymi do wykrytych przez nas procesami chemicznymi. Być może dotyczy to nie tylko zjawiska anabolizmu i katabolizmu kwasów tłuszczowych, lecz również i innych związków organicznych. Pomiaru produkcji ciepła w czasie rozwoju larwalnego nieparki (*Limantria dispar*), wykonane przez B i a ł a s z e w i c z a (1933) wskazują na to, że pomimo iż stwierdzono w poszczególnych dniach doświadczeń różne ilości ciepła wydzielanego przez ro-

snące gąsienice (na gram masy żywej i godz.), to jednak w obliczeniu dla poszczególnych całkowitych okresów wzrostu średnie wartości były bardzo do siebie zbliżone. Świadczy to o tym, że każdy poszczególny okres wzrostu, od jednej linki do drugiej, stanowi jakby zamkniętą w sobie całość. W tych kolejnych okresach zachodzić muszą zbliżone do siebie procesy, związane z tworzeniem się nowych ilości „materii żywej“, w okresach zaś snu larwalnego, w związku z obserwowanymi przy tym przekształceniami morfologicznymi, zachodzą głównie procesy rozpadu i przebudowy substancji organicznych, doprowadzające do ponownego wyrównania zmian składu chemicznego zwierzęcia. Należy wobec tego oczekiwać, że w okresach snu larwalnego ma miejsce wielka różnorodność procesów biochemicznych, aczkolwiek ogólne natężenie ich jest mniejsze, niż w okresach wzrostu.

Streszczenie

W ostatnim okresie rozwoju gąsienic jedwabnika obserwujemy w czasie żerowania gromadzenie się w ciele zwierzęcia kwasów tłuszczowych, które jest związane z przyrostem większych ilości kwasów tłuszczowych nienasyconych, niż kwasów nasyconych. Zjawisko to połączone jest z desaturacją kwasów nasyconych i wzrostem liczby podwójnych wiązań.

Po zaprzestaniu żerowania, a w czasie snucia kokonu i zapoczwarczenia się, znika około 12% nagromadzonych kwasów tłuszczowych. Proces rozpadu kwasów tłuszczowych również jest związany z ich desaturacją. Zjawiający się przy tym w dużych ilościach kwas linolenowy powstaje z kwasu linolowego, którego ilość jednocześnie znacznie się zmniejsza.

Kwasy tłuszczowe nienasycone biorą bardzo żywy udział w przemianach tłuszczowych, zarówno w procesach anabolicznych, jak i katabolicznych.

Piśmiennictwo

B a l z a m N. 1933. Stosunek produkcji ciepłej do procesów oddechowych w czasie rozwoju pozarodkowego owadów. (*Lymantria dispar* i *Bombyx mori*). Acta Biol. Exper. 8, (59).

- Białaszewicz K. 1933. Thermogenèse pendant la periode de croissance larvoire et pendant la metamorphose de *Lymantria dispar* L. Arch. intern. de Physiol. 37, (1).
- Białaszewicz K. 1936. O odżywianiu się jedwabnika (*Bombyx mori*) w ostatnim okresie wzrostu. Acta Biol. Exper. 10 (352).
- Białaszewicz K. 1937 a. Zmiana składu chemicznego jedwabników w ostatnim okresie ich życia larwalnego. Acta Biol. Exper. 11 (20).
- Białaszewicz K. 1937 b. O oddychaniu jedwabnika i o efekcie cieplnym wzrostu. Acta Biol. Exper. 11, (229).
- Heller J. 1928. Badania nad przeobrażeniem owadów. Acta Biol. Exper. 1, (225).
- Kaufmann H. P. 1935. Studien auf dem Fettgebiete. Berlin.
- Kellner O. 1884. Chemische Untersuchungen über die Entwicklung und Ernährung des Seidenspinners. Landw. Versuchst. 30 (59).
- Leathes J. 1913. The fats. London.
- Needham D. M. 1929. The chemical changes during the metamorphosis of insects. Biol. Rev. 4 (307).
- Needham J. 1931. Chemical Embriology. Cambridge.
- Niemierko W. 1947 a. Mikromodyfikacja metody Bertrama do oznaczania nasyconych kwasów tłuszczowych. Acta Biol. Exper. 14 (207).
- Niemierko W. 1947 b. Mikrometody do oznaczenia liczby jodowej i liczby rodanowej kwasów tłuszczowych. Acta Biol. Exper. 14 (199).
- Niemierko W. 1947 c. Przyczynek do biochemii metamorfozy jedwabnika. Acta Biol. Exper. 14 (151).
- Niemierko i Łoszyce Ch. 1938. Über den Fettstoffwechsel bei Sprotten. Acta Biol. Exper. 12 (238).
- Regnault et Reiset. 1944. Recherches chimiques sur la respiration des animaux des divers classes. Ann. de Phys. et de Chim. 25.
- Wigglesworth V. B. 1934. Insect Physiology.
- Wigglesworth V. B. 1939. The Principles of Insect Physiology.

Przyczynek do biochemii metamorfozy jedwabnika¹⁾.

*Contribution to the Biochemistry of Metamorphosis of Silk Worm.
(Preliminary Note).*

W. Niemierko

(Zakład Biochemii Instytutu im. M. Nenckiego w Łodzi)

In the course of metamorphosis of the silk worm a gradual disappearance of about 40% of lipids and neutral fats is observed. Phospholipids show very significant changes: during the first days of metamorphosis, those of them which are insoluble in acetone are quickly transformed into soluble compounds; then a resynthesis occurs and towards the end of the metamorphosis they again disappear gradually. On the contrary the total amount of lipid phosphorus does not exhibit important changes, although the relation of lipid phosphorus to lipid nitrogen falls gradually from 1:2.8 to 1:1.8.

Celem pracy niniejszej było zbadanie natężenia przemian tłuszczowych w procesach metamorfozy i udziału w tych procesach poszczególnych substancyj, wchodzących w skład lipidów.

Metodyka.

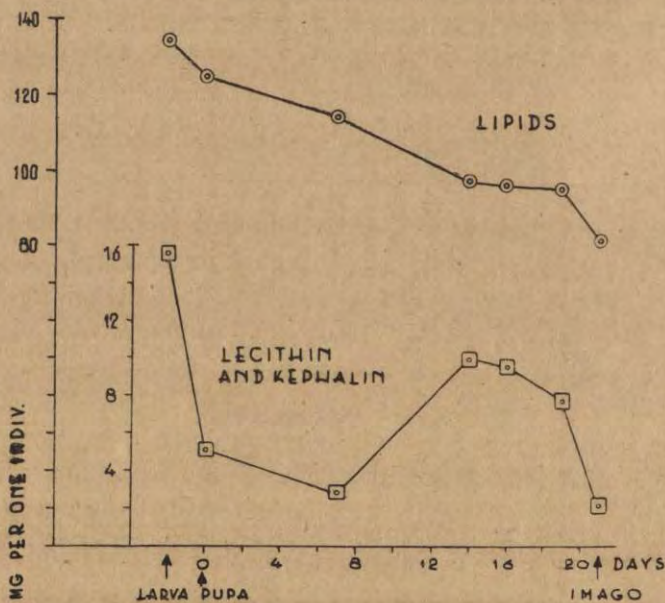
Doświadczenia przeprowadzone były na jedwabniku (*Bombyx mori*). Badane były zwierzęta, począwszy od gąsienic kończących oprzędzenie się, następnie poczwarki znajdujące się w różnych momentach okresu przeobrażenia się oraz motyle w chwili wydostania się z kokonu.

1) Praca wykonana w r. 1938 w Zakładzie Fizjologii Zwierząt U. W. i przedstawiona na posiedzeniu Oddziału Łódzkiego Polskiego Towarzystwa Fizjologicznego w Łodzi dn. 1.II.1947.

Do analiz chemicznych brano po 15 do 25 osobników z określonego stadium rozwoju, ważono je i zalewano je wrzącym alkoholem. Alkohol ten po pewnym czasie zmieniano świeżym celem odwodnienia, odzielano nierozpuszczającą się w nim pozostałość i ekstrahowano ją w aparacie ekstrakcyjnym na gorąco chloroformem. Połączone wyciągi alkoholowe i chloroformowe odparowywano pod zmniejszonym ciśnieniem, pozostałość rozpuszczano w chloroformie, sączono i umieszczano w kolbkach miarowych uzupełniając chloroformem do kreski. Otrzymany w ten sposób roztwór zawierał wszystkie tłuszcze i ciała tłuszczowate; służył on do dalszych analiz. Oznaczano w nim ogólne stężenie lipidów, zawartość tłuszczów obojętnych, związków strącających się acetonem (letycyny i kefaliny), ponadto zawartość fosforu, azotu oraz substancyj niezmydlających się.

Wyniki analiz i omówienie.

Przyglądając się liczbom tabeli, stwierdzamy, że w czasie metamorfozy daje się zaobserwować równomierny spadek ogólnej zawartości lipidów oraz zawartości tłuszczów obojętnych. Bezpośrednio przed zapoczwarczeniem się w jednym osobniku znajduje się 135.4 mg lipidów, względnie 117.6 mg tłuszczów



Lipidy w metamorfizie jedwabnika

Lipids in the Course of Metamorphosis of Silk Worm

Zawartość lipidów w czasie metamorfozy jedwabnika
Lipids in the course of metamorphosis of silk worm

Nr próby	Stadium rozwoju <i>Stage of development</i>	Dzień metamorfozy <i>Day of metamorphosis</i>	Content in 1 indiv. Zawartość w 1 osobniku						P lipidowy in lipids	N lipidowy in lipids	P:N atom: atom
			Lipidy mg	Tłuszcze obojętne mg	Neutral fats mg	Subst. niezmydlające mg	Unsaponifiable matter mg	Lecyocyny i ketoliny Lecithin and Kephalin mg			
1	gąsienica larva	-	135,4	117,6	2,50	15,7	0,62	0,79	1:2,8		
2	poczwarka pupa	0	125,5	117,8	2,46	5,16	0,52	0,62	1:2,7		
3	"	VII	114,3	108,7	2,68	2,95	0,44	0,47	1:2,4		
4	"	XIV	96,9	84,3	2,89	9,89	0,75	0,70	1:2,1		
5	"	XVI	96,2	83,4	2,84	9,59	0,66	0,59	1:2,0		
6	"	XIX	95,0	84,5	2,35	7,82	0,64	0,64	1:2,2		
7	motyl-imago	XXI	81,0	75,1	2,16	3,60	0,63	0,52	1:1,8		

czów obojętnych. W wykluwającym się z kokonu motyłu ilość ich wynosi 81 względnie 75 mg. Straty zatem lipidów przez cały okres metamorfozy są dość znaczne i stanowią około 40% ich początkowej zawartości.

Zawartość substancyj niezmydlających się wykazuje wahania stosunkowo niewielkie.

Składnikami lipidów, które w czasie metamorfozy niewątpliwie ulegają wybitnym przekształceniom, są fosfatydy (lecytyny i kefaliny). Ilość ich oznaczano za pomocą strącenia acetonem. Obserwujemy bezpośrednio po zapoczwarczeniu się znikanie większej części tych substancyj, bowiem zawartość ich, która w oprzędzającej się gąsienicy wynosiła 15.7 mg, spada w poczwarcie do 5 mg. Spadek ten trwa i dalej do VII dnia metamorfozy (3 mg), po czym ilość ich dość gwałtownie wzrasta, dochodząc w XIV dniu do około 10 mg, dalej zaś znowu spada i w wykluwającym się motyłu znajdujemy już tylko 3.6 mg tych związków.

Ilości fosfatydów, obliczone z zawartości w lipidach fosforu, dają zupełnie inne wyniki, niż uzyskane przez nas z ilości osadów po strąceniu acetonem. Ogólna zawartość fosforu lipidowego, jak widać z tabeli, wykazuje stosunkowo niewielkie wahania. Wydaje się nam wobec tego, że w fosfatydach w czasie metamorfozy zachodzą jakieś przekształcenia związane być może z tym, że w początkowych fazach przeobrażania ilość związków strącających się acetonem ulega rozpadowi, w późniejszych zaś stadiach — ponownej syntezie. Ponieważ minimalna zawartość omawianych frakcji przypada na okres wielkiego natężenia histolizy, związanej z przeobrażeniem, sądzimy, że chodzić tu może o częściową hydrolizę lecytyn i kefalin, odłączenie od nich cząsteczki aminoalkoholu i przejście w substancję o typie kwasów fosfatydowych. W dalszym przebiegu metamorfozy, w związku ze zjawiskiem histogenezy, mogłyby zachodzić resynteza omawianych substancyj.

Przekształcenia, jakim podlegają fosfatydy, prawdopodobnie nie ograniczają się do wyżej wymienionych. Świadczy o tym oznaczenie azotu lipidowego (Tabela). Widzimy mianowicie, że stosunek P:N w czasie metamorfozy ulega stopniowej zmianie (z 1:2.8 do 1:1.8).

Streszczenie.

W czasie metamorfozy jedwabnika obserwujemy równomierny spadek zawartości lipidów i tłuszczów obojętnych, wynoszący około 40%.

Wchodzące w skład lipidów związki fosforowe ulegają głębokim przekształceniom, związanym z gwałtownym znikaniem w początkowych fazach metamorfozy substancji strącających się acetonem, ich resyntezie w dalszych okresach przeobrażenia i ponownym zmniejszeniem się ich zawartości w ostatnich dniach metamorfozy.

Zdolności syntetyzujące lipazy wątrobowej)

Synthesizing power of liver lipase.

S. Nyrek.

(Z Zakładu Chemii Ogólnej i Fizjologicznej Wydz. Weter. Uniwersytetu Warszawskiego).

Synthesizing and hydrolyzating power of liver lipase was investigated by means of S y m's esterification method in the anhydrous compounds. Among the alcohols the esterification of ethanol, ethylene glycol, n-propanol, isobutanol erythritol, allyl alcohol, isoamyl alcohol, cyclopentanol and cyclohexenol was succesfully obtained.

The esterification of phenyl ethylene glycol, isopropanol, propylene glycol 1—, 3—, propylene glycol 1—, 2—, butylene glycol 1—, 3—, and n-propanol was obtained with difficulty.

Besides it was stated that glycols are more easy to synthesize if used in lower concentration.

The synthesis of glucose, mannitol and glycerose esters proved a failure. Among acids the esterification was rather easily obtained on the following: ketoacid: pyruvic acid, oxy-acid: lactic acid, aromatic acid: benzoic acid, salicylic acid and cinnamic acid.

However the synthesis of aminoacid esters proved a failure. As the esterification of mannitol, glucose and aminoacid gave negative results it was attempted to hydrolyse esters of these compounds by means of liver lipase. The hydrolysis of tetraacetate of erythritol and pentaacetate of glucose was performed. Hexacetate of mannitol dind't yield to hydrolyse easily.

1) Przedstawione na posiedzeniu Oddziału Warszawskiego Polskiego Towarzystwa Fizjologicznego w dn. 29.IV.1939.

The hydrolysis of acetyl cellulose and aminoacid esters gave no results. Owing to the performed experiments it may be stated that the enormous area of synthetic efficiency of liver lipase is nearly the same as pancreas lipase one. It was been shown that some substrats yield are easily esterized while others less or not all. We have confirmed the opinions that the difference of action of pancreas and liver lipase depends upon relative specificity.

P o t t e v i n, J a n d e r W e l t e r, T a y l o r, R o n a, M i c h a e l i s i wielu innych badaczy wykonało syntezy estrów na drodze enzymatycznej.

E. A. S y m od roku 1928 rozbudował dział enzymatycznych syntez estrów, używając do tego celu specjalnych metod. Podstawą ich są reakcje przeprowadzane w rozpuszczalnikach organicznych. Jako katalizatory enzymatyczne były używane suche preparaty, otrzymywane z różnych narządów. Najczęściej posługiwano się preparatem trzustkowym, ponieważ narząd ten jest najzasobniejszym źródłem enzymu lipolitycznego. W 1938 r. S t. P r z y ł ę c k i i E. A. S y m wraz z współpracownikami zbadali zasięg działania syntetyzującego lipazy trzustkowej, poddając estryfikacji cały szereg alkoholi alifatycznych, aromatycznych, wielowartościowych, nasyconych, nienasyconych oraz różnych kwasów organicznych. Doświadczenia te niezbiecie dowiodły wielkich możliwości syntetyzujących lipazy trzustkowej.

Lipaza występująca w wątrobie jest podobnym, ale pod pewnymi względami różnym enzymem w porównaniu z lipazą trzustkową. Badania porównawcze W i l l s t ä t t e r a, M e m m e n a W a l d s c h m i d t - L e i t z a i E. A. S y m a wskazują na pewne różnice w działaniu tych enzymów. Mianowicie stwierdzono, że lipaza wątrobowa w porównaniu z lipazą trzustkową, żołądkową i jelitową wykazuje większe zdolności esterazowe, a słabiej działa lipolitycznie. Stąd niektórzy autorzy wyodrębniają definicję lipazy i esterazy. Lipazami nazywają enzymy katalizujące hydrolizę i syntezę

glicerydów wyższych kwasów tłuszczowych. Esterazy właściwe są nastawione na proste estry niższych kwasów alifatycznych i alkoholi jednowodorotlenowych.

Badania E. A. S y m a dowiodły, że zarówno działanie lipolityczne jak i estryfikujące należy przypisać jednemu i temu samemu enzymowi, występującemu w różnych organach. Zasadnicza różnica między lipazami przewodu pokarmowego (trzustkową, żołądkową i jelitową) a lipazą wątrobową polegałaby, według tego autora, na tzw. specyficzności względnej. W odróżnieniu od bezwzględnej specyficzności względna polega na jednakowym zakresie działania na substraty dwóch rozważanych enzymów i na różnym nastawieniu tychże względem poszczególnych substratów. Różne nastawienia wywołują różnice w szybkościach reakcyj.

Wiele jest prac z zakresu zdolności syntetyzujących lipazy trzustkowej, badania zaś nad zdolnościami syntetyzującymi lipazy wątrobowej noszą charakter fragmentaryczny i były wykonane tylko na niektórych prostych związkach.

Dlatego też w niniejszej pracy postawiono sobie za zadanie przebadać zasięg enzymatycznych działań lipazy wątrobowej. Jeżeli lipaza wątrobowa różni się tylko specyficznością względną od lipazy trzustkowej, wtedy zakres działania obu lipaz powinien być ten sam, a różnica polegałaby jedynie na względnych szybkościach syntez i hydroliz.

M e t o d y k a

1. Otrzymanie suchego preparatu z wątroby.

Celem otrzymania preparatu zawierającego lipazę wątrobową zmielono na zwykłej maszynie do mięsa świeżą, surową wątrobę świni. Miążgę zadano 5-krotną ilością acetonu i mieszano dokładnie przez 20-cia minut. Następnie miążgę wyciśnięto, przeniesiono do drugiego naczynia i powtórnie zadano 5-krotną ilością acetonu, mieszając od czasu do czasu przez 2 godziny. Powyższy zabieg ma za zadanie uwolnić preparat od związków tłuszczowych i wody. Tak przemyty preparat wyciskano i suszono na powietrzu, rozkładając cienkimi warstwami na arkuszach bibuły. Wyszuszony preparat, zawierający dość grube grudki, przepuszczano przez młynek. Proszek gruboziarnisty w ten sposób przygotowany można przechowywać latami, ponieważ aktywność takiego preparatu nie ulega zmianie.

2. Skład układów.

Wszystkie reakcje przeprowadzano w środowisku rozpuszczalników organicznych. Zależnie od rozpuszczalności substratu używano benzenu lub acetonu. Jedynie w wypadku hydrolizy dodawano do acetonu wody, ponieważ bierze ona udział w reakcji rozszczepiania estrów. Obliczoną ilość alkoholu i kwasu, ewentualnie wody, odważano lub odmierzano, wlewano do cylindra miarowego i dopełniano acetonem lub benzenem najczęściej do 30 albo 50 ml. Roztwór dokładnie mieszano i przelewano do kolby Erlenmayera o objętości 150 ml, do której dodawano ściśle określoną ilość preparatu wątrobowego, najczęściej 3 lub 4 g. Naczynia natychmiast korkowano. Po kilkakrotnym silnym wstrząśnięciu ręką kolby stawiano ukośnie. Po osadzeniu się części stałych na dnie kolby, co się odbywa bardzo szybko, ściągano ostrożnie za pomocą pipety z górnej, przezroczystej warstwy 5 lub 10 ml klarownego płynu, który wlewano do naczynia celem oznaczenia kwasowości. Pozostały układ ze względu na łatwe ulatnianie się benzenu i acetonu, zwłaszcza w temperaturze termostatu, zawsze szczelnie zamknięto i korek zabezpieczano drutem. Układ stawiano do termostatu Köhlera o temperaturze 38°. Po 24 godzinach pobierano nową porcję do oznaczenia. Dalsze zaś pomiary, zależnie od stopnia szybkości reakcji, wykonywano po 3—7—14—20 dniach, a nawet, po miesiącu. Ponieważ wstrząsanie przy badaniach kataliz niejednorodnych odgrywa dużą rolę, a brak było urządzeń mechanicznych, gwarantujących równomierne mieszanie w ciągu 2—3 tygodni — wstrząsano kolby umieszczone w termostacie od czasu do czasu ręcznie. Starano się doprowadzić estryfikację do równowagi, ale przy długotrwałych badaniach nie zawsze się to udawało. W razie podejrzenia o inaktywację dodawano powtórnie ściśle odważoną ilość preparatu wątrobowego.

3. Sposoby oznaczenia szybkości reakcji i stopnia estryfikacji.

Aby wykazać zmiany chemiczne, zachodzące w danym układzie przy katalitycznym działaniu lipazy, możemy albo oznaczać zmiany w kwasowości środowiska albo określać ilość powstałego estru lub też stosować trzeci sposób opracowany przez Czugaiewa i Cerewitina, a po raz pierwszy wprowadzony do badań nad lipazami przez E. A. Syma. Za pomocą ostatniej metody oznacza się ubytek lub przyrost grup OH pochodzenia alkoholowego.

