

P 2131

Post. biochem.

POLSKA AKADEMIA NAUK
KOMITET BIOCHEMICZNY

POSTĘPY
BIOCHEMII

KWARTALNIK



TOM IV

1958

ZESZYT 1

PAŃSTWOWE WYDAWNICTWO NAUKOWE
WARSZAWA

<http://rcin.org.pl>

P O L S K A A K A D E M I A N A U K
K O M I T E T B I O C H E M I C Z N Y

POSTĘPY BIOCHEMII

Kwartalnik

TOM IV

1958

ZESZYT 1

PAŃSTWOWE WYDAWNICTWO NAUKOWE

KOMITET REDAKCYJNY

Redaktor naczelny — Józef Heller

Zastępcy red. nac. — Irena Chmielewska i Jerzy Meduski

Sekretarz — Maria Piechowska

Adres Redakcji:

INSTYTUT BIOCHEMII I BIOFIZYKI PAN

Warszawa, Krak. Przedmieście 26/28, tel. 613-66

PAŃSTWOWE WYDAWNICTWO NAUKOWE — WARSZAWA 1958

Nakład 822 egz. (724+98)	Oddano do składania 21.XI.57.
Ark. wyd. 12.75. Ark. druk. 10	Podpisano do druku 21.I.58.
Papier druk. sat. kl. V. 70 g, 70×100	Druk ukończono w marcu 1958
Cena zł 20.—	Zam. 2145c/57. A-22

DRUKARNIA IM. REWOLUCJI PAŹDZIERNIKOWEJ, WARSZAWA

Uczniowie profesora Parnasa zdają sobie sprawę z jego znaczenia jako i Nauczyciela i Badacza i dlatego chcieliby choćby w skromnych ramach jednego zeszytu „Postępów Biochemii” wyrazić swą wdzięczność i uczcić jego pamięć.

Na wstępie do tego zeszytu dwaj najstarsi uczniowie Parnasa starają się odtworzyć ze swych wspomnień charakterystyczny klimat Lwowskiej Pracowni i na tym tle pokazać, jakim był Parnas jako nauczyciel i badacz.

Dwa następne artykuły — to przedruki ze „Wstępu” do podręcznika „Chemja Fizjologiczna” (1922) oraz wykładu wygłoszonego na I Zjeździe Naukowym PTF w Warszawie w 1937 r. Wybrane artykuły najlepiej charakteryzują poglądy Parnasa na zasadnicze problemy biochemii oraz jego stosunek do biochemii polskiej.

Następna praca I. Mochnańskiej, to ostatnia przedwojenna praca Pracowni Lwowskiej, wykonana pod kierunkiem Parnasa i przyjęta przez niego jako doktorska. Nie ogłaszana dotąd drukiem — praca ta posiada nie tylko swą wymowę historyczną, ale zachowała jeszcze zasadniczo swą aktualność naukową.

Na pozostałą część zeszytu składają się prace współczesne dalszych uczniów Parnasa. Redakcja nie krępowała autorów wyborem tematu, to też niektóre artykuły odnoszą się do ich obecnych zainteresowań, nie wiążących się bezpośrednio z ich pobytom w Pracowni Lwowskiej. Jak każą względy gościnności — w pierwszej kolejności umieszczono prace, nadesłane z poza granic kraju, pozostałe zaś — w kolejności ich otrzymania.



A handwritten signature in black ink, appearing to be 'R. A.', written in a cursive style.

16.I.1884 — 29.I.1949

J. HELLER i WŁ. MOZOŁOWSKI

Jakub Karol Parnas

Działalność nauczycielska w latach 1916—1939

Znaczenie działalności nauczycielskiej Jakuba Karola Parnasa dla polskiej biochemii jest naprawdę wielkie; przez wykłady uniwersyteckie, przez kierowanie pracą badawczą, przez pisanie i redagowanie podręczników, przez udział w pracach towarzystw naukowych, a zwłaszcza przez osobisty kontakt ze swoimi asystentami i współpracownikami — wywarł istotne piętno na rozwijającej się polskiej biochemii.