W niżej opisanych doświadczeniach stosowano przeważnie pierwszy sposób, czasem drugi. Przy oznaczaniu kwasowości układu pobrane za pomocą pipety 5 lub 10 ml klarownego płynu, miareczkowano 0,1 n NaOH w alkoholu w obecności fenoltaleiny, jako wskaźnika. Ubytek kwasu wskazywał na stopień estryfikacji. Ponieważ sam preparat wątrobowy zakwasza nieco układ, przeprowadzano kontrolę z dodatkiem wszystkich składników oprócz kwasu. Wyniki uwzględniano jako poprawki przy obliczaniu liczb

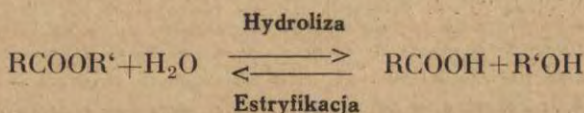
otrzymanych w doświadczeniach głównych. Przy hydrolizach otrzymywano przyrost kwasu i tu także uwzględniano kontrolę. Stopień estryfikacji, podobnie jak i stopień hydrolizy obliczano w procentach ze stosunku zestryfikowanego względnie zhydrolizowanego kwasu do ogólnej ilości kwasu.

Stosując drugą metodę celem bezpośredniego obliczenia ilości estru, miareczkowano 10 ml. badanego płynu 0,5 n NaOH w alkoholu w obecności fenolfталiny jako indykatora. Po miareczkowaniu dodawano nadmiar 0,5 n NaOH w ilości ściśle określonej np. 25 ml. Zmydlano na łaźni wodnej pod chłodnicą zwrotną przez pół godziny. Nadmiar ługu po zmydleniu oznaczano 0,5 n HCl. Ubytek ługu wskazywał na ilość zmydlonego estru.

Liczby otrzymane za pomocą obu metod były zgodne, leżały, zazwyczaj w granicach błędu doświadczalnego

C z ę ś ć d o ś w i a d e z a l n a

Lipazy katalizują reakcję hydrolityczną, przebiegającą według wzoru:



Substratami wchodzącymi w skład tej reakcji odwracalnej i dwucząsteczkowej są: ester i woda z jednej strony oraz kwas i alkohol z drugiej strony.

Chcąc zbadać zasięg działania syntetyzującego lipazy wątrobowej, należałoby zestawić szereg kwasów oraz szereg alkoholi i z każdym z przedstawicieli kwasów syntetyzować poszczególne alkohole. Jest jednak rzeczą znaną, że względne szybkości reakcji syntezy estrów przy stosowaniu różnych alkoholi i jednego kwasu (lub odwrotnie) są niezależne od rodzaju stosowanego kwasu (E. A. Sym). Na podstawie tego można uprościć doświadczenia, wybierając jeden kwas do syntezy estrów różnych alkoholi i jeden alkohol do syntezy estrów różnych kwasów. Tak też postąpiono w niniejszych doświadczeniach. Hydrolizę zaś przeprowadzono na estrach glukozy, mannitolu i erytrytolu.

A. Syntezy estrów kwasu masłowego z różnymi alkoholami.

Jako stały składnik kwasowy wybrano kwas masłowy, a to z tych względów, że estryfikuje się dość szybko (w porównaniu z niższymi homologami) i nawet w dużych koncentracjach ma słabe własności inaktywujące. Z pośród różnych alkoholi używano do reakcji alkoholi jedno-, dwu-, trój- i wielowodorotlenowych o różnej zawartości atomów węgla w łańcuchu, poza tym używano alkoholi hydroaromatycznych, nienasyconych i aldehydoalkoholi. Używano także zestryfikować fenole, lecz substraty te przy używanym składzie układów bardzo szybko inaktywowały enzym i tym samym zmusiły do zaniechania doświadczeń.

Tab. I

Syntezy estrów glikolowych w porównaniu z etanolem.

Skład układu: kwas masłowy 0,25 n. Alkohole 1 m. Środowisko acetonu 98%. Objętość 50 ml. Preparatu lipazy wątrobowej 4 g. T 38,2° C.

Synthesis of glycol esters comparing with ethanol.

Composition of system: 0,25 n butyric acid, alcohols 1 m. Aceton's medium 98%. Volumen 50 ml. Liver esterase prep. 4 g. T 38,2 C.

Alkohole — <i>alcohols</i>	Czas <i>Time</i>			
	24h	72h	7 dni <i>days</i>	14 dni <i>days</i>
Etanol	27*	59*	78*	78*
Glikol etylenowy	16	27	27	27
Glikol fenylotylenowy	9.9	11.6	11.7	11.7

*) Osiągnięte stopnie syntez estrów podawane w procentach zestryfikowanego kwasu, po różnym upływie czasu.

W tablicy I zestawiono wyniki reakcji syntezy przeprowadzonej w układach, zawierających etanol — $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$, glikol etylenowy — $\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$, glikol fenylotylenowy — $\text{C}_6\text{H}_5\text{CHOHCH}_2\text{OH}$ w obecności kwasu masłowego. W konfiguracji strukturalnej zachodzą duże różnice między tymi związkami. Etanol ma jedną grupę OH. Glikol etylenowy posiada dwie grupy wodorotlenowe zdolne do estryfikacji. Glikol fenyl-

loetylenowy posiada także dwie grupy wodorotlenowe oraz rodnik fenyłowy. Jak widać z zestawienia obecność drugiej grupy hydroksylowej w glikolu etylenowym utrudnia reakcję syntezy w porównaniu z etanolem. Grupa fenyłowa w glikolu aromatycznym wpływa jeszcze bardziej hamująco na syntezę.

Tab. II

Estryfikacja glikoli propylenowych w porównaniu z propanolem.

Skład układu: Kwas masłowy 0.25 n. Alkohole 0.5 m. Środowisko acetonu 98%, Objętość 50 ml. Preparatu lipazy wątrobowej 4 g, T 38,2° C.

Esterification of propylene glycols compared with propanol.

Composition of system: 0,25 n. butyric acid. Alcohols 0,5 n. Aceton's medium 98%. Volumen 50 ml, Liver esterase 4 g, T 38,2° C.

Alkohole — Alcohols	Czas		Time	
	24h	96h	11 dni days	26 dni days
n-propanol	14,6	40	72	74
izo-propanol	4,7	11,7	20,5	25,5
glikol propylenowy 1,3	—	13,3	16,2	16,
glikol propylenowy 1,2	7	9,3	10,7	12,4

Do syntez użyto alkoholi i glikoli o trzech atomach węgla w cząsteczce. Różnica strukturalna pomiędzy poszczególnymi alkoholami i glikolami polega na różnym rozmieszczeniu grup wodorotlenowych. Z porównania stopni estryfikacji, podanych w tabeli, widać dokładnie jaki wpływ na reakcje ma pozycja grupy OH. Biorąc pod uwagę n-propanol $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{—CH}_2\text{OH}$ i izo-propanol $\text{CH}_3\text{CHOHCH}_3$ widzimy, że po 24 godzinach w drugim wypadku mamy znacznie mniejszy procent estru. Gdy n-propanol dał 14,6% syntezy, to izo-propanol zaledwie 4,7. Podobnie maksymalny procent syntezy maślanu n-propanolu wynosił 74, a dla maślanu izo-propanolu zaledwie 25,5. To spostrzeżenie łączy się ze znanym faktem, że alkohole drugorzędowe zawsze wolniej ulegają estryfikacji. Glikole propylenowe trudniej się wiążą z kwasem masłowym niż propanole. Zjawisko to nie ma dokładnego wyjaśnienia. Przy

obecności dwóch grup wodorotlenowych różnie rozmieszczonych możnaby sądzić, że istnieje większe prawdopodobieństwo kontaktu pośredniego lub bezpośredniego z grupą kwasową. Jednak wyniki doświadczeń przeczą takiemu przypuszczeniu.

Glikol propylenowy 1—, 3 — $\text{CH}_2\text{OHCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ wykazuje większą szybkość reakcji i większy procent syntezy, niż glikol propylenowy — $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OHCH}_2\text{OH}$ z grupami OH w pozycji 1-,2-. Gdy ten ostatni osiągnął 12,4%, to w tych samych warunkach glikol propylenowy 1-, 3-, osiągnął 16,2% syntezy.

Tab. III

Szybkości i stopnie estryfikacji kwasu masłowego z alkoholami o 4 atomach węgla i o różnej ilości grup wodorotlenowych w cząsteczce.

Skład układu: kwas masłowy 0.25 n. Alkohole 3 m. (erytrytol w koncentracji 0.33 m.). Środowisko acetonu bezwodnego. Objętość 50 ml. Preparatu lipazy wątrobowej 4 g, T 38,2° C.

Velocities and degrees of esterification of butyric acid with different tetracarbonic alcohols.

Composition of system: 0.25 n. Butyric acid. Alcohols 3 m. (erythritol 0.33 m.). Medium of anhydric aceton. Volumen 50 ml. Liver Esterase prep. 4 g, T 38,2° C.

Alkohole — Alcohols	Czas Time			
	24 h	96 h	11 dni days	25 dni days
izo-butanol	29,5	78,5	87,5	93
glikol butylenowy 1,3	10	14,6	17,5	20,8
glikol butylenowy 2,3	zupełny brak syntezy			
erytrytol	9	28,6	28,6	60

Przy wyborze układów zebranych w tablicy III starano się uwzględnić alkohole o 4 atomach węgla w cząsteczce, różnej ilości grup wodorotlenowych i różnym rozmieszczeniu tych grup. Izo-butanol — $(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{OH}$ zawiera jedną grupę wodorotlenową. Glikol butylenowy 1—, 3—, $\text{CH}_3\text{CHOHCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ oraz glikol butylenowy 2—, 3—, $\text{CH}_3\text{CHOHCHOHCH}_3$ mają po dwie grupy wodorotlenowe umieszczone w różnych pozycjach. Erytrytol zaś o wzorze $\text{CH}_2\text{OHCHOHCHOHCH}_2\text{OH}$ ma aż

4 grupy hydroksylowe. Należy zaznaczyć, że izo-butanol jest właściwie izo-propanol-karbinolem, a więc alkoholem pierwszorzędowym i dlatego wykazał tak duże zdolności estryfikujące, mimo umieszczenia grupy wodorotlenowej w środku łańcucha. Natomiast glikol butylenowy 2—, 3—, posiada aż dwie grupy wodorotlenowe drugorzędowe i w naszych warunkach doświadczalnych nie można było stwierdzić estryfikacji tego związku. Obserwując modele dwóch glikoli i wyniki ich estryfikacji możemy przypuszczać z dużym prawdopodobieństwem, że w glikolu butylenowym 1—, 3—, grupa hydroksylowa umieszczona w pozycji pierwszej ulega głównie estryfikacji, grupa w pozycji trzeciej najprawdopodobniej została nienaruszona, podobnie jak poszczególne grupy w glikolu butylenowym 2—, 3—.

Z pośród wymienionych syntez, zebranych w tej tablicy, najciekawszą jest synteza erytrytolu. Alkohol ten analogicznie do glicerolu wykazuje zdolność tworzenia estrów. Alkohole o 5-ciu lub 6-ciu grupach wodorotlenowych już tej zdolności w naszych warunkach doświadczalnych nie wykazały. Należy zwrócić uwagę, że szybkość i stopień estryfikacji erytrytolu są daleko większe niż w glikolu 1—, 3—, i maksymalny procent syntezy wynosił 60.

W tablicy IV zestawiono wyniki enzymatycznych estryfikacji glikoli stosowanych w poprzednich doświadczeniach, użytych w niższych koncentracjach. Bardzo możliwe, że niektóre glikole specjalnie łatwo działają hamująco na lipazę wątrobową. Z doświadczeń wynika, że przy koncentracji 0,25 m osiągnięty stopień syntezy oraz szybkość reakcji są daleko wyższe niż przy 0,5 m.

Celem zbadania wpływu wiązań nienasyconych obserwowano estryfikacje n-propanolu — $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ i alkoholu allylowego $\text{CH}_2=\text{CHCH}_2\text{OH}$. Oba alkohole posiadają tę samą ilość atomów węgla, różnica jest tylko w wiązaniach. Obecność wiązań nienasyconych nie zmienia stopnia estryfikacji kwasu, wpływa jednak na szybkość reakcji. Po 22 dniach procent związanego kwasu z alkoholem allylowym wynosił 53, gdy n-propanol już po 15 dniach związał 63% kwasu. Ostateczny stopień estryfikacji dla obu alkoholi jest prawie równy (w granicach błędu doświadczalnego; dla propanolu wynosi 74 dla alkoholu allylowego 72%. (Tab. V).

Tab. IV

Stopień estyfikacji kwasu masłowego w zależności od koncentracji różnych glikoli.

Skład układu: kwas masłowy 0,25 n. Glikole w różnych koncentracjach 0,25 m. lub 0,5 m. Środowisko acetonu bezwodnego. Objętość 50 ml. Preparatu lipazy wątrobowej 4 g, T 38,2° C.

Influence of the concentration of different glycols on the degree of esterification of butyric acid.

Composition of system: 0,25 butyric acid. Glycols 0,25 m. or 0,5 m. Medium of anhydric acetone. Volumen 50 ml. Liver esterase prep. 4 g, T 38,2° C.

Glikole Glycols	Czas Time		0,25 molar.			0,5 molar.		
	24 h	96 h	6 dni days	24 h	96 h	6 dni days		
Etylenowy	6,9	27	27	8,7	18	18		
Propylenowy 1,2	8,1	19,8	19,3	4,7	11,8	15,7		
Propylenowy 1,3	12,4	37	38	7,1	9,3	9,3		
Butylenowy 1,3	14,7	43,5	43,5	—	—	—		

Tab. V

Porównawcze szybkości oraz stopnie estyfikacji propanolu i alkoholu allylowego.

Skład układu: kwas masłowy 0,25 n. Alkohole 0,5 m. Środowisko benzenu. Objętość 50 ml. Preparatu lipazy wątrobowej 3 g, T 38,2° C.

Comparative velocities and degrees of esterification of propanol and allyl alcohol

Composition of system: 0,25 n. butyric acid. Alcohols 0,5 m. Medium of benzen. Volumen 50 ml. Liver esterase prep. 3 g, T 38,2° C.

Alkohole Alcohols	Czas Time			
	7 dni days	15 dni days	22 dni days	26 dni days
n-propylowy	17	63	72	74
allylowy	15	40	53	72

Tab. VI

Zestawienie porównawcze szybkości oraz stopni syntezy estrów kwasu masłowego z alkoholami hydroaromatycznymi i alifatycznymi.

Skład układu: Kwas masłowy 0.5 n. Alkohole 1 m. Środowisko benzenu. Objętość 50 ml. Preparatu lipazy wątrobowej 2 g, T 38,5° C.

Comparative velocities and degrees of esterification of butyric acid with hydroaromatic and aliphatic alcohols.

Composition of system: 0.5 n. butyric acid. Alcohols 1 m. Medium of benzen. Volumen 50 ml. Liver esterase prep. 2 g, T 38,5° C.

Alkohole alcohols	Czas Time		
	24 h	72 h	21 dni days
izo-amylowy	18,5	82	100
II rzęd. n-pentanol 3	13,8	44,7	—
cyklopentanol	6,3	15,2	91
cyklohexanol	14,7	23,2	79

Badając alkohole o 5-ciu atomach węgla w łańcuchu, użyto do doświadczeń alkoholu izo-amylowego $(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$, n-pentanolu drugorzędowego, czyli dwuetylkarbinolu $\text{C}_2\text{H}_5\text{CHOHC}_2\text{H}_5$ oraz cyklopentanolu, to jest alkoholu o 5-ciu atomach węgla i zamkniętym łańcuchu — $\text{C}_5\text{H}_9\text{OH}$; dla porównania z tym ostatnim użyto alkoholu hydroaromatycznego o 6 ciu atomach węgla, cyklohexanolu, o wzorze sumarycznym $\text{C}_6\text{H}_{11}\text{OH}$. (Tabl. VI).

W związku pierwszym jako alkoholu pierwszorzędownym jest grupa OH na końcu. Alkohol drugi ma grupę OH w środku łańcucha. W tym zestawieniu najszybciej ulegał syntezie alkohol izo-amylowy, wykazujący już po trzech dniach 82% syntezy, a po trzech tygodniach 100%. Drugorzędowy n-propanol 3, jak wogóle alkohole drugorzędowe, estryfikował się znacznie wolniej. Alkohole hydroaromatyczne syntetyzują się dość dobrze, chociaż wolniej aniżeli alkohole alifatyczne. Z nich cyklohexanol szybciej ulegał estryfikacji i osiągał 79% syntezy, cyklopentanol wolniej ulegał estryfikacji, ale osiągnął 91% syntezy. Porównując wspomniane na wstępie silne włas-

ności inaktywujące fenoli i dosyć wysoki stopień estryfikacji alkoholi hydroaromatycznych widzimy jaką rolę w syntezie estrów wykonanej na drodze enzymatycznej odgrywa uwodnorodowanie wszystkich węgli fenolu.

Do nieudanych syntez należy zaliczyć estryfikacje glicerozy, mannitolu i glukozy.

B. Syntezy estrów alkoholu izo - amyłowego, względnie izo - butylowego z różnymi kwasami.

W tej grupie doświadczeń używano stale alkoholu izo-butylowego lub izo-amyłowego i dodawano różnych kwasów organicznych. Syntezy niektórych prostych estrów za pomocą lipazy wątrobowej otrzymali R o n a i M ü h l b o c k, następnie F a b i s c h, który śledził specyficzność stereochemiczną lipaz. Ten ostatni autor estryfikował głównie izomery cis i trans niektórych kwasów z różnymi alkoholami np. kwas fumarowy i maleinowy, oleinowy i elaidynowy, erukowy i brazydynowy.

W niżej podanych doświadczeniach stosowano do estryfikacji kwasy, których do tej pory wogóle nie badano za pomocą estryfikacyj enzymatycznych lub też katalizowano inną lipazą. Tą drogą E. A. S y m i W. Ś w i ą t k o w s k a, stosując lipazę trzustkową, otrzymali estry alkoholu butylowego z kwasem malonowym, bursztynowym, glutarowym, mlekowym i salicylowym.

W tablicy VII zestawiono wyniki charakteryzujące zdolności estryfikujące lipazy w stosunku do kwasu pyrogronowego $\text{CH}_3\text{COCO}_2\text{H}$ i mlekowego $\text{CH}_3\text{CHOHCO}_2\text{H}$. Z zestawienia widać, że synteza łatwiej postępuje z ketokwasem propionowym, niż z oksykwasem o tej samej ilości atomów węgla w łańcuchu. Dodatek enzymu po 7 dniach reakcji wpływa na podniesienie stopnia syntezy w układzie z kwasem pyrogronowym. Natomiast nie zauważono zmian w układzie z kwasem mlekowym.

Jako kwasów aromatycznych użyto do estryfikacji enzymatycznej kwasu benzoowego — $\text{C}_6\text{H}_5\text{CO}_2\text{H}$, i salicylowego — $\text{C}_6\text{H}_4\text{OHCO}_2\text{H}$ i cynamonowego — $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}=\text{CHCO}_2\text{H}$.

Tab. VII

Porównawcze szybkości oraz stopnie estryfikacji kwasu pyrogronowego i mlekowego.

Skład układu: Kwasy 0.1 n. Alkohol izo-amylowy 1 m. Środowisko benzenu. Objętość 50 ml. Preparatu lipazy wątrobowej 3 g, po 7 dniach dodatek dalszych 2 g, T 38,5° C.

Comparative velocities and degrees of esterification of pyruvic and lactic acid.

Composition of system: 0.1 n. acids. Iso-amyl alcohol 1 m. Medium of benzen. Volumen 50 ml. Liver esterase prep. 3 g, and after 7 days additionally 2 g, T 38,5° C.

Kwasy Acids	C z a s Time		
	7 dni days	15 dni days	21 dni days
Pyrogronowy	55	63	63
Mlekowy	43	43	43

Tab. VIII

Estryfikacja kwasów aromatycznych z alkoholem izo-amylowym.

Skład układu: Kwasy 0.1 n. Alkohol 1 m. Środowisko benzenu. Objętość 50 ml. Preparatu lipazy wątrobowej 3 g, T. 38,5° C.

Esterification of aromatic acids with iso-amyl alcohol.

Composition of system: 0.1 n. acids. Alcohol 1 m. Medium of benzen. Volumen 50 ml. Liver esterase prep. 3 g, T. 38,5° C.

Kwasy Acids	C z a s Time		
	7 dni days	15 dni days	22 dni days
benzoesowy	7	13,6	17
salicylowy	16,5	29	31,4
cynamonowy	16	33	43

Poza tym starano się przeprowadzić reakcje z dwuzasadowym kwasem aromatyczn., t. j. z kwasem ftalowym $C_6H_4(COOH)_2$, ale zbyt mała rozpuszczalność tego związku w acetonie lub benzenie przeszkodziła doświadczeniom. Kwas cyna-

monowy estryfikuje się najszybciej z pośród danych kwasów aromatycznych i osiąga dość duży stopień syntezy, bo aż 43%. Kwas sylicylowy reaguje wolniej, a benzoesowy najwolniej, osiągając 17% estryfikacji. Na zakończenie doświadczeń nad estryfikacją różnych kwasów organicznych należy dodać, że w żadnym wypadku, mimo różnorodnych zmian w składzie układów, nie udało się zestryfikować za pomocą lipazy wątrobowej jakiegokolwiek kwasu aminowego.

C. Hydroliza octanów wielowartościowych alkoholi i glukozy
za pomocą lipazy wątrobowej.

K a s t l e, L o e w e n h a r t i E l v o v e badali hydrolityczne zdolności lipazy wątrobowej na octanie i maśle etylowym, D a k i n na racemicznych estrach kwasu migdałowego. W 20 lat później szkoła W i l l s t ä t t e r a, badając różnorodne zoolipazy i phytolipazy, wykonała wiele hydroliz estrów prostych alkoholi o 2, 3, 4 lub 5 atomach węgla z kwasem migdałowym, mlekowym, fenylloctowym używając do tych celów między innymi lipazy z wątroby świni. W i l s t ä t t e r i M e m m e n badali porównawczo metodą stalagmometryczną zdolności rozszczepiające lipazy wątrobowej i trzustkowej, używając do hydrolizy estru glicerolu i kwasu masłowego, maślanu metylu lub zwykłej oliwy. Ciekawe, że współpracownikom W i l l s t ä t t e r a udało się rozszczepić za pomocą lipazy wątrobowej estry prostszych aminokwasów. W niżej zestawionych doświadczeniach użyto do hydrolizy octanów erytrytolu, mannitolu i glukozy oraz dodatkowo próbowano rozszczepić estry aminokwasów.

Jak wynika z doświadczeń zestawionych w tablicy IX, lipaza wątrobowa jest zdolna rozkładać powyższe estry, co można było stwierdzić przez wzrost kwasowości środowiska.