Okres od podjęcia wykładów w Warszawie w 1916 do wybuchu wojny w 1939 to stale rozwijająca się praca badawcza Parnasa i równoległe biegnąca, ale obejmująca coraz szersze kręgi praca nauczycielska. Ten okres należy więc omówić w artykule wstępnym do numeru „Postępów Biochemii” poświęconego jego pamięci.

Okres poprzedni daje się ująć kilkoma datami. Jakub Karol Parnas urodzony 16 stycznia 1884 roku w Tarnopolu, ukończył gimnazjum we Lwowie w 1902 r, chemię studiował w Berlinie, Strasburgu i Zurychu; doktorat filozofii uzyskuje w Monachium w 1907 r, habilituje się w 1914 r na Wydziale Lekarskim Uniwersytetu w Strasburgu. Praca w stacji zoologicznej w Neapolu i pobyt w Cambridge, uzupełniają bogaty okres jego przygotowania do samodzielnej i kierowniczej pracy biochemicznej, którą podejmuje w 1916 r w Warszawie, a którą z takim efektem będzie prowadził do 1939 roku w Lwowie.

O latach wojennych i późniejszych nie możemy pisać obszerniej; brak dokładnych informacji mógłby dać błędny obraz stanu faktycznego. Wiemy, że w 1941 dzięki ewakuacji do Ufy w ZSRR, uniknął losu profesorów wymordowanych przez Niemców we Lwowie. Wiemy, że spotykały go w tym czasie zaszczyty, zarówno w ZSRR (nagroda Stalina, order Lenina, wybór na rzeczywistego członka Akademii Medycznych Nauk w ZSRR), jak i w krajach Zachodu (honorowy doktorat Sorbony w 1945, wybór na członka francuskiej Akademii Medycznej w 1945). Wiemy jednak, że i przykrości nie brakło, tzw. represje w okresie walki z mendelizmem i morganizmem

nie oszczędziły także Parnasa; w styczniu 1949 roku zostaje aresztowany i 29 stycznia 1949 umiera w Moskwie; jakie było tło aresztowania i czym zostało spowodowane, nie jesteśmy w stanie odpowiedzieć. Wiemy tylko, że pośmiertnie został zrehabilitowany i że koledzy radzieccy przygotowują publikację poświęconą jego osobie.

Przybywając w r 1916 ze Strasburga do Warszawy prof. Parnas podejmował swą działalność w oparciu o gruntowne przemyślenie istotnych celów i zadań biochemii, a także środków, którymi się ona posługuje. Wstęp do podręcznika Chemii Fizjologicznej, napisany w pierwszych latach jego pracy w Polsce ujmuje te sprawy tak wyraźnie, ujęcie jest w wielu sprawach tak aktualne, że i dzisiejszy biochemik nie bez korzyści te strony przeczyta. Ten znakomity nauczyciel zdaje sobie dobrze sprawę z nastawienia swoich słuchaczy i czytelników, z ich przywiązania do wszystkiego co polskie, ale także i z pewnego poczucia mniejszej wartości, które od lat zaborcy starali się zasiać we wszystkich Polakach; dlatego sięga po przykłady takich polskich badaczy jak Jędrzej Śniadecki, Marceli Nencki, nie zaniedba nigdy uwzględnienia rzetelnej polskiej pracy badawczej, ale gorąco zwalcza to, co nazywał „ciem ochronnym dla polskiej nauki” tj. uwzględnianie mniej zasłużonych badań tylko dlatego, że wykonane były przez Polaków. Widział w tym (i tak instruował swych uczniów) wyraz poczucia mniejszej wartości. Wydaje się nam, że takie stanowisko jest jedynie właściwe i jedynie ono pozwala na krytykę wszechstronną. Oczywiście nie jest to pozycja wygodna, naraża na ataki ze strony tych, którzy chcieliby uniknąć bezstronnej krytyki. Toteż prof. Parnas miał związane z jego postawą kłopoty, spotykały go złośliwości, ale nie było to jednostronne; w dyskusji, zaprawianej dowcipem i ironią, nie łatwo dawał się pokonać. Dzięki temu w jego pracowni i na terenie jego działalności nie było zastoju, stale wrzało; nowe wyniki badań, zastosowanie nowych metod, sprzeczności różnych autorów i kontrola, kto też ma rację — były przedmiotem ożywionych rozmów toczonych z niemniejszym zainteresowaniem, jak o najciekawszych uniwersyteckich lwowskich czy też innych środowisk, plotkach. Atrakcyjność pracowni kierowanej przez prof. Parnasa polegała, tak nam się wydaje, w dużej mierze na tym, że brak było „celebrowania” i „dostojeństwa”, że głupstwo, choćby w pracy wybitnego badacza nazywano po imieniu i że nie cofano się przed przykrością odwołania, gdy się samemu takie głupstwo zrobiło. A przy tym pasja w badaniu; gdy znaleziono złotą żyłę nowego nieznanego zjawiska, rozpoczynano eksploatację bardzo intensywną. Po stwierdzeniu amoniogenezy w krwi, a później w mięśniach czy przy wykazywaniu nieznanego etapu glikolizy, następowała praca wyczerpująca i kierownika i jego współpracowników, ale wiodąca do ogłoszenia wyników w stosunkowo krótkim czasie i to w sposób, który doświadczałnie i w wykorzystaniu piśmiennictwa, a także w dyskusji rzuca-

jącej zarys dalszego planu pracy, mało pozostawiał do życzenia. Stosunek prof. Parnasa do zagadnień, które opracowywano w jego zakładzie, ale które nie od niego pochodziły, był na początku naogół mało entuzjastyczny. Pozwalał na nie, umożliwiał ich prowadzenie przez oddanie do dyspozycji środków zakładu, ale dopiero po uzyskaniu pierwszych wyników wkraczał aktywnie. To wkroczenie miało charakter dyskusji i wysuwania wszelkich możliwych zarzutów i trudności; atakowany, musiał dobrze się namęczyć, argumentacją, często zestawieniem nowych doświadczeń, by swego przeciwnika, jakim stawał się kierownik, przekonać. Gdy to się jednak udało, zyskiwał w przeciwniku sprzymierzeńca, który nie szczędził swojej pomocy. Ta pomoc uwydatniała się szczególnie przy pierwszych publikacjach; i chociaż praca nieraz nie podawała prof. Parnasa jako współautora, było w niej wiele jego udziału, nie tylko w krytyce doświadczeń i w dyskusji wniosków, ale i w formie. Zupełnie inny był stosunek do prac przeglądowych, rozdziałów w podręcznikach, prac popularyzujących; tutaj trzymał się ściśle roli kierownika stwierdzającego czy praca się nadaje do ogłoszenia czy nie, określał słabe strony i błędy, proponował ich ewentualne poprawki, ale sam tutaj nie wkraczał. W miarę rozwijania się indywidualności badawczej swoich uczniów i w tych pracach badawczych, które nie dotyczyły tematu jego zainteresowań udzielał swej rady i krytyki, ale nie przekraczał tego co jest zwyczajnym udziałem kierownika. Wydaje się nam, że właśnie to stopniowanie samodzielności, początkowe prowadzenie za rękę zwłaszcza we wspólnych z nim pracach, z późniejszym dawaniem coraz większej samodzielności (ale samodzielności kontrolowanej), było znakomitą sposobem kształcenia pracowników. To co charakteryzowało nastrój pracowni Parnasa to była ciekawość, często zbaczająca na tereny innych niż biochemia nauk; wzajemnie informowano się nie tylko o nowościach biochemicznych, ale i z innych nauk chemicznych i fizycznych, a nie rzadko i o nowych powieściach polskich i obcych. Poczucie humoru było niezbędnym warunkiem wyzyskania nastroju pracowni. Ofiarami dowcipnych powiedzeń byli wszyscy nie wyłączając kierownika; kształtowały się tą drogą sposoby wyrażania się właściwe tylko naszej pracowni i tworzące jak gdyby odrębny, dla innych niezrozumiały język. Tak np. określenie „jak wiadomo” oznaczało, że o danym fakcie dowiedział się ten, który używa tego zwrotu od bardzo niedawnego czasu. Powstało to określenie jako złośliwa reakcja na formę zawiadomienia nas przez „mistrza” o nowych zdobyczach biochemii, a mianowicie, gdy podał nam do wiadomości coś zupełnie nowego, dodawał pytanie „to panowie tego nie wiecie”. Ponieważ mieliśmy zezwolenie mistrza przeglądania świeżo nadesłanych czasopism leżących na jego biurku, z zastrzeżeniem nie zabierania ich stamtąd, korzystaliśmy z tego w czasie wykładów profesora i niejedna wiadomość, o której nas mistrz po przejrzeniu czasopism zawiadamiał nie była nam obca. I tak