Najsilniejsze zakwaszenie powstawało przy enzymatycznej hydrolizie czteroctanu erytrytolu i wynosiło 5,3% rozpadu ogólnej ilości estru. Pięciooctan glukozy był atakowany słabiej i hydroliza jego wyniosła 1,6%. Wyniki z sześcioctanem mannitolu mają mniejszą wartość, ponieważ są zbyt blisko granicy błędów doświadczalnych. Dla porównania należy

Tab. IX

Stopień hydrolizy niektórych estrów kwasu octowego i alkoholi wielowodorotlenowych oraz 5-cio octanu glukozy.

Skład układu: Czterooctan erytrytolu 2 g. Pięciooctan glukozy 2 g. Sześćoocctan mannitolu 4 g. Środowisko acetonu 98%. Wody 1 g. Objętość 30 ml.

Preparatu lipazy wątrobowej 4 g, T. 38,5° C.

Degree of hydrolysis of certain esters of acetic acid with polyhydroxyl alcohols and of pentaacetate of glucose.

Composition of system: Tetraacetate of erythritol 2 g. Pentaacetate of glucose 2 g. Hexaacetate of mannitol 4 g. Medium of 98% aceton. Water 1 g. Volumen 30 ml. Liver esterase preparat 4 g. T. 38,5° C.

Estry Esters	Procent hydrolizy po 14 dniach (w przeliczeniu na ogólną ilość estrów). <i>Percentage of hydrolysis after 14 days (in relation to the total amount of esters).</i>
Czterooctan erytrytolu	5.3%
Pięciooctan glukozy	1.6%
Sześćoocctan mannitolu	0.7%

nadmienić, że hydrolizująca zdolność lipazy trzustkowej jest kilkakrotnie większa i z trzustką otrzymano dość znaczne stopnie hydrolizy tych estrów.

Próbowano również rozłożyć na drodze enzymatycznej za pomocą lipazy wątrobowej takie estry aminokwasów jak np. chlorowodorek glikokolanu etylowego lub glutaminian dwuetylowy, lecz w obu wypadkach hydroliza nie wystąpiła. Również brak hydrolizy przy użyciu acetylocelulozy.

W n i o s k i

Z przeprowadzonych badań wynika, że zakres działania lipazy wątrobowej jest bardzo duży. Za pomocą tego enzymu można zestryfikować nie tylko proste alkohole i kwasy alifatyczne, ale także różne glikole, alkohole nienasycone, wielowodorotlenowe, aromatyczne oraz oksykwasy, ketokwasy, kwasy aromatyczne. Znane określenie E. Fischera, że enzym jest kluczem do skomplikowanego zamku, reprezentowanego przez substrat, w żadnym razie nie stosuje się do lipaz.

Zależnie od swej konfiguracji chemicznej, rozmieszczenia grup, obecności specjalnych wiązań lub rodników, jedne substraty estryfikują się łatwo, inne trudniej lub wcale.

Po zestawieniu wyników powyższej pracy z wynikami badań E. S y m a i jego współpracowników nad zakresem lipazy trzustkowej, należy przypuszczać, że te same układy które katalizuje lipaza trzustkowa, katalizuje także lipaza wątrobową, a te układy, które nie ulegają estryfikacji z lipazą trzustkową nie wykazują także reakcji z lipazą wątrobową.

A więc badania te, wykonane na obszernym materiale doświadczalnym, potwierdzają zapatrywania na działanie tych dwóch lipaz, wykazując, że zakres działania lipazy wątrobowej i trzustkowej jest identyczny, a różnica polega tylko na tak zwanej specyficzności względnej, zaobserwowanej przez wspomnianych autorów na prostszych układach.

S t r e s z c z e n i e

Zbadano zdolności syntetyzujące i hydrolizujące lipazy wątrobowej, stosując E. A. S y m a metodę estryfikacji w układach bezwodnych. Z pośród alkoholi udało się zestryfikować dość łatwo etanol, glikol etylenowy, n. propanol, izobutanol, erytrytol, alkohol allylowy, izo-amyłowy, cyklopentanol i cykloheksanol.

Trudniej postępowała estryfikacja glikolu fenylcetylenowego, izo-propanolu, glikolu propylenowego 1,3-glikolu propylenowego, 1,2-glikolu butylenowego, 1,3 i drugorzędowego n. propanolu. Przy czym zauważono, że łatwiej się syntetyzują glikole użyte w niższych stężeniach.

Do nieudanych syntez należy zaliczyć estryfikacje glicerozy, mannitolu i glukozy.

Z pośród kwasów zestryfikowano dość łatwo ketokwas — kwas pyrogronowy, oksykwas — kwas mlekowy, jednoczasodowy kwas aromatyczny — kwas benzoesowy, oksykwas aromatyczny — kwas salicylowy, nienasycony kwas aromatyczny — kwas cynamonowy. Natomiast nie udało się zsyntetyzować estrów kwasów aminowych.

Ponieważ estryfikacja mannitolu, glukozy oraz aminokwasów wypadła ujemnie, próbowano zhydrolizować estry tych związków za pomocą lipazy wątrobowej. Wykonano hydrolizę czteroocianu erytrytolu i pięcioocianu glukozy. Trudniej ulegał hydrolizie sześćoocian mannitolu.

Natomiast nie udało się rozłożyć acetylocelulozy i estrów kwasów aminowych.

Dzięki wykonanym badaniom stwierdzono olbrzymi zasięg działania syntetyzującego lipazy wątrobowej, najprawdopodobniej identyczny z zasięgiem działania lipazy trzustkowej. Wykazano, że jedne substraty ulegają łatwiej estryfikacji, inne słabiej lub wcale. Potwierdzono zapatrywania na różnicę działania lipazy trzustkowej i wątrobowej, polegającą na specyficzności względnej.

Panu Profesorowi E. A. Symowi składam serdeczne podziękowanie, za udzielenie mi tematu oraz cenne rady w czasie przeprowadzania badań.

Piśmiennictwo

- Bersin T. 1938. Lehrbuch der Enzymologie.
Dakin N. D. 1903. J. Physiol. **30** (253).
Fabisch W. 1931. Biochem. Z. **234** (84).
Jalander 1911. Biochem. Z. **36** (435).
Kastle J. H. and Loewenhardt A. S. 1900. Am. Chem. J. **31** (521).
Kastle J. H. and Loewenhardt A. S. and Elvole E. 1904. Am. Chem. J. **31** (521).
Oppenheimer C. Die Fermente und ihre Wirkungen.
Moser. 1902. Wschr. Brauerei. **29** (588).
Pottevin H. 1904. Comp. rend. **136** (767).
Rona 1927. Biochem. Z. **181** (49).
Rona, Michaelis. 1911. Biochem. Z. **31** (345).
Rona, Mühlbock 1930. Biochem. Z. **223** (130).
Sym E. A. 1928. Comp. rend. **99** (1011).
" " 1930. Biochem. J. **24** (1265).
" " 1931. Biochem. Z. **230** (19).
" " 1933. Biochem. Z. **258** (304).
" " 1933. Biochem. Z. **262** (406).
" " 1936. Biochem. J. **30** (609).
" " 1936. Enzymol. **2** (156).

- „ „ i Ś w i ą t k o w s k a. Enzymol. 2 (79).
„ „ 1937. Enzymol. 2 (107).
„ „ 1939. Enzymol 6.
„ „ i P r z y ł ę c k i 1939. Enzymol 6.
T a u b e r 1937. Enzyme Chemistry.
W i l l s t ä t t e r i M e m m e n H. S. 1924. Z. physiol. Chem.
138 (216).
W i l l s t ä t t e r u. K u m a g a w a. 1925. Z. physiol. Chem.
146 (151).
W a l d s c h m i d t - L e i t z. 1926. Die Enzyme.
P a r n a s 1937. Chemia i Fizjol. 1 i 2.

Równowaga utleniająco-redukująca i kwasowo-zasadowa
w jelicie ślepym u konia i w żwaczu u bydła.

*Oxidation-reduction and acid-base equilibrium in fluid contents
of horse's coecum and of cattle's rumen.*

S. Nyrek

(Zakład Chemii Ogólnej i Fizjologicznej Wydz. Weterynaryjnego Uniwersy-
tetu Warszawskiego)

Oxidation-reduction and acid-base equilibrium in fluid contents of horse's coecum and of cattle's rumen has been studied with potentiometric and partially colorimetric methods. In 56 cases of coecum and in 25 cases of rumen were found following average values of Eh and pH

	The coecum		The rumen	
	Eh (mv)	pH	Eh (mv)	pH
I in aerated conditions	+ 214	8.22	+ 205	8.16
II in aerobic conditions (without bubbling)	- 65	7.24	- 110	7.28
III in anaerobic conditions (under paraffin oil)	- 119	7.14	- 162	7.09
IV with nitrogen bubbling	- 214	8.36	- 282	8.41

In conditions most alike to „in vivo“ and „in situ“ ones (III) it was established negativ values of Eh.

It is believed that this result is connected with the action of desmolases and hydrolases.

A more precise conformity of Eh and pH values in both these media was stated.

Badania S ö r e n s e n a nad wpływem koncentracji jonów wodorowych na przebieg reakcyj enzymatycznych oka-

zały się nadszpiewanie owocne i znalazły poza enzymologią szerokie zastosowanie w wielu innych gałęziach biologii i medycyny. Dziś w różnych dziedzinach nauk przyrodniczych i w życiu praktycznym jest należycie oceniane znaczenie równowagi kwasowo - zasadowej. Przy określaniu stopnia kwasowości jakiegoś środowiska zarzucono już od dawna niewiele mówiący podział na odczyny kwaśne i alkaliczne i wprowadzono sposób ścisłego definiowania odczynu w jednostkach pH, będących ujemnym logarytmem stężenia jonów wodorowych.

Natomiast w określaniu stanu utleniająco - redukującego często posługują się nadal niesprecyzowaną definicją warunków tlenowych lub beztlenowych. W dzisiejszym stanie wiedzy mamy już dokładnie opracowaną, chociaż jeszcze w życiu praktycznym nierozpowszechnioną, skalę pomiarową dla równowagi utleniająco - redukującej, wyrażaną w jednostkach rH lub Eh.

Z chwilą stwierdzenia, że procesy oksydo - redukcyjne można rozpatrywać w płaszczyźnie zjawisk elektrodynamicznych, metodyka badań w tej dziedzinie została uproszczona. Zamiast obliczeń w jednostkach rH, można wyrażać stan równowagi oksydo - redukcyjnej wprost w jednostkach napięcia elektrycznego (Eh), t. j. w voltach lub milivoltach. W tej pracy zastosowano jednostki Eh.

W ogólnym zarysie metodyki pomiaru potencjału utleniająco-redukującego wykazuje wiele podobieństw do sposobów oznaczania pH. I tu i tam można stosować oznaczenie potencjometryczne lub kolorymetryczne. Przy badaniach potencjałów oksydo - redukcyjnych są dziś szeroko stosowane obie metody. Zwłaszcza w ostatnich 15-tu latach przedwojennych wykonano wiele prac z dziedziny pomiarów potencjałów oksydo - redukcyjnych w ośrodkach biologicznych. Mierzono Eh komórek, tkanek, narządów, krwi krążącej, moczu, mleka, roztworów niektórych witamin i hormonów.

W enzymologii zaś, podobnie jak przed 30-tu laty było aktualne zagadnienie wpływu koncentracji jonów wodorowych na czynności enzymatyczne, tak dziś bardzo aktualnym tematem jest stwierdzenie zależności między optimum działania pewnych enzymów a potencjałem oksydo-redukcyjnym środowiska.

E. A. S y m podkreśla, że przy działaniu katalitycznym zaczynów oprócz stanu równowagi kwasowo - zasadowej ważną rolę odgrywają inne stany, np. równowagi utleniająco - redukcyjnej, równowagi sol/gel. Znaną jest rzeczą, że niektóre oksydoredukazy w obecności odpowiednich

substratów przyczyniają się do tworzenia określonego stanu utleniająco-redukującego środowiska. Najczęściej dehidrazy działają w środowisku redukującym, t. zn. przy niskich Eh, oksydazy zaś w środowisku utleniającym t. zn. przy wysokich Eh. Ale prócz tego we współczesnych badaniach enzymologicznych nagromadzono wiele faktów, przemawiających za tym, że nie tylko czynność oksydoredukaz, lecz także czynność całego szeregu hydrolaz jest zależna od potencjału redoksowego towarzyszących układów oksydo-redukcyjnych, a niektóre hydrolazy same są takimi układami. W tym przekonaniu utwierdziły enzymologów zwłaszcza badania nad wpływem glutationu i cysteiny na działanie niektórych hydrolaz. Stwierdzono bowiem, że w środowisku utleniającym takie enzymy jak papainaza, katepsyna, ureaza, arginaza zupełnie nie działają; natomiast wykazują swoją aktywność po przeniesieniu ich do warunków redukujących. Innymi słowy wysoki potencjał oksydo-redukcyjny wykazuje na te enzymy wpływ inaktywujący, a niski potencjał wpływ aktywujący. Warto nadmienić, że ostatnio Pantchenko-Jurewicz i badacze angielscy dopatrują się w budowie lipazy trzustkowej obecności pewnych grup o właściwościach systemu oksydo-redukcyjnego.

Wobec powyższych poglądów poznanie warunków oksydo-redukcyjnych środowisk, w których działają hydrolazy trawienne ma pierwszorzędne znaczenie. A ponieważ w świetle przewodu pokarmowego ma miejsce cały szereg reakcyj hydrolytycznych, zbadanie więc poziomu oksydo-redukcyjnego tego środowiska jest wielce interesującym.

Naogół dobrze znane są wartości pH w różnych odcinkach przewodu pokarmowego u różnych gatunków zwierząt, natomiast wartości Eh tych środowisk są prawie nieznanne.

Niniejsze badania mają na celu określenie warunków utleniająco-redukcyjnych w pewnych odcinkach przewodu pokarmowego zwierząt domowych. Autorowi chodziło o zbadanie, jak dalece redukujące warunki panują w świetle przewodu pokarmowego i jakim przesunięciom ulega równowaga utleniająco-redukująca pod wpływem pewnych zabiegów, związanych z przygotowaniem treści jelitowej do badań enzymatycznych.

Porównywano celowo warunki oksydo-redukcyjne treści żwacza u bydła i jelita ślepego u konia, a to z tego względu, że oba wymienione odcinki przewodu pokarmowego trawożernych wykazują podobieństwo w swych funkcjach fizjologicznych i mają wielkie znaczenie w ogólnym procesie trawie-

nia. Zarówno jelito ślepe konia, jak i żwacz bydła są olbrzymimi rezerwuarami, gdzie mają miejsce liczne procesy hydrolytyczne, prowadzące na drodze enzymatycznej do rozpadu złożonych składników pokarmowych na substancje prostsze i przyswajalne. Oprócz wielkiej liczby desmolaz, przeważnie pochodzenia egzogenne (bakteryjne i roślinne), biorą tu udział hydrolazy endogenne i egzogenne, katalizujące reakcje rozpadu białka, tłuszczów i węglowodanów.

K o l l a t h podaje, że już w górnych odcinkach przewodu pokarmowego znika tlen przyjęty w formie gazowej z pożywieniem i w dolnych odcinkach mamy warunki zdecydowanie „beztlenowe”.

Ten fakt, chociaż ma pierwszorzędne znaczenie ogólnie - biologiczne, do tej pory nie był odpowiednio podkreślany w enzymologii trawienia. W dolnych odcinkach przewodu pokarmowego istnieje specjalna flora bakteryjna, która posiada szczególną zdolność obniżania potencjału środowiska. Według badań H e w i t t a, przeprowadzonych na hodowlach *bact. coli*, drobnoustrój ten posiada zdolność obniżania potencjału pożywki nawet poniżej minus 400 mv. Zmiany w ilości lub jakości tej flory powodują różne komplikacje w prawidłowym działaniu przewodu pokarmowego. Przy komentowaniu przyczyn zaburzeń jelitowych, różnym czynnikom przypisuje się wpływ ujemny, ale rzadko zwraca się uwagę na zmiany potencjału utleniająco - redukującego środowiska.

T h. M o r e l badał zależność między potencjałem oksydo-redukcyjnym w jelitach uwarunkowanym przez prawidłową florę bakteryjną, a ilością witamin zresorbowanych przez ustrój. Fakt ten ma znaczenie przy rozpatrywaniu etiologii hypowitaminoz. Śledząc procesy oksydo-redukcyjne w przewodzie pokarmowym zwierząt domowych trzeba zwrócić uwagę także na ten fakt, że przy fermentacji zarówno w żwaczu u bydła jak i w jelicie ślepym u konia może uwalniać się duża ilość wodoru gazowego, który w obecności odpowiednich katalizatorów jest środkiem redukującym.

B e r g h e i m usiłował określić zdolności oksydo-redukcyjne treści przewodu pokarmowego i zużytkować dane dla diagnostyki i terapii chorób jelitowych. Badania te były przeprowadzane w okresie przed rozpowszechnieniem potencjometrii oksydo-redukcyjnej i autor śledził jedynie redukcję żelaza trójwartościowego na dwuwartościowe.

Zagadnienie równowagi utleniająco-redukcyjnej w świetle przewodu pokarmowego nie jest, jakby się pozornie zdawało, zagadnieniem czysto teoretycznym, ale może dostarczyć ciekawych wskazówek praktycznych. Chociaż niniejsze badania są jedynie próbą oznaczenia warunków utleniająco-redukujących w niektórych odcinkach przewodu pokarmowego zwie-

rząt, to jednak wyniki tych doświadczeń łącznie z wynikami enzymologicznych badań pozwalają wysnuć pewne wnioski o optimum warunków oksydo-redukcyjnych katalizy enzymatycznej w przewodzie pokarmowym i rzucają pewne światło na stan i zakres potencjałów oksydo-redukcyjnych tych środowisk.

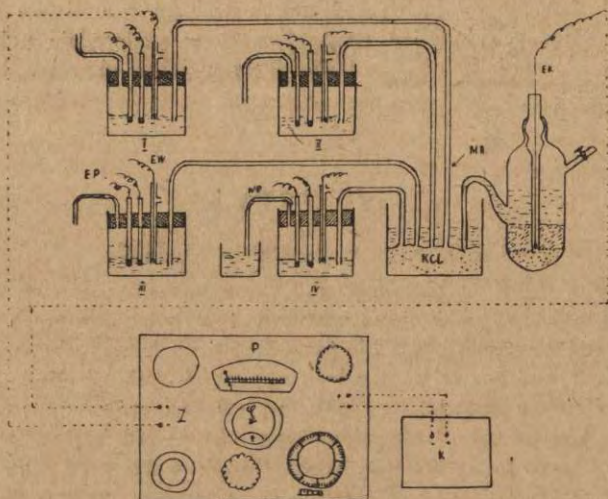
M e t o d y k a

1. Pobieranie materiału do pomiarów.

Do pomiarów potencjometrycznych i kolorymetrycznych używano płynnej treści zwacza u bydła lub jelita ślepego u konia. Preparat ten pobierano na rzeźni ze zwierząt zdrowych, poddanych ubojowi. Ponieważ zetknięcie się z powietrzem ma wpływ na równowagę kwasowo-zasadową, a tymbardziej na równowagę oksydo-redukcyjną, starano się pobrać materiał w warunkach beztlenowych, natychmiast po otwarciu jamy brzusznej zabitego zwierzęcia. Z początku usiłowano pobrać treść płynną zapomocą 20 ml. strzykawki „Record”, zaopatrzonej w szeroką igłę punkcyjną. Jednak metoda ta, mimo, że jest zalecana przez niektórych autorów, nie gwarantuje zachowania warunków beztlenowych. W tym celu zastosowano inny sposób. Nacinano ściankę jelita na długości 1 cm i przez ten otwór wprowadzano lewar szklany, napełniony płynną parafiną, pozbawioną tlenu. Lewar na zewnętrznym swym końcu zaopatrzony był w rurkę gumową ze ściśkaczem. Ścianę jelita wokół wprowadzonego lewara podwiązywano dokładnie, aby zapobiec przedostawaniu się powietrza z zewnątrz. Następnie zwalniano zacisk na rurce gumowej lewara i uciskano oburącz jelito. Płyn pod wpływem wzmożonego ciśnienia wypływał strumieniem do litowego naczynia, posiadającego 5-cio cm. warstwę płynnej parafiny. Gumowy koniec lewara stale znajdował się pod warstwą parafiny. W ten sposób pobrany płyn, unikając gwałtownego bełtania, przenoszono do zakładu, gdzie przy zachowaniu odpowiednich ostrożności nalewano do poszczególnych naczyń elektrodowych.

2. Wykonanie pomiaru potencjału oksydo-redukcyjnego na drodze potencjometrycznej i kolorymetrycznej.

Każde z naczyń, urządzone w sposób podany przez R o n ę i M i c h a e l i s a, było szczelnie zamknięte korkiem gumowym, w którym osadzono: 2 elektrody platynowe, służące do pomiarów potencjałów oksydo-redukcyjnych, jedną elektrodę wodorową, celem pomiaru pH, jeden mostek agarowy, jako łącznik oraz zależnie od potrzeby jedną rurkę odpływową, przez którą przechodził gaz przy płukaniu. Celem zbadania potencjałów



Rys. 1

Schemat urządzeń potencjometrycznych do badań oksydo-redukcyjnych.
Diagram of potentiometric Eh measurement.

I, II, III, IV patrz objaśnienia tablicy I (*see the table I*).

- EP — Elektrody platynowe (*Platinum electrodes*).
 EW — Elektroda wodorowa (*Hydrogen electrode*).
 EK — Elektroda kalomelowa (*Calomel electrode*).
 MA — Mostki agarowe (*Agar KCl bridges*).
 K — Akumulator (*Accumulator*).
 P — Potencjometr (*Potentiometer*).

oksydo-redukcyjnych w różnych warunkach posługiwano się jednocześnie czterema naczynkami elektrodowymi, które kolejno włączano do obwodu.

W pierwszym (I) naczynku płyn był przepłukiwany prądem powietrza zapomocą ssącej pompy wodnej, połączonej z rurką odpływową. W drugim (II) naczynku pomiaru dokonywano w normalnych warunkach dostępu powietrza, bez przewietrzania, bez przepłukiwania.

W trzecim (III) naczynku pomiaru dokonywano w warunkach beztlenowych, pod warstwą płynnej parafiny.

W czwartym (IV) naczynku przepłukiwano płyn badany prądem azotu specjalnie oczyszczonego od domieszek tlenowych w piecyku ze zredukowaną miedzią. Do tego celu najlepiej nadaje się urządzenie podane przez Michaelisa. Do wszystkich doświadczeń, w których określano potencjał w środowisku bezwzględnie beztlenowym, używano azotu oczyszczonego tą metodą. W każdym naczynku, celem określenia potencjałów oksydo-

redukcyjnych, odczytywano wartości w miliwoltach co 20 minut. Przyjmowano, zgodnie z wielu autorami, tę wartość za ostateczną, która przynajmniej w ciągu 20 minut była niezmienna. Do badań kolorymetrycznych Eh używano próżniowych rurek Thunberga oraz rozcieńczonych w stosunku 1:5000 roztworów tioniny (potencjał normalny + 60 mv.) błękitu metyloвого (+ 11 mv), sulfonianu indyga (— 46 mv), gallofeniny (— 142 mv) i czerwieni obojętnej (— 325 mv).

3. Określenie stężenia jonów wodorowych.

Ponieważ wartość potencjałów oksydo-redukcyjnych jest zależna od wartości pH, więc zawsze badano potencjometrycznie odczyn danego środowiska. W każdym naczynku elektrodowym była wmontowana elektroda wodorowa. Po ustaleniu potencjału oksydo-redukcyjnego włączano prąd wodoru i określano potencjał na elektrodzie czernionej, a wielkość pH obliczano ze wzoru lub też z tablic. Niektóre badania kontrolowano za pomocą elektrody wodorowej strzykawkowej wg. Marczewskiego, lub też za pomocą elektrody szklanej. Zwłaszcza ta ostatnia nadaje się specjalnie do badań w układach biologicznych, w których mogą występować łatwo rozkładające się związki chemiczne lub też substancje inaktywujące elektrodę wodorową. Do stosowania jej niezbędny jest jednak potencjometr lampowy, dlatego też zaledwie kilkadziesiąt ostatnich pomiarów pH wykonano przy użyciu elektrody szklanej, oraz ultrajonografu Wulf-Kordatzkiego. Nacógł elektroda wodorowa, bardziej kłopotliwa w użyciu, dawała wyniki podobne jak i elektroda szklana. Jako elektrody porównawczej, zarówno przy potencjometrii oksydo-redukcyjnej, jak i przy pomiarach pH używano elektrody kalomelowej nasyconej. Przy wykonywaniu większości pomiarów posługiwano się potencjometrem firmy Cambridge. Do sprawdzania aparatury używano standartu octanowego o pH 4.63.

4. Elektromiareczkowanie utleniające chinonem.

Do przeprowadzenia elektromiareczkowania za pomocą chinonu używano 10 ml. płynu, dostarczonego z rzeźni pod parafiną płynną i mieszano go z 1 ml. płynu buforowego fosforanowego o pH 7,2. Badania przeprowadzano w tych samych naczyniach co i poprzednie pomiary elektrometryczne z tą różnicą, że wprowadzono tu specjalną biuretę z płynem utleniającym. Treść z początku przepłukiwano oczyszczonym wodorem tak długo, aż ustalił się potencjał na elektrodzie platynowej czernionej. Następnie płukano azotem, aż potencjał wzrósł o 100 mv. Zamiast elektrody czernionej obserwowano od tej chwili elektrody platynowe gładkie, notując potencjał i dodając małymi dawkami nasycony na zimno roztwór chinonu, z którego uprzednio usunięto tlen.

D o ś w i a d e c z e n i a w ł a s n e

Oznaczenie wielkości Eh i pH w treści płynnej jelita ślepego
u konia i żwacza u bydła.

W toku doświadczeń zbadano warunki oksydo-redukcyjne i kwasowo-zasadowe, panujące w treści jelita ślepego u konia i w treści żwacza u bydła, stosując do tego celu metodę elektrometryczną, a w niektórych wypadkach i kolorymetryczną. Poza tym badano wpływ różnych zabiegów przygotowawczych (np. sączenie, wirowanie, ultra-sączenie) na stan potencjału oksydoredukcyjnego oraz przeprowadzono elektromiarczkowanie utleniające, stosując chinon jako utleniacz, ażeby zorientować się jakie zapasy redoksove są zawarte w badanych płynach. Wartość Eh podobnie jak pH odzwierciedla nam jedynie stan aktualny równowagi.

Wartości, zebrane w tabelicy I-ej, podają nam potencjał redoksovy treści jelita ślepego u konia. Celowo przeprowadzano jednocześnie badania w różnych warunkach, aby wykazać, jaki wpływ na potencjał mają warunki uboczne, towarzyszące doświadczeniu. Przy porównywaniu danych Eh, cytowanych przez różnych autorów, zawsze należy zwracać baczną uwagę na zespół warunków w jakich był określany potencjał, uwzględniając nawet kształt elektrod.

Liczby zebrane w rubryce III-ej tabelicy I-ej są najbardziej zbliżone do wartości „in situ”. Wszystkie ostrożności związane z pobieraniem, przenoszeniem i przelewaniem materiału mają na celu zachowanie takiego stanu równowagi utleniająco-redukcyjnej, jaki istnieje w warunkach normalnych w ustroju zwierzęcia.

Obserwując poszczególne przypadki, możemy zauważyć daleko idące wahania indywidualne i to w różnych warunkach oznaczenia. W powietrzu wahania wynosiły 82 mv., w zwykłej atmosferze 56 mv., pod parafiną 93 mv., a w prądzie azotu 105 mv., oscylując wokół średnich wartości, podanych w tabelicy I-ej w ostatnim wierszu. Stosunkowo najmniejsze wahania wystąpiły w powietrzu, co bynajmniej nie decyduje o wyższości tego sposobu określania nad innymi sposobami. Przeciwnie, mówiąc o potencjale oksydo - redukcyjnym, mie-

T a b l i c a I.

Wartość Eh treści płynnej jelita ślepego różnych koni w zależności od warunków, towarzyszących określeniu. (Eh values of fluid contents of the coecum of different horses in various experimental conditions).

I Wartości otrzymane w milivoltach przy przepłykiwaniu powietrzem. (Values obtained in milivolt in aerated conditions). II. w atmosferze powietrza bez przepłykiwania (in aerobic conditions without bubbling). III. w warunkach beztlenowych pod parafiną (in anaerobic conditions under paraffin oil). IV. Przy przepłykiwaniu prądem azotu (with nitrogen bubbling).

Nr dośw. of. exp.	Nr dośw of. exp.				Nr dośw. of. exp.				Nr dośw. of. exp.	Nr dośw. of. exp.							
	I	II	III	IV	I	II	III	IV		I	II	III	IV				
1	214	52	72	192	20	219	55	120	170	39	215	71	129	199			
2	240	92	104	200	21	211	85	151	255	40	211	49	121	251			
3	235	48	108	157	22	218	92	104	198	41	217	58	128	210			
4	158	36	146	258	23	210	55	128	176	42	203	64	151	238			
5	222	59	165	262	24	180	61	111	218	43	195	81	98	175			
6	210	88	115	211	25	160	40	101	241	44	218	39	124	212			
7	235	63	134	238	26	214	82	128	218	45	214	83	86	247			
8	175	88	104	224	27	219	92	135	204	46	214	81	125	217			
9	223	40	129	231	28	237	53	111	211	47	217	41	132	238			
10	240	48	118	165	29	229	53	127	252	48	229	85	139	213			
11	217	87	104	248	30	197	46	125	253	49	213	59	74	203			
12	240	77	118	218	31	231	90	145	216	50	195	49	111	201			
13	225	43	112	253	32	213	63	113	218	51	164	90	103	218			
14	218	65	135	181	33	211	45	108	207	52	227	46	117	213			
15	238	73	135	191	34	238	80	103	198	53	238	72	108	214			
16	215	83	130	257	35	227	48	130	167	54	213	63	115	188			
17	219	91	138	201	36	191	72	112	197	55	211	38	95	193			
18	214	46	112	208	37	201	74	116	211	56	237	63	100	212			
19	201	51	105	249	38	197	48	148	228	średnia average				214	65	119	214

T a b l i c a I I

Wartość pH treści płynnej jelita ślepego różnych koni w zależności od warunków, towarzyszących określeniu.

(*pH values of fluid contents of the caecum of different horses in various experimental conditions*).

I, II, III, IV p. objaśnienia do tabl. I — *see the table I.*

Nr dośw. <i>Nr of exp.</i>	I	II	III	IV
1.	8,21	7,09	7,07	8,36
2.	8,04	7,35	7,35	8,33
3.	8,37	7,13	7,13	8,42
4.	8,35	7,32	7,08	8,41
5.	8,13	7,33	7,10	8,27
6.	8,28	7,11	7,03	8,39
7.	8,03	7,35	7,13	8,41
8.	8,13	7,19	7,11	8,08
9.	8,15	7,20	7,10	8,12
10.	8,11	7,31	7,08	8,11
średnia <i>average</i>	8,22	7,24	7,14	8,36

Uwaga do tabl. II: Ponieważ głównym celem badań było określenie równowagi utleniająco-redukcyjnej, więc wartości pH chociaż były określane w każdym wypadku, podano jedynie w 10 przypadkach, mierzonych jednocześnie elektrodą wodorową i szklaną. W ostatniej rubryce podano średnie z 56 przypadków.

rzonym w normalnych warunkach dostępu powietrza, trzeba zawsze pamiętać, że tlen atmosferyczny wywiera wpływ na samą elektrodę i na równowagę utleniająco-redukującą układu.

Czym należałoby tłumaczyć te daleko idące wahania indywidualne? Tu może odgrywać rolę szereg czynników, ale decydujące znaczenie ma dieta i flora bakteryjna. Pod tym względem ciekawe są prace Kedrowa, który badał wpływ składu diety na intensywność procesów oksydo-redukcyjnych w treści poszczególnych odcinków jelit oraz w kale u szczurów. Przy badaniu na małych zwierzętach, autor ten był w szczególnie dogodnych warunkach, pozwalających badać „in situ”; wprowadzał bowiem wprost elektrodę do pętli jelitowych, dekapitowanych przed chwilą zwierząt. Z badań jego wynika, że w jelitach cienkich szczura, pozostającego na

diecie chlebno-mięsnej, panuje potencjał dodatni, a dopiero w jelicie grubym obniża się. Na diecie zasadowej potencjał treści jelit grubych szczura wahał się od — 115 do — 236 mv. Ciekawym było zbadanie wpływu zmniejszonego gnicia jelitowego na potencjał oksydo-redukcyjny.

Badania Frenkła i Lewickiej wykazały, że duże dawki czosnku (3 — 5%) dają znaczne obniżenie gnicia w jelitach. U szczura podanie czosnku obniżało stopień redukcji i zmieniało potencjał na bardziej dodatni, przesuwając go z granic zawartych między — 115 — 236 mv, do granic — 57 — 141 mv. Podobnie działa laktoza, która wykazała zdolność podwyższania potencjału nawet powyżej zera.

Próby obniżenia potencjału w jelitach nie dały narazie wyników pomyslnych, zawsze bowiem otrzymywano wartości takie jak przy diecie standartowej. Usiłowania Kedrowa idą dalej; autor ten dopatruje się zależności między potencjałem kału i potencjałem treści jelit i próbuje zależność tą wykorzystać do celów diagnostycznych.

W badaniach przeprowadzonych w tutejszym zakładzie nie było możności stosowania jednolitej diety u zwierząt poddawanych badaniom, najprawdopodobniej różnorodność paszy ma wpływ na potencjał treści.

Z pośród różnych wartości potencjałów otrzymanych w tabelicy I-ej dane zestawiane w kolumnie III-ej ilustrują nam, jak już wyżej wspomniano, chyba najdokładniej warunki oksydo-redukcyjne, panujące w świetle jelita grubego u konia. Dane kolumny II-ej są przez tlen atmosferyczny przesunięte „in plus“, zaś przepłukiwanie azotem przesuwa równowagę „in minus“. Średnia wartość potencjału treści pobranej w opisany sposób, oznaczana pod parafiną, wynosi — 119 mv. Dane otrzymane w naszych doświadczeniach stwierdzają, że istotnie potencjał w jelicie ślepych konia jest ujemny, ale niezbyt obniżony.

Wartości skrajne, t. j. potencjały określone w prądzie powietrza i w prądzie azotu wykazują wielką różnicę napięć, wynoszącą średnio 428 mv. Różnica potencjału, wynosząca prawie 0,5 volta może mieć wpływ na przebieg niektórych reakcyj enzymatycznych.

E. A. Sym badając wpływ optimum warunków oksydo-redukcyjnych na zdolności proteolityczne cędzonki, otrzymanej z jelita ślepego konia, doszedł do wniosku, że tego rodzaju reakcje hydrolityczne osiągają większą szybkość

przy dodatnim potencjale oksydo-redukcyjnym. Wyniki badań tego autora najlepiej ilustruje poniższe zestawienie.

Zabiegi	Potencjał w mv.	pH	Rozpad kazeiny w%	
			po 3 godz.	po 24 godz.
Przepuszczanie powietrza	+ 202	8,1	67	93
Przepuszczanie azotu	— 25	8,3	45	86
Warunki bezpowietrzne	— 200	7,5	39	79

Jak wiadomo potencjał układu zależy w dużym stopniu od temperatury i kwasoty środowiska. Celem uproszczenia doświadczeń potencjometrycznych nie stwarzano warunków dla temperatury 37 — 38°, odpowiadającej temperaturze ciała zwierzęcia, lecz badania przeprowadzono w ciepłocie pokojowej (18° — 21°C). Błędy powstałe z tego powodu są zawarte w granicach błędów doświadczalnych. Stale natomiast dokonywano pomiaru kwasoty środowiska. W warunkach najbardziej zbliżonych do warunków naturalnych, pH treści jelita ślepego jest zbliżone do 7. Przepłukiwanie jakimś gazem, obojętne czy to powietrzem czy azotem, wpływa nie tylko na równowagę oksydo-redukcyjną, ale usuwa także lotne wartości kwasowe, przede wszystkim dwutlenek węgla i dlatego plyn w takich warunkach wykazuje pH alkaliczne, wahające się między 8,04 — 8,42. Na ten moment zwrócił uwagę E. A. S y m w swej pracy, podkreślając ewentualną przyczynę podawania w literaturze zbyt wysokich wartości dla pH treści jelita ślepego u konia.

W niniejszych badaniach dokładnie śledzono pomiar kwasoty za pomocą elektrod opisanych powyżej. Przy zachowaniu odpowiednich ostrożności zawsze otrzymywano wartości dla pH treści jelita ślepego u konia, wahające się między 7,08 — 7,33.

Wartości, zestawione w tab. III i IV-ej są ogólnie biorąc bardzo zbliżone do danych, otrzymanych w poprzednich doświadczeniach.

Przy przepłukiwaniu powietrzem potencjał wynosił średnio + 205 mv. przy pH 8,16, a wahania indywidualne wynosiły zaledwie 16 mw. Natomiast wartości potencjałów,

otrzymane przy oznaczaniu w obecności powietrza wykazują u poszczególnych osobników daleko posunięte wahania indywidualne i leżą w granicach — 57 — 172 mv. Średnia wartość wynosi — 110 mv. przy pH 7,28. Pod parafiną potencjał oksydo-redukcyjny wynosił średnio — 162 mv. przy pH przeciętnym 7,09. Przy przepłukiwaniu azotem oczyszczonym po-

Tablica III

Wartości Eh treści płynnej żwacza różnych sztuk bydła w zależności od warunków towarzyszących.

(Values Eh of fluid contents of the rumen in various experimental conditions).

I, II, III, IV, patrz objaśnienia do tabl. I — see the table I.

Nr dośw. Nr of exp.	I	II	III	IV
1.	+ 201	— 154	— 160	— 306
2.	+ 210	— 132	— 212	— 226
3.	+ 215	— 36	— 185	— 252
4.	+ 199	— 172	— 102	— 309
5.	+ 201	— 57	— 161	— 317
6.	+ 210	— 87	— 201	— 248
7.	+ 212	— 123	— 109	— 297
8.	+ 203	— 49	— 187	— 289
9.	+ 201	— 158	— 147	— 317
10.	+ 200	— 135	— 168	— 271
11.	+ 203	— 127	— 183	— 312
12.	+ 208	— 89	— 211	— 283
13.	+ 214	— 115	— 167	— 281
14.	+ 207	— 143	— 147	— 247
15.	+ 200	— 72	— 105	— 290
16.	+ 201	— 125	— 109	— 311
17.	+ 200	— 115	— 211	— 247
18.	+ 208	— 148	— 148	— 258
19.	+ 199	— 82	— 199	— 312
20.	+ 208	— 85	— 155	— 301
21.	+ 203	— 118	— 208	— 297
22.	+ 207	— 137	— 155	— 242
23.	+ 215	— 95	— 167	— 252
24.	+ 201	— 111	— 111	— 278
25.	+ 199	— 81	— 152	— 315
średnio	+ 205	— 110	— 162	— 282

Tablica IV

Wartości pH treści płynnej żwacza różnych sztuk bydła w zależności od warunków towarzyszących określaniu.

Values pH of fluid contents of the rumen in various experimental conditions

I, II, III, IV, patrz objaśnienia do tabl. I. — (*see the table I*).

Nr dośw. <i>Nr of exp.</i>	I	II	III	IV
1.	8,19	7,12	6,94	8,20
2.	8,00	7,37	7,04	8,35
3.	8,24	7,28	7,12	8,39
4.	8,14	7,23	7,02	8,45
5.	8,25	7,43	7,32	8,65
średnia*) z 25 przypadków <i>average</i>	8,16	7,28	7,09	8,41

tencjał spadał w kilku wypadkach poniżej — 300 mv., a przeciętnie osiągał wartość — 282 mv. przy pH 8,41.

Różnica między potencjałem środowiska przepłukiwanego azotem a potencjałem środowiska nasyconego powietrzem wynosiła przeciętnie 487 mw., zaś indywidualnie w niektórych przypadkach przekroczyła 0,5 volta.

Porównując średnie wartości z tablicy I, II i tablicy III i IV-ej, zauważymy daleko idącą zgodność wyników zarówno w odniesieniu do warunków oksydo - redukcyjnych, jak i do pH. Zwłaszcza wielkości dla pH, mierzone w różnych warunkach są prawie identyczne. Różnica między pH treści żwacza i treści jelita ślepego występuje na drugim miejscu po przecinku i nie przekracza 0,05 jednostki pomiarowej. Warunki oksydo-redukcyjne treści żwacza zdają się być nieco przesunięte w kierunku zwiększonej redukcji. Podobieństwo warunków oksydo - redukcyjnych i kwasowo - zasadowych w tych odcinkach przewodu pokarmowego różnych gatunków zwierząt zda się być także jednym z szeregu dowodów, przemawiających za podobieństwem funkcjonalnym tych narządów.

*) Patrz uwagi do tab. II-ej.

Ponieważ jest ogólnie znaną wyższość metody elektrometrycznej, co już wielokrotnie zostało stwierdzone przy określaniu wykładnika jonów wodorowych, więc zasadniczo wyniki otrzymane na drodze elektrometrycznej, nie wymagają potwierdzeń za pomocą metod kolorymetrycznych.

Przerobione doświadczenia z barwnikami miały na celu między innymi stwierdzenie obecności enzymów, warunkujących zdolności redukcyjne badanych płynów ustrojowych.

Doświadczenia wykonano w zwykłych warunkach tlenowych, używając rurek Thunberga. 10 mililitrów płynu, pobranego ze żwacza krowy lub jelita ślepego konia, mieszano z 5-ma ml. roztworu odpowiedniego barwnika oksydo-redukcyjnego w stężeniu 1:5000 i zawartość po dokładnym wymieszaniu rozlewano do dwóch rurek Thunberga. Jedną z nich uprzednio ogrzewano do wrzenia, a po ostudzeniu obie rurki pozbawiono powietrza za pomocą pompy próżniowej. Całość wstawiono do termostatu. Odbarwienie następowało w rurce nieogrzewanej i świadczyło o tym, że potencjał oksydo-redukcyjny środowiska jest niższy od potencjału normalnego danego barwnika.

Wybierając stopniowo różne barwki ze skali oksydo-redukcyjnej, możemy znaleźć taki związek, który nie zmienia koloru i w ten sposób możemy ocenić poziom zdolności oksydo-redukcyjnych badanego środka.

W doświadczeniach kolorymetrycznych użyto najpierw roztworu tianiny o potencjale normalnym $+ 63$ mv. Odbarwienie następowało po 20 minutach. Równie szybko odbarwiał się roztwór błękitu metylenowego o potencjale $+ 11$ mv. Ponieważ średnia wartość potencjału oksydo-redukcyjnego w atmosferze powietrza, otrzymana na drodze elektrometrycznej, wynosi dla jelita ślepego konia $- 65$ mv., dla treści żwacza $- 110$ mv. użyto do doświadczeń roztworu czterosulfonianu indygotasowego o potencjale $- 46$ mv. Po 45-ciu minutach w próbówce nieogrzewanej następowało odbarwienie. Podobne zmiany występowały z barwikami o potencjale $- 100$ mv.

Taki wynik w odniesieniu do treści jelita ślepego zdaje się pozornie nie zgadzać z wynikami, otrzymanymi na drodze potencjometrycznej. Nie należy zapominać, że po usunięciu powietrza z rurki Thunberga, zmieniamy gruntownie uprzednie warunki oksydo-redukcyjne na korzyść silniejszej redukcji: stąd ta wzmożona zdolność redukcyjna. Z powodu dużych braków w skali barwików oksydo-redukcyjnych i z powodu różnego zachowania się roztworów równoważnikowych barwików o tym samym potencjale normalnym, lecz różnej strukturze chemicznej, nie zdołano uchwycić dolnej granicy odbarwiania. Dużą przeszkodą w tych doświadczeniach jest barwa własna soków jelitowych. Stwierdzono, że w żadnym

wypadku ani płynna treść żwacza, ani treść jelita nie powodowała odbarwienia roztworu czerwieni obojętnej (— 325 mv.).

Wpływ zabiegów przygotowawczych na potencjał oksydoredukcyjny.

Ponieważ S y m i jego współpracownicy przy swych badaniach nad różnymi hydrolazami używali treści jelitowej w rozmaity sposób przygotowanej, interesującym było zbadanie wpływu niektórych zabiegów przygotowawczych na poziom warunków oksydo-redukcyjnych treści jelitowej, pobranej i przechowywanej w zwykłych warunkach przy dostępie powietrza.

Cedzenie przez sito podwyższało potencjał z wartości ujemnych do + 50 mv. Sączenie przez bibułę dawało nieco wyższe wartości, w niektórych wypadkach przekraczające + 100 mv. Wirowanie w dużych probówkach 100 ml. z szybkością 3.000 — 4.000 obrotów na minutę, wpływało na podniesienie potencjału do + 160 mv., a ultra-sączenie dawało wartości jeszcze wyższe, bo około + 180 mv. Wartości, otrzymane dla treści jelita ślepego, niewiele różniły się od wartości otrzymanych dla treści żwacza. Płyn badany w jakiś czas po zabiegu sączenia czy też wirowania wykazywał tendencję do powrotu do warunków wyjściowych. Szybkość obniżania się potencjału była zależna z jednej strony od szybkości dyfuzji tlenu atmosferycznego, z drugiej od szybkości reakcyj katalizowanych przez dehidrazy danego ośrodka.

Elektromiarczkowanie utleniające treści płynnej żwacza u bydła i jelita ślepego u konia.

Do elektromiarczkowania używano urządzeń opisanych w części metodycznej. Po przepuszczeniu wodoru potencjał treści płynnej wynosił — 330 mv. Ciekawe, że po dodaniu palladu koloidalnego, jako katalizatora, potencjał w obecności wodoru nie obniżał się. Z tego należałoby sądzić, że w danym środowisku niema reakcyj, któreby mogły być aktywowane przez katalizator nieorganiczny.

Po przepłukaniu azotem potencjał na elektrodach platynowych gładkich wynosił — 226 mv. Po dodaniu 0,1 ml. chinonu potencjał gwałtownie

podniósł się do wartości $+ 110$ mv., przy dodawaniu dalszych ilości chinonu, potencjał zmieniał się, jak następuje:

0,25 ml. chinonu	—	potencjał wynosił	$+ 140$ mv.
0,35 „ „	—	„ „	$+ 178$ „
0,45 „ „	—	„ „	$+ 185$ „
0,55 „ „	—	„ „	$+ 186$ „
0,65 „ „	—	„ „	$+ 187$ „
0,75 „ „	—	„ „	$+ 188$ „
1,00 „ „	—	„ „	$+ 189$ „
2,00 „ „	—	„ „	$+ 198$ „
5,00 „ „	—	„ „	$+ 211$ „
10,00 „ „	—	„ „	$+ 214$ „
15,00 „ „	—	„ „	$+ 216$ „
20,00 „ „	—	„ „	$+ 218$ „
25,00 „ „	—	„ „	$+ 220$ „
30,00 „ „	—	„ „	$+ 224$ „
nadmiar „ „	—	„ „	$+ 234$ „

Obserwując przebieg miareczkowania należy podkreślić, że przy swoim poziomie oksydo-redukcyjnym, płyn ten zawiera wyjątkowo mało substancyj redukcyjnych, bowiem 0,1 ml chinonu zmienia natychmiast środowisko z $- 226$ mv. na $+ 110$ mv., czyli płyn ten jest słabo „zbuforowany“ pod względem oksydo-redukcyjnym. Zresztą podobnych obserwacji można było dokonać i w poprzednich doświadczeniach, gdzie już w pierwszej chwili przepłukiwania powietrzem potencjał gwałtownie wzrastał.

Podobne wyniki otrzymano przy elektromiareczkowaniu treści płynnej żwacza u bydła.

W n i o s k i

1. Pomiaru potencjałów oksydo-redukcyjnych na drodze elektrometrycznej są dobrą metodą definiowania warunków utleniająco-redukcyjnych płynnej treści jelitowej.

2. Zarówno w treści żwacza u bydła jak i w treści jelita ślepego u konia panuje ujemny potencjał oksydo-redukcyjny. Porównanie danych otrzymanych przy badaniach tych dwóch środowisk ujawnia daleko idącą zgodność wartości Eh i pH, co łącznie z podobieństwem reakcyj enzymatycznych jest

nowym i jeszcze jednym dowodem, przemawiającym za tożsamością funkcjonalną tych dwóch odmiennych anatomicznie odcinków przewodu pokarmowego różnych gatunków zwierząt.

3. Należy wnioskować, że zasoby redukcyjne środowiska są niezbyt wielkie, jeżeli przy elektromiarczkowaniu nasycony na zimno pięć-krotnie rozcieńczony roztwór chinonu w ilości 0,1 ml. zmienia nagle potencjał 10 ml. badanej treści o 336 mv. To wskazuje, że warunki redukcyjne są spowodowane raczej ciągłym dostarczaniem układów o wartości ujemnej, jako produktów stałego enzymatycznego działania dehydraz, a nie obecnością większej ilości związków zredukowanych, mogących stanowić pewnego rodzaju potencjalny rezerwuuar układów utleniająco - redukujących o wartości ujemnej.

4. Czynności przygotowawcze, jak sączenie, wirowanie mają duży wpływ na poziom otrzymanych wartości.

Streszczenie

Określono metodą potencjometryczną, a częściowo i kolorymetryczną, równowagę utleniająco-redukcyjną oraz kwasowo-zasadową zawartości płynnej jelita ślepego u konia i żwacza u bydła.

Otrzymano dla coecum z 56 przypadków i dla żwacza z 25 przypadków następujące średnie wartości dla Eh i pH.

	Jelito ślepe	Żwacz
I. Przy przewietrzaniu prądem powietrza	Eh + 214 mv. pH 8.22	Eh + 205 mv. pH 8.16
II. W atmosferze powietrza bez przepłukiwania	„ — 65 „ „ 7.24	„ — 110 „ „ 7.28
III. W warunkach bez-tlenowych pod płynną parafiną	„ — 119 „ „ 7.14	„ — 162 „ „ 7.09
IV. Przy przepłukiwaniu prądem azotu	„ — 214 „ „ 8.36	„ — 282 „ „ 8.41

Stwierdzono dla obu tych środowisk wartości ujemne dla Eh w warunkach najbardziej zbliżonych do stanu „in vivo“ i „in situ“, co wiąże się z czynnością desmolaz i hydrolaz.

Stwierdzono daleko idącą zgodność wartości Eh i pH dla obu tych środowisk.

Panu profesorowi dr. E. A. Symowi składam serdeczne podziękowanie za rady i wskazówki, których nie szczędził mi przy wykonywaniu tej pracy.

Piśmiennictwo

- B e r g h e i m. 1932. Biochem. Zurn. 8.
F r e n k e l i L e w i c k a, cyt. wg Kedrowa.
H e w i t t. 1936. Oxidation reduction potentials in Bacteriology
J ö r g e n s e n. 1935. Wasserstoffionenkonzentration (pH).
K e d r o w. 1935. Biochem Zurn. 9.
K o l a t h. 1935. Klin Wschr. 15 (1807).
M a r c z e w s k i i R o s n o w s k i. 1932. Med. Dośw. i Społ. 15.
M i c h a e l i s. Abderh. Biol. Arbm. Abt. V. T. 10. (685).
M a n g o l d. 1929. Hndb. Ernähr. u. Stoffw. 2.
M o r e l. 1938. Deutsche Med. Wschr. 16.
P a n t s c h e n k o - J u r e w i c z. 1934, 1936. Biochem. Z. 275 (114).
285 (407).
S ö r e n s e n. 1909, cyt. wg Jörgensen.
S y m. 1936. Biol. Lek. 15.
S y m. 1937. Podręcznik Chemii Fizjol. pod red. Parnasa.
S y m. 1938. Acta Biol. Exper. 12.
S y m. 1939. Wojsk. Przegl. Weter. 2.

O metodzie suszenia materiału biologicznego do badań biochemicznych.

Drying of Biological Materials for Biochemical Analysis

W. Niemierko

(Zakład Biochemii Instytutu im. M. Nenckiego w Łodzi)

The method of drying biological materials in vacuum over sulfuric acid described by Behrens has been proved and some modifications of it are proposed. The method gives satisfactory results, and it was found that after drying the amount of glycogen in silk worm larvae as well as Iodine Number of their fatty acids did not change.

Stosowane w dawniejszych badaniach biochemicznych suszenie materiału biologicznego za pomocą ogrzewania do stałej wagi w $t=105^{\circ}$, używane bądź do oznaczenia zawartości wody, bądź w celu przygotowania do dalszych analiz, bardzo często związane było z powstawaniem znacznych zmian w substancjach organicznych co powodować mogło zupełne zniekształcenie wartości uzyskiwanych wyników. Wielką wobec tego zasługą Behrensa było zwrócenie uwagi na opisaną w swoim czasie i zapomnianą metodę odwodnienia, która dawała gwarancję spowodowania znikomo małych zmian w analizowanych substancjach.

Badany materiał biologiczny, tkankę, narząd czy też ciecz umieszcza się w eksykatorze nad kwasem siarkowym i z eksykatora tego za pomocą próżniowej pompy olejowej usuwa się powietrze. Wskutek gwałtownego

parowania wody materiał oziębia się do temperatury poniżej zera i w tej właśnie temperaturze szybko zachodzi suszenie.

Prostota opisanej metody i teoretyczna słuszność założenia zachęciła nas do wypróbowania jej na materiale, będącym obiektem naszych własnych badań biochemicznych. Uzyskano zupełnie zadowalniające i zgodne z przewidywaniami wyniki. Ponieważ w trakcie tych analiz wyłoniły się drobne, szczegóły w technice postępowania, które mogą być źródłem błędów, przeto wydaje się nam celowym kilka słów temu poświęcić.

Zauważyliśmy mianowicie, że do kwasu siarkowego mogą się dostawać w czasie suszenia drobne ilości substancji organicznych (pył itd.), które ulegają utlenieniu, wobec czego wytwarza się z kwasu siarkowego i wydostaje się na zewnątrz dwutlenek siarki. Ten dwutlenek siarki, jako wybitnie redukujący środek, może powodować pewne zmiany w substancjach organicznych badanego suszonego materiału. Wydało się wobec tego celowym dodawanie do kwasu siarkowego w eksykatorze kryształków dwuchromianu potasu, w obecności którego dwutlenek siarki powstawać nie będzie. Drugim drobnym szczegółem, na który należy zwracać uwagę w czasie suszenia, jest to, że podczas gwałtownego opróżniania eksykatora wskutek parowania zawartych w kwasie siarkowym niewielkich ilości wody, wydostają się drobne pęcherzyki, które mogą następnie osiadać na badanym materiale. Aby temu zapobiec umieszczaliśmy w eksykatorze podwójną płytkę porcelanową, na którą kładło się krążek bibuły do sączenia. Zawsze stwierdzano przy tym po pewnym czasie poczernienie bibuły, wskazujące właśnie na działanie na nią drobnych kropelek wydostających się z H_2SO_4 .

Materiałem, który suszyliśmy metodą opisaną przez Behrensa, były gąsienice jedwabnika (*Bombyx mori*) i mola woskowego *Galleria mellonella*). Suszenie tych gąsienic do stałej wagi, przy częstym puszczeniu w ruch pompy olejowej i przestrzeganiu aby ciśnienie w eksykatorze nie podnosiło się powyżej kilku mm słupa rtęci — trwało jednak kilka do kilkunastu godzin. Ponieważ jednak większa część wody wyparowywała już w początkowych stadiach suszenia, wydaje się, że w obecności niewielkich jej ilości w dalszych okresach suszenia, w dodatku jeszcze w próżni w niskiej temperaturze, nie powinny mieć miejsca ani procesy enzymatyczne, ani też wpływy czynników fizycznych.

Wykonane przez nas oznaczenia zawartości glikogenu oraz liczby jodowej kwasów tłuszczowych w gąsienicach wysuszonych opisaną metodą i w analizowanych w stanie świeżym dały wyniki praktycznie biorąc identyczne.

Gąsienice *Bombyx mori* i *Galleria mellonella* mają wygląd po wysuszeniu nieco zmieniony, natomiast gąsienice uwłosione, jak np. *Limantria dispar* i inne suszone przez nas gatunki zachowują barwę i wygląd gąsienic żywych. Metoda powyższa może być zatem stosowana do konserwacji owadów zamiast dość kłopotliwych zwykłych sposobów związanych z usunięciem narządów wewnętrznych.

Streszczenie

Opisana jest metoda suszenia materiału biologicznego według B e h r e n s a ze zwróceniem uwagi na pewne szczególności postępowania.

Suszenie nie wpływa na zawartość glikogenu w badanych gąsienicach i na liczbę jodową ich kwasów tłuszczowych.

Piśmiennictwo

- B e h r e n s, 1932, Z. Physiol. Chem. **202**, (59).
" 1938. Abd. Hndb. biol. Arb. Abt. V. Vol. **10**, (1363).

Mikrometody do oznaczania liczby jodowej i liczby rodanowej kwasów tłuszczowych.

Micro - Methods for Determination of Iodine and Rhodan Numbers of Fatty Acids.

W. Niemierko

(Zakład Biochemii Instytutu im. M. Nenckiego w Łodzi)

Micro-modifications of the method of Iodine Number determination of Rosenmund and Kuhnhen and of Rhodan Number determination of Kaufmann are described. The modifications permit to use less than one mgr of fatty acids. The mean error is usually not higher than 2 — 3%.

W badaniach przemian cząsteczkowych tłuszczów jest rzeczą ciekawą wyświetlenie przekształceń, jakim podlegają poszczególne kwasy tłuszczowe. Niestety ze względu na olbrzymie trudności przeprowadzania analiz tłuszczów, w których oznaczana byłaby zawartość każdego wchodzącego w skład ich kwasu tłuszczowego, w większości przypadków musimy ograniczać się do oznaczania ogólnej ilości tych związków i do scharakteryzowania ich za pomocą tzw. wskaźników tłuszczowych.

Wśród tych wskaźników najważniejsze znaczenie posiadają te, z pomocą których możemy oznaczać podwójne wiązania i w ten sposób scharakteryzować stopień nienasylenia kwasów tłuszczowych. W tym celu stosowane są metody oznaczania liczby jodowej oparte na różnych zasadach. W tych metodach o ilości podwójnych wiązań sądzymy z ilości przyłączonego do kwasów tłuszczowych chlorowca.

Po wprowadzeniu przez Kaufmanna (1935) metody oznaczania liczby rodanowej, wskaźniki powyższe nabrały jeszcze większego znaczenia. Jednoczesne oznaczenie bowiem liczby jodowej i liczby rodanowej, w połączeniu z oznaczeniem zawartości kwasów tłuszczowych nasyconych, pozwala na obliczenie wg wzorów Kaufmanna, jaki udział przypada w mieszaninie kwasów tłuszczowych na kwas oleinowy, linolowy i linolenowy. Oznaczenia i obliczenia tego rodzaju mają obecnie zastosowanie głównie w analizach technicznych, szczególnie olejów roślinnych. Szerszemu stosowaniu powyższych metod w badaniach biochemicznych stoi na przeszkodzie to, że wymagają one przeważnie dość znacznych ilości materiału. O ile jeszcze w stosunku do liczby jodowej opisane są mikromodyfikacje tych metod, o tyle w przypadku liczby rodanowej, o ile nam wiadomo, prób takich dotychczas nie było.

Pracując w dziedzinie biochemii przemian tłuszczowych byliśmy zmuszeni do wypróbowania metod oznaczania zarówno liczby jodowej, jak i rodanowej w zastosowaniu do możliwie drobnych ilości materiału biologicznego. Przez usubtelnienie techniki analitycznej, polegającej głównie na zmniejszeniu objętości używanych odczynników, stopniowo powstały opisane poniżej mikro - modyfikacje, które wielokrotnie były wypróbowane przez nas i które pozwalają na oznaczenie liczby jodowej i liczby rodanowej przy ilości kwasów tłuszczowych w pojedynczej próbie poniżej 1 mg z błędem około 2 — 3%.

Oznaczenie liczby jodowej.

Po wypróbowaniu znanych licznych metod oznaczania liczby jodowej (por. Grün, 1925; Holde, 1933; Böhm, 1939;) okazało się, że szczególnie dogodną do mikromodyfikacji jest metoda Rosenmunda i Kuhhenna (1923), w której stosowane jest szybko przebiegające przyłączenie do podwójnych wiązań bromu, przez działanie odczynnika składającego się z dwubromosulfopiridyny rozpuszczonej w kwasie octowym lodowatym. Metoda ta była już zresztą ogłoszona w pół - mikromodyfikacji przez Yasudę (1931) dla 5 — 10 mg kwasów tłuszczowych.

Nasz sposób postępowania przy tego rodzaju ilościach kwasów tłuszczowych był następujący: Rozpuszczano zważone uprzednio kwasy tłuszczowe, bądź też tłuszcz w 2 ml chloroformu i umieszczano ten roztwór w suchej erlenmeyerce o pojemności 50 ml, z korkiem doszlifowanym. W przypadku obecności większych ilości materiału oznaczenie wykonywano w części jego po rozpuszczeniu w chloroformie w odpowiedniej wielkości kolbce miarowej i odmierzeniu pipetą roztworu. Do roztworu tego dodawano pipetą (najlepiej pipetą H. Fuchsa z wlotową rurką kapilarną) 2 ml odczynnika bromowego (Rosenmund i Kuhnenn, 1923) i taką samą ilość do próby ślepej, zawierającej 2 ml chloroformu. Po zakorkowaniu erlenmeyerki i ostrożnym zamieszaniu cieczy pozostawiano na 15 minut, po czym dodawano szczyptę (około 0,1 g) KJ bądź około 1 ml 10% jego roztworu, następnie około 20 ml wody, korkowano, wstrząsano i miareczkowano wydzielony jod 0.05 n roztworem $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ z mikrobiurety z podziałką do 0.01 ml. Pod koniec miareczkowania dodawano kilka kropeł 1% roztworu skrobi w nasyconym roztworze NaCl. Dla mniejszych ilości kwasów tłuszczowych technika postępowania była nieco odmienna. Po wydobyciu kwasów tłuszczowych z materiału biologicznego zmodyfikowaną mikrometodą Kumağawa-Suto i zważeniu ich w erlenmeyerkach o pojemności 10 ml na mikrowadze, rozpuszczano je następnie w 1 ml odmierzonego pipetą chloroformu i odmierzano część tego roztworu do próbki z korkiem doszlifowanym o średnicy około 10 mm. Odmierzanie wykonywano za pomocą pipety o poj. 0.2 ml z podziałką 0.001 ml połączonej rurką gumową grubościenną z zagiętą o 180° kapilarną rurką szklaną z wkitowaną na końcu mikrośrubą z rtęcią. Odmierzany roztwór chloroformowy wciągano do pipetki za pomocą wykręcania mikrośruby: wpuszczano następnie pewną jego ilość do wspomnianej próbki z korkiem doszlifowanym. W ten sam sposób odmierzano z innej pipetki 0.100 ml odczynnika bromowego do roztworu badanego jak również i do ślepej próby. Probówki zakorkowywano i pozostawiano na 15 minut. Następnie dodawano ziarenko jodku potasu, około 1 ml wody i miareczkowano wydzielony jod 0.05 n $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$. Do miareczkowania używano mikrobiurety Pincussena z podziałką do 0.001 ml, przy czym miareczkowanie i mieszanie roztworu odbywało się w sposób opisany przez nas przy oznaczaniu cukrów (Niemierko, 1938).

Liczbę jodową (L. j.) kwasów tłuszczowych oblicza się wg. następującego wzoru:

$$L. j. = \frac{(a - b) \cdot f \cdot 127}{m} \cdot 100$$

gdzie a i b są to ilości ml $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ zużyte na ślepą próbę względnie na próbę zawierającą kwasy tłuszczowe, f — miano roztworu $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ i m — ilość kwasów tłuszczowych w mg.

O stopniu dokładności powyższej metody świadczą dane zestawione w Tabl. I.

Tab. I.

Oznaczenie liczby jodowej
Iodine Number Determination

Nr	Material Substance	Ilość Amount mg	Method Rodzaj metody	Liczba jodowa J. Nr	
1	Kw. oleinowy <i>Oleic acid</i>	8.06	pół-mikro <i>semi-micro</i>	89.3	
2		8.06		89.6	
3		8.06		89.9	
4		4.03		87.6	
5		4.03		88.5	
6		4.03		89.4	
	przeciętnie	mean	89.1	± 1.1	
7	"	0.806	mikro	88.3	
8		0.806		86.3	
9		0.806		89.7	
10		0.403		90.2	
11		0.403		88.0	
12	0.403	87.6			
	przeciętnie	mean	88.3	± 1.5	
13	Kw. tłuszcz. <i>Bombyx mori</i> <i>Fatty acids</i>	9.12	pół-mikro <i>semi-micro</i>	126.3	
16		9.12		126.4	
15		4.56		127.5	
16		4.56		122.8	
17		0.912		124.2	
18		0.912		124.0	
19		0.456		123.0	
20		0.456		127.2	
20		"		"	68.4
22		<i>Galleria mellonella</i>		6.27	pół-mikro <i>semi-micro</i>
23	"	6.27	mikro	68.8	
24	"	0.627	mikro	65.9	

Tab. II.

Oznaczanie liczby rodanowej

Rhodan Number Determination

Nr	Material Substance	Ilość Amount mg	Rodzaj Method	Liczba rodanowa Rhodan Number	Nr	Kwasy tłuszczowe Fatty acids	Rodzaj Method	mg	Liczba rodanowa Rhodan Number
1	Kwas oleinowy Oleic acid	9.69	semi-micro	89.0	13	<i>Bombyx mori</i> I	semi-micro	8.24	86.2
2	"	9.69	"	88.6	14	"	"	8.24	84.0
3	"	6.46	"	88.0	15	"	micro	0.824	87.4
4	"	6.46	"	87.1	16	"	"	0.824	83.5
5	"	3.23	"	86.4	17	<i>Bombyx mori</i> II	semi-micro	4.23	64.3
6	"	3.23	"	89.8	18	"	"	4.23	64.0
			przeciętnie Mean	88.2 ± 1.3	19	"	micro	0.423	68.2
7	"	0.969	micro	87.4	20	<i>Galleria mellonella</i>	semi-micro	0.423	67.9
8	"	0.969	"	87.2	21	"	"	5.81	63.4
9	"	0.646	"	90.6	22	"	"	5.81	63.0
10	"	0.646	"	90.0	23	"	micro	0.581	66.2
11	"	0.323	"	94.2	24	"	"	0.581	66.2
12	"	0.323	"	96.6				0.581	68.7
			przeciętnie Mean	90.8 ± 3.5					

Liczba rodanowa

Do oznaczania liczby rodanowej stosowano odczynniki wg. Kaufmanna (1935). Z dwóch podanych przez autora sposobów przygotowywania roztworu rodanu używano sposób z dodatkiem bezwodnika kwasu octowego.

Stosowana przez nas technika postępowania była analogiczna do opisanej techniki oznaczania liczby jodowej. Różnica była ta, że kwasy tłuszczowe rozpuszczano bądź w samym kwasie octowym lodowatym, bądź też w czterochlorku węgla. Stosowanie jako rozpuszczalnika chloroformu nie dało dobrych wyników. Wobec tego jednak, że oznaczanie liczby jodowej udawało się tak samo dobrze w roztworze chloroformowym, jak i w roztworze czterochlorku węgla, przy łącznym oznaczaniu liczby jodowej i rodanowej stosowano jako rozpuszczalnik właśnie ten ostatni.

Działanie rodanu musi trwać około 24 godzin. Erlenmeyerki wzgl. probówki trzeba trzymać przy tym w ciemności. Decydujący wpływ na otrzymanie dobrych wyników ma stosowanie zupełnie suchych naczyń z dobrze doszlifowanymi korkami i najczystszych odczynników. Ze względu na długi okres działania rodanu i związane z tym możliwości ulatniania się, jak również wrażliwość roztworu rodanowego na ślady wilgoci — uzyskane wyniki są nieco mniej dokładne niż dla liczby jodowej w przypadku stosowania mikrotechniki postępowania. Zaleca się zatem w miarę możliwości stosować półmikrometodę. Sposób obliczania liczby rodanowej jest identyczny do liczby jodowej, ponieważ liczbę rodanową stosownie do dalszych przeliczeń wg. wzorów Kaufmanna wyrażamy w równoważnikach jodowych.

Tabela II zawiera przykłady oznaczenia liczby rodanowej na czystym roztworze kwasu oleinowego i na kwasach tłuszczowych jedwabników względnie gąsienic *Galleria mellonella*.

Streszczenie

Opisano mikromodyfikację metody Rosenmunda i Kuhnenena do oznaczania liczby jodowej oraz metody Kaufmanna do oznaczania liczby rodanowej kwasów tłuszczowych. Modyfikacje polegają na stosowaniu odpowiednio zmniejszonych ilości odczynników i przystosowanym do tego sposobie ich odmierzenia i miareczkowania.

Metoda pozwala na wykonanie analizy przy ilości poniżej 1 mg kwasów tłuszczowych w pojedynczej próbie. Błąd oznaczenia nie przekracza zwykle 2—3%.

Piśmiennictwo

- B ö h m e r i n n i, 1939. Hndb. d. Lebensmittelchemie. Vol. IV.
G r ú n. 1925, Analyse der Fette. Vol. I.

- H o l d e, 1933. Kohlenwasserstoffe und Fette. wyd. IV.
K a u f m a n n, 1935. Studien auf dem Fettgebiete.
N i e m i e r k o, 1939. Acta Biol. Exp. **12**, (238)
P i n c u s s e n, 1928. Mikromethodik. wyd. IV.
R o s e n m u n d i K u h n h e n n, 1923, Z. f. Unt. d. Nahr u.
Genusm. **46**, (154).
Y a s u d a, 1931. J. biol. Chem. 94, (401).

Mikrometoda do oznaczania nasyconych kwasów tłuszczowych.

A Micro Method for Saturated Fatty Acids Determination.

W. Niemierko

(Zakład Biochemii Instytutu im. M. Nenckiego w Łodzi).

A micro-modification of the method of determination of saturated fatty acids of *B e r t r a m* is described for amounts of 10 — 50 mg of fats.

Wprowadzenie przez *B e r t r a m* a metody oznaczenia nasyconych kwasów tłuszczowych za pomocą częściowego utlenienia nadmanganianem nienasyconych kwasów tłuszczowych i oddzielenia powstających produktów utlenienia było dużym krokiem naprzód w dziedzinie metodyki analizy tłuszczów.

Metoda *B e r t r a m* a w opisanej przez autora postaci wymaga jednak do swego przeprowadzenia około 5 g tłuszczów, wobec czego rzadko kiedy może być stosowana w badaniach biochemicznych. Przeprowadzone przez nas próby wykazały, że przez odpowiednie zmniejszenie ilości stosowanych odczynników oraz pewne nieznaczne uproszczenie postępowania — metoda *B e r t r a m* a daje zadowalniające wyniki przy ilości kwasów tłuszczowych wynoszących 10 — 50 mg.

Poniżej podajemy stosowany przez nas przebieg analizy oraz szereg danych dotyczących stopnia ich dokładności.

Do 10 — 50 mg kwasów tłuszczowych umieszczonych w erlenmeyerce o poj. 50 ml z korkiem doszlifowanym, dodajemy 1 ml 4% KOH i ogrzewamy na łaźni wodnej aż do rozpuszczenia powstających mydeł potaso-

Sprawdzenie dokładności metody oznaczania nasyconych kwasów tłuszczowych.
Accuracy of the Method

Nr	Materiał <i>Substance</i>	Ilość materiału <i>Amount of material</i> mg	Teoretyczna zawartość kw. nasyconych <i>Theoretical amount</i> <i>of saturated acids</i> mg	
			Znaleziona ilość kwasów nasyconych <i>Amount found</i> mg	
1	22.5 mg kw. stearynowego <i>stearic acid</i>	37.3	22.5	21.6
2	" " " " " " " "	37.3	22.5	21.3
3	9.6 " " " " " " " "	38.0	9.6	9.2
4	" " " " " " " "	38.0	9.6	9.4
5	Kw. tłuszczowe <i>Fatty acids</i> <i>Bombyx mori</i>	29.5	-	10.1
6	" " " " " " " "	29.5	-	10.5
7	" " " " " " " "	16.3	-	7.42
8	" " " " " " " "	16.3	-	7.14

wych. Po oziębieniu roztworu powoli dolewamy z biurety kroplami, ciągle mieszając, około 6 ml 2% KMnO_4 , zakorkowujemy naczynie i pozostawiamy na 10 — 12 godzin. Do powstającej mieszaniny dodajemy około 0,5 ml kwasu siarkowego (1 : 20) i kroplami 10% NaHSO_3 do odbarwienia się zawiesiny i rozpuszczenia się wydzielonego MnO_2 . Ogrzewamy następnie na łaźni wodnej celem usunięcia nadmiaru powstającego SO_2 , przy czym kwasy tłuszczowe pływają na powierzchni cieczy. Oziębiamy, przelewamy do rozdzielacza o poj. 20 ml i wyklócamy dwukrotnie z eterem naftowym, używając za każdym razem po 5 ml, którymi uprzednio przepłukujemy erlenmeyerkę. Otrzymany roztwór eterowy kwasów tłuszczowych przemycamy wodą (około 5 ml) i przenosimy do erlenmeyerki o poj. 50 ml, i odparowujemy eter. Do pozostających kwasów tłuszczowych dodajemy 2 ml wody, 10 kropel 10% amoniaku i 10 kropel 10% roztworu NH_4Cl . Ogrzewamy następnie mieszaninę na łaźni wodnej do rozpuszczenia się powstających mydeł amonowych i dodajemy kroplami 10% MgSO_4 do całkowitego strącenia nierozpuszczalnych soli magnezowych wyższych kwasów tłuszczowych. Roztwór z osadem ogrzewamy przez kilka minut na łaźni wodnej i oziębiamy; sączymy i przemycamy osad na sączku wodą. Do sączenia używaliśmy czarnych sączków f. Schleicher, z których następnie bardzo łatwo było, po rozłożeniu sączka, ilościowo zebrać osad cienką bagietką i przenieść go do erlenmeyerki o poj. 50 ml, zawierającej około 5 ml wody. Po dodaniu około 0,5 ml kwasu siarkowego (1 : 20), ogrzewamy przez kilka minut na łaźni wodnej celem rozłożenia mydeł magnezowych, oziębiamy i jak poprzednio dwukrotnie ekstrahujemy w rozdzielaczu eterem naftowym. Po przemyciu eteru naftowego wodą, przelewamy go do ważonej erlenmeyerki o poj. 20 ml, odparowujemy eter na łaźni wodnej, oziębiamy w eksykatorze i ważymy z dokładnością do 0,01 mg.

Dokładność metody wypróbowana została za pomocą porównania ze sobą równoległych analiz tego samego materiału, oraz na mieszaninie składającej się z określonych ilości kwasu stearynowego i oleinowego.

Wyniki niektórych z tych analiz zestawione są w tabeli.

Streszczenie

Opisana jest mikromodyfikacja metody B e r t r a m a do oznaczenia nasyconych kwasów tłuszczowych. Podany sposób postępowania pozwala na przeprowadzenie analizy przy ilości kwasów tłuszczowych od 10 — 50 mg.

Piśmiennictwo

Bertram. 1928 Zeitschr. f. Unt. d. Lebensm. 55. (179).

L'influence de certaines substances narcotiques et somnifères
sur l'excitabilité chronaxique de l'appareil vestibulaire chez
le lapin.

J. Hurynowicz

(L'Institut de Neurophysiologie à l'Université Nicolas Copernic à Toruń,
et l'Institut de Physiologie à l'Université Stephane Batory à Wilno).

Des recherches expérimentales entreprises pendant plusieurs années sur des animaux narcotisés ont attiré notre attention sur certains phénomènes vestibulaires connexes au sommeil provoqué. En me basant sur mes travaux précédents*) concernant les investigations sur l'excitabilité chronaximétrique de l'appareil vestibulaire, je me suis décidée d'entreprendre

*) 1. Les trois chronaxies vestibulaires. *Medycyna*, 1935, N. 21.

2. Action de certaines substances vago- et sympaticotropes sur les chronaxies vestibulaires. *Medycyna*, 1936 N. 12.

3. L'excitabilité vestibulaire mesurée par la chronaxie au cours de l'anémie prolongée expérimentale (avec M. Rubinsztejn) *Medycyna*, 1935 1935 N. 23.

4. Action de quelques électrolytes exercée sur la chronaxie vestibulaire (avec M. Rubinsztejn). *Polska Gazeta Lekarska*, Lwów, 1937, N. 19—20.

5. La chronaxie vestibulaire dans l'hypoglycémie et l'hyperglycémie provoquées. (avec M. Rubinsztejn). *Polska Gazeta Lekarska*, Lwów, 1936, N. 51.

6. Les modifications de la chronaxie vestibulaire chez le lapin sous l'action des excitants caloriques (avec prof. T. Waśowski). *Polska Gazeta Lekarska*, Lwów, 1938.

7. L'influence des états de sensibilisation allergique sur la chronaxie du système vestibulaire de l'oreille chez le lapin. *Polska Gazeta Lekarska*, Lwów 1938 N. 24.

l'étude de l'influence des substances ci-dessous mentionnées sur cet appareil.

Les recherches**) ont été exécutés au Laboratoire de Physiologie à l'Université de Stephane Batory à Wilno en 1938/39 d'après le plan suivant:

1. Les lapins en nombre de 52 (34 mâles et 18 femelles) nourris de la même façon (foin, avoine, bettraves), habitués au procédé des mesures chronaxiques ont servi de sujet d'expérience.

2. Au commencement on mesurait les chronaxies vestibulaires choisies parmi d'autres réflexes labirinthiques et déterminées par l'auteur pour la première fois en 1935 1) a) le roulement de l'oeil, mouvement en bas et en haut, $t =$ de 12s — 16s (chronaxie sacculaire), b) l'inclinaison latérale de la tête (chronaxie utriculaire) $t =$ 24 s — 28s c) le nystagmus $t =$ 48s — 52s (lié à la fonction des canaux semicirculaires).

3. Ensuite on appliquait à doses différentes par injections intraveineuses, souscutanées, et per rectum les substances narcotiques et somnifères. On se servait, selon la Pharmacologie expérimentale de H. H. Meyer²⁾ de la division de ces agents en deux groupes, d'après leur action sur le système nerveux: I) les substances, dites corticales — comme chloralhydrate, chloralose, avertine, uretan, NaBr, MgSO₄ et II) les substances, portant sur le tronc cérébral et les régions sous-thalamiques, comme médinal, pantopon, scopolamine.

4. Les observations du comportement des animaux ont été faites pendant toute la durée de l'expérience.

5. Les mesures des chronaxies des trois réflexes vestibulaires déjà nommés dont les valeurs normales furent déterminées auparavant, ont été prises durant quelques heures même quelques jours, toutes le 5' — 30'

Les résultats des nos observations et les modifications d'excitabilité chronaxique vestibulaire, obtenus au cours des recherches avec les substances du I groupe, dit cortical nous permettent de les ranger en trois séries: a) chloralhydrate, chloralose, avertine, b) NaBr et MgSO₄, c) uretan.

Il y a à remarquer que la profondeur et la durée du sommeil narcotique, provoquées par l'application des substances particulières ci-dessous mentionnées, ne dépendaient en

**) Je remercie très sincèrement Mr. le dr. S. Wawrzyńczak, assistant volontaire à l'institut de Physiologie de l'Université Stephane Batory à Wilno qui m'a prêté sa collaboration dans les recherches quelquefois bien prolongées et compliquées.

général que de la hauteur des doses administrées et de la voie, dont elles étaient introduites (après les injections intraveineuses elles étaient plus intenses).

D'autres manifestations précédant le sommeil et la narcose ainsi que celles marquées pendant leur durée ou celles parues juste, au moment du réveil et après lui elles montrent une grande différence et variabilité.

Dans le groupe b) de Bromure et de Magnesium les phénomènes accompagnant leurs action étaient plus ou moins médiocres.

Après l'administration de Bromure en doses plus élevées (1 gr. et plus par kilo injections intraveineuses) on note une rigidité du tronc, spécialement du cou avec une torsion de la tête. Au moment du réveil, troubles de l'équilibre, désordre de la marche et grande soif.

Après le Magnesium — (à 0,8 g par kg. intraveineusement) les symptômes accessoires de la narcose n'avaient presque pas lieu excepté une certaine tendance à l'instabilité de l'équilibre et discoordinations du mouvement.

Chez les animaux soumis à l'action du chloralhydrate (0,07 g. — 0,03 g. par kg. intraveineusement), avertine (1,0 g. — 0,4 g. par kg. per rectum ou 0,25—0,5 g. intraveineusement) c'est à dire groupe a, dans le domaine du mécanisme moteur et sensitif on observe d'autres phénomènes qui venaient de paraître. Ils étaient plutôt intenses et même orageux. La force de ces manifestations ne dépendait que de la dose, de la voie et du temps de l'application de ces substances. On a constaté alors différents mouvements involontaires, comme tremblement de tout le corp, contractions de certains membres ou des muscles particuliers, secousses, mouvements pendulaires rythmiques du cou et de la tête, durant même plusieurs heures, les mouvements de „manège“ ou de la marche chez l'animal endormi et couché. Après le réveil, troubles de l'équilibre, discoordination des mouvements, marche chancelante „à l'aveugle“ propulsion; on a observé de même le strabisme divergent, exophtalmus, déplacement de la langue en avant, nystagmus horizontal et rotatoire, spontané. Quelquefois pendant le temps de la plus profonde narcose, ce dernier venait

de cesser, mais à peine a-t-on touché l'animal de telle ou de telle autre manière, (en changeant, par exemple, la position de sa tête, ou en essayant délicatement de prendre les mesures chronaxiques), que le nystagmus venait de reparaitre avec la même intensité et la même durée.

Quoique la sensibilité générale de l'animal était pour la plupart diminuée, la moindre tentative, (sans faire aucun mal au lapin), d'introduire les électrodes dans ses oreilles, provoquait chez lui un cri caractéristique: perçant, craintif, déchirant, sans interrompre pourtant le sommeil.

On observait encore plusieurs signes rappelant le choc anaphylactique et les troubles végétatifs comme: défécation violente, peristaltique augmentée, singultus, sialloarhéea, tachycardie ou brachycardie, dispnée. Après le réveil soif et faim excessives. Dans ce groupe d'expériences nous avons eu des cas mortels.

La section des animaux nous aurait donné probablement des changements atrophiques de tout l'appareil digestif et la dégénérescence hépatique. L'examen précis histopathologique ne pouvait pas être exécuté, de même que celui des cerveaux conservés pour les recherches anatomopathologiques; ils furent détruits en 1939 par les autorités universitaires lithuaniennes qui ont liquidé l'université polonaise de Wilno et n'ont pas permis de finir nos recherches.

L'excitabilité de l'appareil vestibulaire a donné de grandes oscillations et des différences bien fines non seulement après l'administration de diverses substances narcotiques en particulier, mais dans le domaine de l'action de chaque réflexe examiné.

Le chloralhydrate et la chloralose ont donné des résultats assez conformes dans leurs traits généraux.

Le 1-r réflexe de la déviation du l'oeil et le III-ème — le nystagmus ont marqués une excitabilité augmentée (les chronaxies étant petites). Quant au réflexe II-e l'inclinaison de la tête — elle est devenue diminuée.

L'avertine, qui entre dans le même groupe, provoque une réaction tout à fait différente: diminution de l'excitabilité des réflexes oculaires I-r et III-me et l'augmentation du réflexe II-inclinaison de la tête.

Les courbes de l'excitabilité de l'appareil vestibulaire dans l'application du Bromure et du Magnesium ont démontré une marche pareille et bien caractéristique: diminution de l'excitabilité de tous les trois réflexes labyrinthiques. Mais on doit remarquer, que les doses plus élevées de Bromure ont donné un effet un peu différent plutôt ressemblant à celui de la chloralose, c'est à dire — augmentation de la sensibilité vestibulaire du I-er et III-me réflexes et diminution du II-e. Après les doses moyennes et petites (0,5 g. par kg. et moins intraveineusement) les réflexes mentionnés se comportèrent de la façon si-dessous décrite.

L'Uretan, agent, soit disant, cortical, (0,5 — 0,3 g. par kg. intravein) — donne une narcose aux signes classiques et connus — et outre quelques petits changements de l'équilibre et de la coordination des mouvements au moment du réveil ne provoque rien de spécifique dans l'état et le comportement de l'animal.

Les modifications de l'excitabilité chronaxique de l'appareil vestibulaire dans ce cas — étaient juste opposées — à celles du groupe du Bromure et de Magnesium: les trois réflexes donnaient des chiffres chronaxiques bien petits, ce qui montre, que leur excitabilité est remarquablement augmentée.

Même après une longue intervalle, dans lequel, en utilisant tout le voltage disponible, on n'était pas en possibilité d'exécuter les mesures chronaxiques, (réaction électrique faisant défaut) — les premières réponses qu'on recevait alors — donnaient des chiffres très bas. Ces résultats prouvent que l'augmentation de la sensibilité vestibulaire restait telle pendant tout ce temps et ne revenait au niveau normal — qu'après de longues heures d'examen.

Les résultats des recherches sur l'influence des substances du II-d groupe narcotique qui agissent soit disant, sur les régions sous-thalamiques et le tronc cérébral, comme médinal, scopolamine, pantopon, surtout dans leur action sur les mécanismes labyrinthiques — marquent des différences assez distinctes chez les agents particuliers.

Le *Medinal* (en dose 0.2 — 0.35 g à kg. intravein.) provoque un sommeil profond et prolongé. Au début de la narcose l'animal est inquiet, se débat. On voit des secousses de la tête, élargissement des pupilles, pendant plusieurs heures. Nystagmus spontané horizontal et rotatoire. Après des doses plus petites ce dernier signe est moins marqué, mais revient, avec une force nette au moindre déplacement de l'animal.

Quand on essaye à peine de prendre les mesures chroniques il pousse, quoique endormi, un cri déchirant, caractéristique, dont on a déjà parlé.

Avec de la scopolamine (0.2 g scop. soucutanée ou intraveineus.) — au commencement de la narcose qui n'est jamais profonde, on voit l'élargissement des pupilles, l'inquiétude de l'animal, qui se débat violemment. Pendant tout le temps il reste somnolant et au réveil marque des discoordinations des mouvements.

Après le pantopon (0.03 g — 0.06 g — 0.12 g par kg soucutané ou intraveineus.) l'animal est tranquille, somnolant, mais au moment du réveil paraissent les troubles des mouvements et de la marche. Cette dernière rappelle celle „de la pho.

Les résultats des expériences

I groupe: Agents dits corticaux

	I. deviation. de l'oeil	II. Inclinaison. de la tête	III. Nystagmus.
Chloral hydrat	augmentée	diminuée	augmentée
Chloralose	augmentée	diminuée	augmentée
Avertine	diminuée	augmentée	diminuée
NaBr doses moyennes	diminuée	diminuée	diminuée
NaBr doses élevées	augmentée	diminuée	augmentée
MgSO ₄	diminuée	diminuée	diminuée
Uretan	augmentée	augmentée	augmentée

II. groupe: Agents, dits sousthalamiques et du tronc cérébral.

Scopolamine	diminuée	diminuée	augmentée
Pantopon	diminuée	diminuée	augmentée
Medinal	diminuée	augmentée	diminuée

que". Ce signe assez bizarre reste, quelquefois pendant quelques jours.

L'excitabilité vestibulaire après le medinal est diminuée dans le I et III réflexes oculaires et augmentée dans le II — inclinaison de la tête, comme c'est le cas pour l'avertine et rappelle l'action des agents corticaux.

Quant à l'influence de la scopolamine et du pantopon elle est tout à fait spéciale et bien différente de celle des substances nommées corticales. On note alors une diminution de l'excitabilité des I-r (déviation de l'oeil) et II-d (l'inclinaison de la tête) réflexes — et augmentation du III-me (nyctagmus).

Conclusion

Les problèmes, qui s'imposent en connexion avec les recherches et les résultats obtenus sont nombreux et difficiles.

Les essais de leur analyse peuvent paraître osés plutôt et y vouloir prononcer le dernier mot serait bien prématuré. Ainsi toutes ces questions touchent d'une part aux problèmes non encore définis et résolus du sommeil et de la narcose — d'autre part aboutissent aux fonctions de l'appareil vestibulaire, dans toute son étendue compliquée et obscure.

Se débrouiller dans ces phénomènes si nombreux et délicats, surtout au point de vue de leur rapport avec le mécanisme du sommeil et de la narcose, est d'une difficulté extrême.

Mais tout de même des certaines conclusions puissent et dussent en être tirées.

I. L'appareil vestibulaire chez le lapin, dans ses trois réflexes (dont les chronaxies normales: I) déviation de l'oeil $t = 12\text{ s} - 16\text{ s}$ II) l'inclinaison de la tête $t = 24\text{ s}$ III) Nyctagmus $t = 48\text{ s} - 52\text{ s}$ est en rapport bien étroit avec les fonctions du système végétatif (Bourguignon, Hurynowicz, Skrzypińska) et entre dans l'orbite des phénomènes du sommeil et de la narcose.

Les modifications de l'excitabilité de ces réflexes au cours de l'influence des substances somnifères et narcotiques, dites corticales, comme chloralhydrate, chloralose, avvertine, uretan, bromure et magnesium, ainsi que de celles, portants sur les

régions sousthalamiques et du tronc cérébral — comme scopolamine, pantopon, medinal nous en donnent des preuves bien convaincantes.

II. Nos expériences ci — dessus présentées — ont démontré, que les phénomènes, qui se manifestent au début, pendant et après le sommeil narcotique, provoqué par ces agents, entrent dans le domaine des manifestations classiques des changements corticaux, souscorticaux et du tronc cérébral. Ils sont accompagnés par des troubles myotoniques, myostatiques, végétatifs, anaphylactiques, vestibulaires et des modifications variées de l'excitabilité chronaxique de trois réflexes labyrinthiques mentionnés.

Les résultats obtenus prouvent non seulement, que chacun de ces réflexes vestibulaires a son arc réflexe spécial, probablement le champs et le centre cortical précis, propre et individuel à lui, mais que chacun de ces mécanismes est bien indépendant dans ses fonctions, voies et centres des connexions et qu'ils sont inclus dans l'orbite de l'action du sommeil narcotique.

III. Les données des mesures chronaxiques, concernant le changement de l'excitabilité de l'appareil vestibulaire chez le lapin sous l'influence de différents agents narcotiques, nous ont fourni le moyen de pénétrer dans des fonctions masquées et très obscures du système nerveux. Ils nous ont facilité de comprendre et de nous donner des certaines idées sur ces problèmes, nous ont permis de nous décider à préciser une hypothèse — que les substances narcotiques, utilisées dans nos cas, ont leur influence, bien définie, sur le mécanisme labyrinthique. Cette influence, — est réglée par des chaînes de réflexes, les champs et les centres corticaux, souscorticaux avec une grande précision.

Il n'est pas sans intérêt de se rappeler les recherches de Tumiancëw en 1921, Krestownikow et Jarotzkij en 1938. „Sur les problèmes des rapports de l'appareil vestibulaire avec l'écorce cérébrale chez le lapin“ et d'Orbeli — chez le chien. Par l'éloignement des certaines parties du pallium, ces auteurs ont démontré que les fonctions vestibulaires sont attachés à la partie antérieure et moyenne de l'écorce

cérébrale chez le lapin, et aux rayons supérieurs gyn. Sylviiati chez le chien.

Les phénomènes décrits par ces auteurs dans leurs cas étaient presque égaux à ceux que nous venons de remarquer dans nos recherches, surtout après l'administration de l'aver-tine et de la chloralose. Les résultats des recherches chronaximétriques des réflexes vestibulaires, plus nets, que ceux de l'intervention chirurgical nous mènent certainement beaucoup plus loin dans notre examen des fonctions de cet appareil.

IV. L'analyse fine des ces états au point de vue chronaximétrique sous l'aspect des lois de subordination des neurones et des centres en jeu surtout du centre régulateur de la subordination siégée das le mesencephalon (L. M. Lapique, G. Bourguignon, A. B. Chauchard) nous permettent de donner aux résultats obtenus dans nos recherches, ici présentées, des interprétations beaucoup plus étendues. La participation des signes de fonction de l'appareil vestibulaire dans les états du sommeil physiologique ainsi que narcotique, leur rôle dans le fonction du système végétatif ajoutent de nouvelles perspectives dans toutes ces questions et dont l'analyse minutieuse aura lieu dans une publication speciale.

V. Enfin, faut — il souligner l'importance de la methode chronaximétrique dans les recherches neurophysiologiques? Elle nous permet avec une subtilité et une exactitude étonnantes de préciser les fonctions les plus difficiles et les plus compliquées du système nerveux. Grâce à cette méthode nous pouvons pousser nos investigations avec une hardiesse là ou jusqu'à présent on était limité par des procedés expérimentaux beaucoup plus grossiers.

L i t e r a t u r e

1. P. Chauchard. 1942 Recherches sur les mécanismes du sommeil. Revue scientifique.
2. P. Chauchard. 1944. Les résultats de l'analyse chronaximétrique des états de sommeil. Pr. medic. N. 15. Aout.
3. J. Hurynowicz 1935. W sprawie układu przedsiolkowego u królików. „Medycyna”. N. 21.

4. J. Hurynowicz 1936. (Les trois chronaxies vestibulaires du lapin), (Action de certaines substances vago — et sympatico-tropes sur les chronax'es vestibulaires du lapin). „Medycyna". 1936 r. N. 12.
5. J. Hurynowicz i Rubinsztejn 1935. Chronaksja ukł. przedsionkowego w niedokrwiłości doświadczalnej. „Medycyna", N. 23.
6. J. Hurynowicz i Rubinsztejn 1937. Wpływ elektrolitów (wapń, magnez) na chronaksję ukł. przedsionkowego ucha u królików. „Polska Gazeta Lek." Lwów. N. 19 — 20, (L'action exercée par quelques electrolytes sur les chronaxies vestibulaires).
7. J. Hurynowicz i Rubinsztejn 1936. Wpływ insuliny na chronaksję ukł. przedsionkowego ucha u królików. „Polska Gazeta Lekarska". N. 51. (La chronaxie vestibulaire dans l'hypoglycémie et l'hyperglycémie provoquées).
8. J. Hurynowicz 1938. Wpływ stanów alergicznego uczulenia na chronaksję ukł. przedsionkowego ucha u królika. „Polska Gazeta Lekarska" N. 24. (L'influence des états de sensibilisation allergique sur la chronaxie du système vestibulaire de l'oreille chez le lapin).
9. J. Hurynowicz i T. Wasowski 1938 Zmiany ukł. przedsionkowego ucha królika pod wpływem bodźców kalorycznych. „Polska Gazeta Lekarska". 13. (Les modifications de la chronaxie vestibulaire chez le lapin sous l'action des excitants caloriques).
10. A. N. Krestownikow et A. J. Jarotzky 1938. Sur les rapports entre les Hemisphères cérébrales et l'appareil vestibulaire, Fizjol. żurnal S. S. S. R. XXV. (347).
11. L. R. Müller 1940. Über den Schlaf. Berlin.
12. H. H. Meyer 1936. Experimentelle Pharmakologie.
13. Pawłow 1938. Wykłady o czynności mózgu.
14. H. Rohrer 1941. Die electrischen Vorgänge im menschlichen Geh'm. Leipzig.
15. A. W. Tonkich 1946. Nowyje dannyje k fizjologii hipofiza. Uspiechi sowr. biol. XXI. (305).
16. T. Wasowski 1929. Badania doświadczalne nad wpływem niektórych związków narkotycznych i nasennych na układ przedsionkowy i kanałów półkulistych. Wilno. (Experimentelle Untersuchungen über den Einfluss von verschiedenen Narcotica — Schlaf — und Beruhigungsmitteln auf die Labyrinthreflexe).
17. N. Zandowa 1939. Le psychisme de Hypothalamus. Revue Neurologique, 71. (33 — 41).

Znaczenie poziomu potasu w osoczu konserwowanej krwi.

*Importance of the level of potassium in the plasma
of preserved blood.*

J. Kiersz.

(Sanitarно-Epidemiczny Oddział i Zakład Fizjologii Uniwersytetu w Poznaniu)

The former investigations concerning the dependence of the toxic property of blood upon the level of potassium in its plasma have not given clear results. Fischer considers 100 mg% K as a limit value, while de Govin, Hardin and Harris have not stated any harmful influence at the transfusion of preserved blood containing 148 mg⁰/₀ of potassium. During the last war, the problem of the toxic property of potassium got a special importance, owing to a widespread application of the infusion of preserved blood. The author, when working on a certain front sector, had the possibility of making the analysis of plasma of preserved blood to discover the contents of potassic ions, and he made observations during the transfusion of the said blood. Especially, he endeavoured to make marks in the plasma of blood, during the transfusion of which some clinical symptoms of intolerance appeared, especially on the side of the circulation system.

Preserved citric blood in average quantity of 500 ml was transfused to wounded soldiers, who had lost some blood in consequence of wounds got during the battle. It appeared, that in these conditions the symptoms of the toxic activity of potassium may already appear at the level of 80 mg⁰/₀. As it is shown on the table, out of a total number

of 79 marks of potassium, the toxic action of potassic ions has been stated in 18 cases. Out of these 18 cases, the maximum quantity (11 or 61 %) corresponds to coagulation above 100 mg⁰/₀, in $\frac{1}{3}$ (6 or 33 %) to 80 — 100 mg% and only one case (6 %) below 80 mg%.

It results, that the harmful influence of potassic ions upon the organism, during the transfusion of preserved blood to bleeding persons may already appear at a level above 80 mg⁰/₀ of potassium. For in such conditions there is less possibility of diluting potassic ions in the blood of persons receiving it, and especially when the quantity of potassium is increased in the red corpuscles.

Tuż przed ostatnią wojną światową i w pierwszych latach jej trwania pojawił się szereg prac dotyczących zarówno analizy zjawiska wzrostu potasu w osoczu konserwowanej krwi ludzkiej, jak i jego znaczenia. Wyniki tych prac wykazują dość duże różnice, a nawet rozbieżności. Jeżeli chodzi o prace traktujące o zjawisku wzrastania potasu, to przyczyna odmiennych rezultatów może pozostawać z jednej strony w związku z różnym sposobem konserwacji krwi, (Kiersz' 47a), z drugiej — z różną temperaturą jej przechowywania (Kiersz' 47b). Jeśli zaś chodzi o prace omawiające znaczenie potasu w krwi konserwowanej, to zarówno odmienny sposób konserwacji jak i rozmaite warunki doświadczalne u różnych autorów mogą stworzyć źródło otrzymania rozbieżnych wyników, a dalej — wyciągnięcia odmiennych wniosków. Dlatego podczas gdy znany jest ogólnie szkodliwy wpływ na organizm wolnych jonów potasowych i np. F i s c h e r ('41) przyjmuje poziom 100 mg% potasu jako graniczną wartość w krwi konserwowanej, powyżej której nie można jej używać do transfuzji. J e a n n e n e y i S e r v a n t i e ('38) określają wprost sterylność krwi na podstawie badania koncentracji jonów potasu w osoczu krwi jałowo przechowywanej, a K e i t h i B i n g e r ('35) na podstawie swoich doświadczeń przyjmują nawet poziom 11 milimoli (43 mg⁰/₀) potasu jako już

mogący działać toksycznie, — inni badacze, de G o w i n, H a r d i n i H a r r i s ('40) nie stwierdzili żadnego szkodliwego wpływu przy wlewaniu krwi zawierającej 148 mg% potasu w osoczu.

Wobec niezgodności różnych autorów co do poziomu potasu w osoczu, jaki mógłby stanowić granicę użyteczności krwi konserwowanej, a tym bardziej wobec rozbieżnych rezultatów, pracownie analityczne przy stacjach przetaczania krwi stanęły przed zagadnieniem możliwie ścisłego określenia tego poziomu. Zwłaszcza podczas ostatniej wojny, kiedy przetaczanie krwi konserwowanej znalazło szerokie zastosowanie czy to w walce z zapaścią czy wykrwawieniem, kwestja ta nabrała szczególnej ważności. Tak właśnie zagadnienie to wyłoniło się w naszej pracowni znajdującej się w Armii Polskiej podczas wiosennej ofensywy w 1945 r. nad Odrą i Nisą.

Wyniki uzyskane nie są zbyt liczne, gdyż badania zostały przeprowadzone przy punkcie sanitarnym zaopatrującym niewielki odcinek frontu. Jeśli się jednak zważy, że osiągnięto je przede wszystkim tam, gdzie występowały przy przetaczaniu krwi pewne napozór niewytłumaczalne objawy kliniczne nietolerancji zwłaszcza ze strony układu krążenia, wówczas musi się uznać wartość zebranego materiału, mogącego być przyczynkiem do obszerniejszej pracy nad uzależnieniem oceny zdatności konserwowanej krwi do transfuzji od wyniku oznaczenia potasu w jej osoczu.

Stężenie jonów potasowych oznaczono w próbkach osocza konserwowanej cytrynianowej krwi, którą później stosowano u rannych żołnierzy w przeciętnej ilości 500 cm³. W niektórych wypadkach, zwłaszcza przy występowaniu niepokojących objawów, wykonywano oznaczenia w czasie przetaczania lub później.

Krew przechowywano w butelkach naogół odpowiednio, t. j. w temperaturze od +5° do +18°C, zależnie zresztą od warunków polowych. W tej rozpiętości temperatur przechowywanie krwi było celowe, ponieważ wiadomo, że przechodzenie jonów potasu przez półprzepuszczalną błonę erytrocytów jest szybsze w temperaturze od 0° do 4° niż w temperaturze wyższej i że nawet raczej temperatura pokojowa jest

odpowiedniejsza (Fischer '41), i Miluskevich ('38), Downman, Oliver i Young ('40), jakkolwiek to z naszymi badaniami niezupełnie się pokrywa (Kiersz '47b). Osocze odwirowywano na wirówce ręcznej. Potas oznaczono metodą Kramera i Tisdalla (121).

Wyniki

Osiągnięte rezultaty przedstawia następująca tablica:

Poziom potasu w osoczu: <i>Level of potassium in the plasma:</i>	Do 80 mg%: <i>Up to 80 mg%:</i>	80—100 mg%:	Powyżej 100 mg%: <i>Above 100 mg%:</i>	Razem: <i>Together:</i>
Przypadków ze zjawiskami toksycznymi: <i>Cases with toxic phenomena:</i>	1	6	11	18
Przypadków bez objawów toksycznych: <i>Cases without toxic phenomena:</i>	36	16	9	61
Ogólna ilość oznaczeń: <i>Total number of marks:</i>	37	22	20	79

Spośród 79 przeprowadzonych analiz osocza krwi konserwowanej 37 wykazało ilości niższe od 80 mg% potasu, 22 stężenie 80 do 100 mg%, a 20 wyższy poziom od 100 mg%. Czyli stosunkowo duża ilość krwi konserwowanej nie zawierała więcej niż 80 mg% potasu, a tym samym była bezsprzecznie zdalna do transfuzji. Jest to ważne, gdyż — jak już zaznaczono, — badania były przeprowadzone przede wszystkim w przypadkach, gdzie w czasie wlewania lub po wlewaniu krwi wystąpiły mniej lub więcej wyraźne zaburzenia w krążeniu i oddychaniu, a zatem gdzie poziom potasu był przypuszczalnie wyższy. W pozostałej łącznej ilości 42 badań

stwierdzono wyższy poziom potasu w osoczu krwi konserwowanej od 80 mg%, przy czym na tę liczbę przypada duża część przypadków zdradzających objawy toksyczne, przy których nie obeszło się bez doraźnej pomocy lekarskiej.

To co objęte zostało mianem zjawisk toksycznych, a czym specjalnie nie zajmowano się, podpadało pod zespół objawów niewątpliwie stwierdzanych przy dożylnym wprowadzaniu większej ilości jonów potasowych. Spostrzegano więc zwolnienie akcji serca, zmniejszenie ilości oddechów w jednostce czasu — przy czym występowało równocześnie ich pogłębienie, pocenie się, wreszcie znużenie mięśni, określane przez chorego jako ogólne osłabienie. Ciśnienie krwi, które było przed zabiegiem zwykle obniżone i potem dochodziło do normy, w tych wypadkach pozostawało mniej lub więcej obniżone. Wyrażnych zmian w temperaturze ciała nie zarejestrowano.

Na ogólną liczbę 79 badań i wlewań krwi konserwowanej w 18 przypadkach spotkano się z wyżej wspomnianymi zjawiskami toksycznymi. Większość tych ostatnich (11 czyli 61%) występowała przy stężeniu większym od 100 mg% potasu, w $\frac{1}{3}$ -ciej (6 czyli 33%) już w granicach 80 — 100 mg%, a tylko w 1 przypadku (6%) poniżej 80 mg%.

W konsekwencji przedstawionych wyników dochodzi się do wniosku, że nie poziom 100 mg% potasu w osoczu jest decydujący w ocenie zdatności konserwowanej krwi do przetaczania — jak to niektórzy autorowie przyjmują, lecz iż granica ta leży znacznie niżej, mianowicie już przy stężeniu 80 mg%. Krew konserwowana bowiem o stężeniu 80 — 100 mg% w naszych badaniach wykazała w 27% działanie toksyczne.

Przyjęcie poziomu 80 mg% K jako wartości granicznej byłoby jednak błędne, gdyby nie zastrzeżenie, że ta granica działania toksycznego odnosi się wyłącznie do wlewań stosowanych u rannych, którzy stracili pewną ilość krwi, gdyż bezwzględna ilość potasu w osoczu krwi konserwowanej decyduje tylko do pewnego stopnia, właściwie jednak pojawienie się objawów toksycznych zależy od istnienia możliwości rozcieńczenia jonów potasowych w krwi biorcy. Dlatego transfuzja pewnej ilości krwi konserwowanej nawet o stosunkowo dużej

koncentracji jonów potasowych w osoczu może nie szkodzić biorecy mającemu normalną lub nieznacznie zmniejszoną ilość krwi, gdyż wtedy istnieje możliwość ich rozcieńczenia. Inaczej natomiast przedstawiać się będzie wprowadzanie takiej krwi u biorecy, który stracił większą ilość krwi i u którego niema możności odpowiedniego rozłożenia nadmiaru jonów potasowych w układzie krwionośnym, ponieważ wówczas następuje większa ich koncentracja. Jest to tym bardziej ważne, że po większych stratach krwi wzrasta zawartość potasu w ciałkach czerwonych (H o u s s a y ('41); przy zmniejszonych więc możliwościach rozcieńczenia wprowadzanych jonów potasowych istnieje jednocześnie większe ich stężenie we krwi. Tym też można tłumaczyć toksyczne działanie jonów potasowych u rannych przy stosunkowo niewysokim poziomie 80 — 100 mg% w osoczu krwi konserwowanej.

Przy przetaczaniu zatem powinno się brać pod uwagę całkowitą ilość krwi u biorecy, uwzględniając poprzednie straty, wysokość poziomu potasu w osoczu konserwowanej krwi, oraz ilość mającą być przetoczoną.

Wnioski:

1^o. Istnieje szkodliwy wpływ na ustrój wywołany wprowadzaniem zwiększonej ilości jonów potasowych we krwi konserwowanej.

2^o. U ludzi, którzy stracili pewną ilość krwi, mogą wystąpić objawy toksyczne już przy wlewaniu około 500 cm³ konserwowanej krwi, zawierającej potas w osoczu powyżej 80 mg%.

3^o. Przed przetaczaniem konserwowanej krwi powinno się kontrolować poziom potasu w jej osoczu dla ewentualnego wykluczenia użyteczności.

Piśmiennictwo.

Dowman C. B. B., Oliver J. O. and Young I. M. 1940. Brit. med. J. Nr. 4135 (559).

Fischer H. 1941. Schweiz. med. Wschr. 1941 I (173).

- De Gowin E. L., Hardin R. C. and Harris J. E. 1940. J. amer. med. Assoc. **114** (858).
- Houssay B. A. 1941. Riv. Biol. **31** (410).
- Jeanneney G. et Servantie L. 1938. C. r. Soc. Biol. **129** (1189).
- Keith N. M. and Binger M. W. 1935. J. amer. med. Assoc. **105** (1584).
- Kiersz J. 1947 Arch. int. Pharmacodyn. **74** (12).
- Kiersz J. 1947. Nowiny Lek. **54** (247).
- Kramer B. and Tisdall F. F. 1921. Journ. biol. Chem. **46** (339).
- Miliuskevich G. F. 1938. Fiziolog. Žur. S. S. S. R. **25** (745).

I. Badania nad przeobrażeniem owadów. Część XIV. Mechanizm regulacji przemiany materii w okresie poczwarkowym. Rola Tyrozynazy *).

Investigations on Insect Metamorphosis. Part XIV. The Regulation of the Metabolism during Pupal Stage. The Role of Tyrosinase.

Józef Heller:

(Zakład Fizjologii Zwierząt Uniwersytetu we Wrocławiu).

The respiration of pupa-brei of the hawk moth (*Celerio euphorbiae*) during all the pupal stage was estimated in the Warburg apparatus.

The respiration proved to be in the brei as high as in the intact pupa of the same age. The remarkable diminution of the metabolism is not structure-bound, but conditioned by humoral factors. Added cozymaze causes a rise of oxygen consumption, prolonged duration of the respiratory activity and retardation of the blackening of the brei. It is inferred that cozymaze is the main hydrogen acceptor from dehydrogenated metabolites, and that the tyrosinase - tyrosine system is concerned with further transport and oxydation of this hydrogen.

At pH 7.0 all respiration of the brei is stopped. It seems to be the isoelectrical point of some essential catalyst.

*) Badania przedstawione w niniejszej pracy wykonałem w r. 1940/41 jako gość w Zakładzie Chemii Lekarskiej U. J. K. we Lwowie i przedstawiłem ich wyniki na posiedzeniu Tow. Fizjol. we Lwowie wiosną 1941 roku. Protokoły doświadczeń uległy zniszczeniu w Warszawie w r. 1944. Prof. Parnasowi jako Kierownikowi Zakładu dziękuję na tym miejscu za udzieloną gościnę.

The effect of the Lebedew Yeast — juice on the respiration of the brei is described and discussed.

I

Okres poczwarkowy charakteryzuje się wybitnym obniżeniem przemiany energetycznej, która w okresie zimowania może spaść poniżej 10% wartości pierwotnej. Stwierdził to już *T a n g l*²⁾, który pierwszy podkreślił znaczenie fizjologiczne tego zjawiska. *D e e g e n e r*³⁾ uzasadniał je koniecznością przebudowy organów larwalnych w imaginalne, przez co większość organów łącznie z przewodem pokarmowym na dłuższy czas staje się niezdolna do pełnienia funkcji. *K r o g h*⁴⁾ rozwinął tę myśl dalej i przyjął, że przemiana materii maleje w miarę postępu histolizy skutkiem ubytku zorganizowanej tkanki i założył, że wielkość przemiany jest w każdej chwili proporcjonalna do ilości tkanki zorganizowanej. Ten pogląd zdają się dzielić wszyscy następni badacze. *N. p. F i n k*⁵⁾ mówi wprost o bardziej lub mniej intensywnej histolizie na podstawie pomiarów zużycia tlenu.

*D. M. N e e d h a m*⁶⁾ zwraca jednak słusznie uwagę, że dane histologiczne nie tylko nie uzasadniają takiej interpretacji, ale nawet czynią ją nieprawdopodobną. Zagadnienie to zyskało jeszcze na znaczeniu z chwilą stwierdzenia⁷⁾ regulacji przemiany podstawowej u zimujących poczwarek w zależności od temperatury otoczenia. Było rzeczą jasną, że działający tu mechanizm może nam wyjaśnić zasadnicze zagadnienie od czego zależy natężenie metabolizmu spoczynkowego na jednostkę masy ciała.

W r. 1930 w pracy wykonanej wspólnie z *A. M o k ł o w s k ą*⁸⁾ stwierdziliśmy, że zawartość fosforanów w hemolimfie poczwarki jest odwrotnie proporcjonalna do wysokości przemiany materii. Krzywa zawartości fosforanów jest negatywem krzywej zużycia tlenu. Nasunęło się przypuszczenie, że mechanizm regulacji przemiany związany jest z defosforyzacją jakiegoś składnika tkanek. Istotnie w r. 1935 znalazłem⁹⁾ w okresie poczwarkowym wybitne zmniejszenie w tkankach zawartości t. zw. fosforu chwiejnego, który wówczas utożsamiano z fosforem kwasu adenozyno-trójfosforowego, kofer-

mentem przemiany węglowodanowej mięśnia. Można więc było przypuszczać, że mechanizm regulacji metabolizmu jest natury humoralnej, że polega na enzymatycznej inaktywacji jednego lub więcej kofermentów, niezbędnych do normalnego przebiegu procesów przemiany materii. Celem wyjaśnienia tej kwestii podjąłem poniżej przedstawione badania na miazdze z roztartych poczwerek.

Metoda badania:

Zimujące poczwarki wilczomlecza (*Celerio euphorbiae*) w różnych stadiach rozwoju rozcierano z piaskiem i 9-ciokrotną ilością moderatora fosforanowego M/15 o pH 6.2. Jeden ml miazgi umieszczano w naczynku oddechowym aparatu Warburga, wprowadzając do bocznej nasadki 0.1 ml KOH 10% dla wązania wydzielanego dwutlenku węgla. Po połączeniu z manometrami zawieszano naczynka w kąpeli wodnej o 18° C i wstrząsano mechanicznie 60x na minutę. Wszystkie doświadczenia prowadzono conajmniej przez 3 godziny, niektóre trwały do 9 godzin. Reszta miazgi, złana do próbówki, trzymała się w chłodni do 24 g, bez zmian, czerniejąc jedynie na powierzchni. Przy wstrząsaniu próbówki ciemna barwa znikała, z czego wynika, że w tych warunkach powstawanie melaniny jest odwracalne. Na układzie izolowanym stwierdził Raper¹⁰⁾, że z chwilą powstania pierwszego zabarwionego produktu utleniania tyrozyny, t. j. hallachromu, proces staje się nieodwracalny.

Specjalnych prób na jałowość nie wykonywano, przyjmując za Weinlandem¹⁾ jako dostateczne kryterium: stałość, równomierność wyników i malejący przebieg zużycia tlenu.

Wyniki: We wszystkich doświadczeniach oddychanie miazgi okazało się wprost proporcjonalne do mierzonego uprzednio oddychania całej poczwarki. Wartości bezwzględne są wyższe u miazgi o 50 — 80%, co może się tłumaczyć zwiększeniem powierzchni. Zużycie tlenu krótko po zapoczwarczeniu i na krótko przed wylęgiem przekroczyło 300 ml na godz. i kg wagi poczwarki. W doświadczeniach prowadzonych do 6 godzin zużycie tlenu było bardzo równomierne, spadając nieznacznie lecz stale po kilka % na godzinę. Czernienie miazgi było nieznaczne.

Podobnie jak u żywych poczwerek wykazywaliśmy w miazdze coraz mniejsze zużycie tlenu z wiekiem, aż do minimum w okresie latencji. Minimum wynosiło od 20 do 45 ml

tlenu na kg/godz . Z wiosną zaczęło się narastanie oddychania aż do 300 — 350 $\text{ml kg}/\text{godz}$. przy wylęgu. Pomiarzy dały zatem krzywą o kształcie litery U, charakterystyczną dla oddychania nieuszkodzonych poczwarek. Dowodzi to, że regulacja metabolizmu w okresie poczwarkowym jest niezależna od struktury, od istnienia mniejszej czy większej ilości zorganizowanej tkanki. Tkanki rozarte zużywają tyleż samo tlenu, co nieuszkodzone, wykazując zwiększenie zużycia O_2 conajwyżej o kilkadziesiąt procent, gdy różnice między metabolizmem poszczególnych okresów wyrażają się tysiącami procentów. Mechanizm regulacji polegać więc musi na zmianach w samym układzie oksydacyjnym, na zmianach o charakterze chemicznym, nie morfologicznym.

II

Celem zorientowania się w zależności oddychania od pH, przeprowadzono szereg doświadczeń z moderatorami bardziej zasadowymi niż stale stosowany o pH 6.2. Okazało się, że ku pH 7.0 zużycie tlenu maleje, by przy pH 7 ustać prawie zupełnie. Przy pH 7.2 i więcej stwierdzono ponowny wzrost oddychania. Można przypuszczać, że pH 7 stanowi punkt izoelektryczny jakiegoś fermentu, istotnego dla spraw oddychania. Sprawą tą zamierzamy się zająć dokładniej w przyszłych badaniach.

III

Przy rozważaniu sprawy kofermentów, których defosforylizacja może obniżyć natężenie przemian metabolicznych, na pierwszy plan wysuwa się kozymaza, jako koferment większości znanych dehydraz. Badaliśmy więc wpływ dodawania kozymazy do miazgi początkowo w postaci zagotowanego wyciągu wodnego z drożdży, później w postaci preparatu kozymazy, który zawdzięczałem uczynności ś. p. prof. P. Ostera.

Na miazgę poczwarek o dużej przemianie dodatek kozymazy nie wywiera wyraźnego wpływu. Natomiast w miazgach o słabym oddychaniu kozymaza powoduje wzrost zuży-

cia tlenu i to tym większy, im słabszym było pierwotnie oddychanie. Tak więc u poczwerek o zmniejszonej przemianie materii jednym z czynników ograniczających jest bez wątpienia ilość kozymazy. Prawdopodobnie zachodzi defosforylacja tego ciała, które jest w ten sposób obok kwasu adenylozotrójfosforowego źródłem przyrostu wolnego fosforanu w krwi. Równocześnie zauważono, że czernienie miazgi, zwiastujące we wszystkich doświadczeniach zamieranie czynności oddechowej, zjawia się po dodaniu kozymazy znacznie później, zatem zużycie tlenu jest nie tylko większe na jednostkę czasu, ale i trwa dłużej. Jeśli dodawano kozymazy do miazgi już czerniejącej, to ciemne zabarwienie znikало.

Obserwacja powyższa posiada kluczowe znaczenie dla zrozumienia roli tyrozynazy w ustroju poczwarki. Jak wiadomo ciemne zabarwienie roztartych owadów polega na utlenieniu tyrozyny przez zacyzyn tyrozynazy. Wstępny ciąg reakcyj tego procesu został wyjaśniony przez R a p e r a i współpracowników¹⁰). Cofanie się zabarwienia świadczy o tym, że pod wpływem kozymazy jakieś produkty pośrednie tej przemiany ulegają redukcji. Tą zatem drogą wołór, przechodzący pod wpływem dehydraz na konzymazę, przenosi się u zimujących poczwerek na tlen. W piśmiennictwie spotykaliśmy już przypuszczenia o roli tyrozynazy jako fermentu oddechowego i próby wykazania takiego jej działania *in vitro*. Wyniki były jednak niezadowalające, ponieważ odnośni autorzy nie znali roli, jaką w tej sprawie odgrywa kozymaza.

Nasuwały się dwie możliwości sprawdzenia powyższej interpretacji. Po pierwsze, wykazanie, że w naszych doświadczeniach nie działa jako ogniwo końcowe oksydaza cytochromowa, która wedle dzisiejszych poglądów jest normalnym pośrednikiem między tlenem a przenośnikami wodoru w t. zw. głównym oddychaniu tak zwierząt jak i roślin, jak i większości drobnoustrojów. Po drugie, przy działaniu tyrozynazy należy oczekiwać jako produktu reakcji między wodorem a tlenem wody utlenionej, która nie powstaje w oddychaniu przez układ cytochromowy. Oba dowody przeprowadzono równocześnie w doświadczeniach z zatrutowaniem miazgi przy pomocy cjanku potasowego. Ciało to zatrufa

oksydazę cytochromową już w stężeniu 1/60.000 M. W naszych doświadczeniach cjanek w tym stężeniu nie wywierał żadnego wpływu, zaś w stężeniu 1/20.000 M dawał wzrost zużycia tlenu o 50%. Takie działanie KCN tłumaczy się wedle Warburga zatruciem katalazy i powinno teoretycznie dać wzrost zużycia tlenu o 100%. Spadek przyrostu na 50% jest następstwem wtórnych reakcyj między cjankiem a wodą utlenioną. Zatem i wynik doświadczeń z cjanikiem przemawia za koncepcją przenoszenia wodoru za pośrednictwem kozymazy na układ tyrozinazowy.

IV

W dalszych doświadczeniach dodawaliśmy do miazgi — po zmierzeniu jej własnego oddychania — soku z drożdży, przyrządzonego wedle L e b i e d i e w a. I w tym wypadku miazga o pełnym oddychaniu nie reagowała na dodatek, natomiast w miazgach o minimalnym oddychaniu własnym występowała gwałtowna reakcja o charakterystycznym przebiegu: W ciągu kilkunastu minut zużycie tlenu rośnie gwałtownie jak w reakcji autokatalitycznej, utrzymuje się na wysokim poziomie przez pół godziny, poczym spada powoli. Po trzech godzinach, czasem wcześniej osiąga oddychanie swój niski poziom wyjściowy z powrotem, a całe zużycie tlenu wynosi w sumie tyleż, ile w tym czasie zużyłaby miazga poczwarki o pełnym oddychaniu. Ze spadkiem zużycia tlenu zauważamy czernienie miazgi, występujące w tych doświadczeniach z niespotykaną pozatym intensywnością. Przy użyciu dializowanego soku Lebediewa otrzymuje się analogiczny przebieg zjawiska, jedynie zużycie tlenu jest w tym wypadku niższe o 25 — 30%. Dodatek kozymazy do dializowanego soku usuwa tę różnicę, co stanowi dalszy dowód, że kozymaza jest składnikiem mechanizmu oddechowego miazgi.

Charakterystyczne działanie soku drożdżowego na miazgę poczwarek możemy wytłumaczyć jako działanie zawartego w nim żółtego fermentu Warburga czyli protoflawu. To flawinowe białko jest specyficzną dehydroazą zredukowanej kozymazy. Utlenia ją, przenosząc z niej dwa wodory na tlen. W świetle tych doświadczeń zdaje się układ tyrozinazowo-

tyrozynowy bez porównania mniej skutecznym przenośnikiem wodoru na tlen niż protoflaw. Skutkiem tej małej sprawności jest w miazdze równowaga między kozymazą a dwuhydrokozy-mazą przesunięta silnie na korzyść ostatniej. Przy dodaniu protoflawu następuje gwałtowne utlenienie nagromadzonej dwuhydrokozy-mazy, co daje opisany gwałtowny a krótko-trwały wzrost zużycia tlenu. Z kolei zostaje naruszona równo-waga między dwuhydrokozy-mazą a chinonami pochodnymi tyrozyny, przez co dochodzi do utlenienia całego tego układu z wytworzeniem melaniny. Pozostaje już tylko „bieżące“ oddychanie przez dehydroazy, kozymazę i protoflaw, ograni-czone przez niewielką zawartość kozymazy w miazdze. Ste-sunek normalnego oddychania miazgi (i poczwarki) podczas latencji do protoflawu przedstawia załączony schemat.

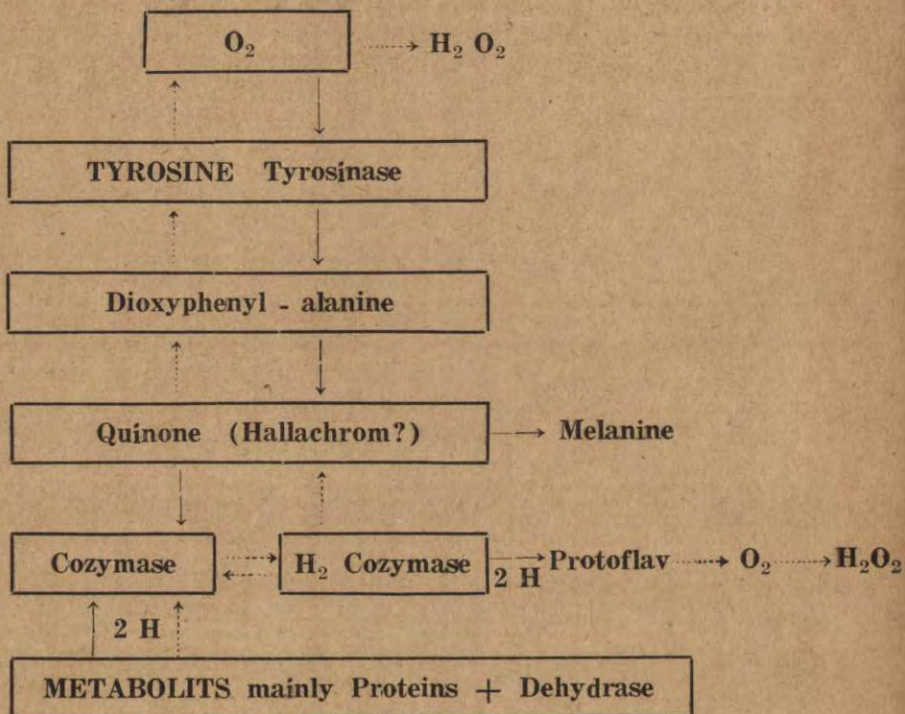
Opisane doświadczenia wyjaśniły fizjologiczną rolę tyro-zynazy u owadów. Znane dotąd działanie tyrozynazy na tyro-zynę z wytworzeniem melanotycznego barwika nie może być uważane za fizjologiczne już choćby dlatego, że występuje tyl-ko przy zranieniach. Zjawisko to jest obecnie zrozumiałe. W ciele nieuszkodzonym istnieje równowaga między formą utlenioną pochodnych tyrozyny, powstającą pod wpływem ty-rozynazy, a formą zredukowaną, która powstaje stale z po-przedniej pod działaniem dwuhydrokozy-mazy. Ta równowaga zostaje zachwiana przez nieograniczony dostęp tlenu przy zra-nieniu i gromadzi się forma utleniona, chinonowa, która się już samorzutnie przetwarza w melaninę.

Pozatym badania te potwierdziły i rozszerzyły nasze po-glądy na mechanizm regulacji przemiany materii, które za-rysowały się już w roku 1935 na podstawie badań nad kwasem adenozynotrójfosforowym. Widzimy, że mechanizm ten jest dwoistej natury. Po pierwsze mamy zastąpienie oksydazy cyto-chromowej przez tyrozynę. W naszym wypadku t. j. w okre-sie poczwarkowym z latencją ten mechanizm gra główną rolę, ale jest to raczej wypadek wyjątkowy, mniej doniosły dla fizjo-logii ogólnej. Natomiast drugi, polegający na zmniejszeniu ilo-ści czynnych kofermentów, zdaje się posiadać znaczenie ogól-ne i nasuwa cały szereg nowych zagadnień. Widzimy, że bez-pośrednim regulatorem wielkości przemiany jest jakaś fosfo-

rylaza, decydująca o stężeniu czynnej formy kofermentów. Jaki jest stosunek tego zaczynu do hormonu zapoczwarczenia?

U kręgowców głównym regulatorem przemiany jest hormon tarczycy. I tu nasuwa się przypuszczenie, że mechanizm jego działania może się wyrażać w regulowaniu stężenia kofermentów oddechowych.

Wreszcie łączą się te sprawy z zagadnieniem istoty przemiany podstawowej, którym zamierzam zająć się obszerniej na innym miejscu.



Schemat działania tyrozyazy i wpływu soku drożdżowego.

Kropkowane strzałki przedstawiają przenoszenie wodoru przez układ tyrozyny-tyrozyazy.

Ciągłe strzałki wskazują zmiany zachodzące w miążdże pod wpływem dodania soku Lebediewa.

The Action of the Tyrosinase and the Influence of the Yeast Juice.

The dotted arrows illustrate the transfer of hydrogen in hibernating pupa by the tyrosine-tyrosinase system.

The continuous arrows indicate the influence of the yeast-juice on the respiration of the brei of hibernating pupae.

Piśmiennictwo.

1. Weinland. 1906. Z. f. Biol. 48 (87).
2. Tangl. 1909. Pflüg. Arch. 130 (55).
3. Deegener. 1909. Die Metamorphose der Insekten. Berl'n. (54)
4. Krogh. 1914. Z. allg. Physiol. 16 (178).
5. Fink. 1925. J. Gen. Physiol. 7 (527).
6. Needham. 1929. Biol. Rev. 4 (307), por. str. 323.
7. Heller. 1925. Pflüg. Arch. 210 (736); 1928. Acta Biol. Exper. 2 (225).
8. Heller i Mokłowska. 1930. Bioch. Z. 219 (473).
9. Heller. 1936. C. R. Soc. Biol. 121 (414).
10. Raper. 1932. Erg. Enzymforsch. 1 (270).

On the mechanical excitability of afferent nerve fibres*).

(Preliminary communication)

L. Lubinska

(Department of Neurophysiology, Nencki Institute of Experimental Biology and Department of Neurophysiology, University of Lodz, Lodz).

It was shown in a previous paper (K o n o r s k i and L u b i n s k a 1946) that regenerating sensory fibres of peripheral nerves in their early stages of regeneration have a very low threshold of mechanical excitability, contrasting with the high threshold of electrical excitability. As the maturation of regenerating fibres proceeds, thresholds of mechanical excitability increase progressively whereas those of electrical excitability decrease.

Since evidence has accumulated which shows that regenerating nerve fibres have many properties in common with normal fibres of small diameter (e. g. the rate of conduction of the nervous impulse, the electrical excitability and spike (Berry, Grundfest and Hinsey 1944, Erlanger and Schoepfle 1946) it seemed interesting to see whether the low threshold of mechanical excitation is a phenomenon particular to the regenerating fibres or whether it is also exhibited by the grown-up fibres of small diameter.

As no oscillographic equipment is as yet available in our laboratory, we have attacked the problem indirectly in the following way. Physiological reactions evoked by afferent impulses of certain groups of nerve fibres were taken as index of their activity instead of action potentials. We have chosen

*) Presented at the XVII International Physiological Congress in Oxford.

for this study afferent fibres of peripheral nerves evoking vasomotor reaction on the one hand and afferents evoking somatic reflexes of skeletal muscles (mainly flexion reflex) on the other. As Clark, Hughes and Gasser (1945) have shown the vasomotor afferents are of C group. The afferent paths of flexion reflex with low electric thresholds are of A group. In spite of many disadvantages of such a method, involving nerve centres for appreciation of peripheral activity, the results obtained may constitute a first approximation to the answer.

Method: Experiments were performed on saphenous, peroneal, tibial, median and ulnar nerves of cats and rabbits under ether or Dial. The stimulation was produced by small hammer falling on the nerve from various heights. The weight of the hammer could also be modified. The animal was usually heparinized and the carotid pressure was recorded during the experiment. Each nerve was stimulated with progressively increasing stimuli and the thresholds of vasomotor and flexion reaction were observed.

The results obtained are summarized in the table. The strength of stimuli is expressed in ergs.

Table
Threshold values of mechanical stimuli of various reflexes, in ergs.

Nerve	Flexion	Carotid pressure	
		Fall	Increase
Saphenous	2100	140	
"	3600	130	
"	3000		40
"	3000		60
Tibial	6300	200	
"	2800	200	
Median	3200	200	

There is a marked difference in thresholds for changes in arterial pressure and for somatic reflexes. The threshold stimulus evoking a fall of pressure was generally about 200 ergs whereas the flexion reflex of fore or hind leg required thousands of ergs. Pressor reflexes could only rarely be evoked in our experimental conditions but when they were present, their threshold was still lower than that of depressor responses. The most sensitive to the mechanical stimulation was the sa-

phenous nerve. Single drops of Ringer solution applied to this nerve or gentle touches with a glass rod gave rise to changes in the arterial pressure. The thresholds were more variable than those generally observed with electrical stimulation. The low thresholds are found only in fresh nerves, during 1 — 1½ hour after preparation. Afterwards the thresholds increase and it is often impossible to get vasomotor reaction from older preparation with a single tap although repetitive stimulation is still effective.

It is impossible to say at present whether the difference between the vasomotor and somatic thresholds is due to greater tendency of C fibres to the repetitive firing after a single stimulus or to the easier evocation of a single nervous impulse by the mechanical stimulus in small fibres than in large ones.

The facts reported are not entirely new. They confirm an observation of Claude Bernard, mentioned in the „Leçons de pathologie expérimentale“. It does not seem it attracted much attention, so we quote the corresponding passage(p. 169):

„Nous avons souvent employé avec succès un nouveau procédé pour constater l'existence de la sensibilité, quand l'animal ne donne aucun signe de douleur; ce moyen... c'est un manomètre très sensible, et que l'on peut adapter aux artères, pour constater la pression du sang et l'énergie du coeur; or, la sensibilité de ce muscle est si grande, qu'une impression pour ainsi dire latente, et qui ne se traduit au dehors par aucun mouvement, sera révélée par l'augmentation de sa force impulsive... On peut toucher un nerf assez légèrement pour ne provoquer aucun mouvement volontaire chez l'animal et que cependant l'élévation du mercure dans l'instrument nous apprend sur le champs que la sensibilité nerveuse a subi une impression“.

This observation, reported in modern terms, would mean that a light mechanical stimulus, subthreshold for somatic sensory fibres of A group, is strong enough to stimulate vasomotor afferents of C group.

The author wishes to acknowledge the technical aid of Miss Z. Afelt and Mr. S. Brutkowski during the experiments.

References.

1. B e r n a r d, Cl. Leçons de pathologie expérimentale. Bail-
lière, Paris, 1872 p. 169.
2. B e r r y, C. M., G r u n d f e s t, H. and H i n s e y, J. C.
1944, J. Neurophysiol. 7, 103.
3. C l a r k, D., H u g h e s, J. and G a s s e r, H. S. 1935/36
Am. J. Physiol. 114, 69.
4. E r l a n g e r, J. and S c h o e p f l e, G. M. 1946, Am.
J. Physiol. 147, 550.
5. K o n o r s k i, J. and L u b i ń s k a, L. 1946 Larcet,
April 27, 609.