przeżyliśmy pracę Roughtona donoszącą o wykryciu karbanhydryzy. Gdy po wykładzie i przeglądnięciu czasopism profesor podaje, że reakcję powstawania kwasu węglowego z dwutlenku węgla i wody katalizuje specjalny enzym i kończy to zawiadomienie zwykłym pytaniem: „To panowie tego nie wiecie?”, spotyka się z odpowiedzią: „Ależ to wiadomo, przecież karbanhydraza jest w krwinkach”. Chwila zdumienia i ogólne zadowolenie z dowcipu. Takich powiedzeń było wiele i spora ich część przeszła do pracowni uczniów Parnasa. Taka swoboda, brak „dostojeństwa” i „celebrowania” był tylko dlatego możliwy, że „mistrz” nie bał się o swój autorytet, a uczniowie wiedzieli dobrze o wartości jego jako badacza. I to badacza wielkiej miary, który nie tylko dodawał do wielkiej liczby znanych biochemicznych faktów nowe dotychczas nieznanne, ale który potrafił przeprowadzać wielkie i śmiałe uogólnienia. To właśnie, że był wielkim badaczem umożliwiło mu jego działalność nauczycielską. O rozmiarach tej działalności może świadczyć wykaz nazwisk uczniów, którzy ogłosili drukiem prace wykonane w Zakładzie Chemii Lekarskiej we Lwowie w latach od 1925 do 1939 a więc w okresie piętnastu lat. Byli to: A. Audowa, Z. Augustin, T. Baranowski, St. Chrzaszczewski, J. Dadlez, K. Gibayło, J. Guthke, J. Heller, St. Hubl, W. Jankowska, E. Kalwaryjski, R. Klimek, A. Klisiecki, T. Korzybski, Leonia Kriss, W. Lewiński, Cecylia Lutwak-Mann, T. Mann, Wanda Mejbaum, I. Mochnacka, Wł. Mozołowski, Urszula Mroczkiewicz, A. Nadel, P. Ostern, J. Reis, A. F. Schütz, J. Sieniawski, W. Słobodzian, B. Sobczuk, W. Szankowski, M. Taubenhau, J. Terszakowec, B. Umschweif, J. Vogelfänger, Bez działalności J. K. Parnasa byłaby polska biochemia znacznie uboższa.

PRACE JAKUBA KAROLA PARNASA
wykonane w latach 1907—1939

A. Prace badawcze

1. R. Willstätter und J. Parnas — *Über 2-6-Naphthochinon*, Ber. Chem. Ges. **40**, 1406—1415, 1907.
2. R. Willstätter und J. Parnas — *Über amphi-Naphthochinone*. II, Ber. Chem. Ges. **40**, 3971—3978, 1907.
3. J. Parnas — *Über Naphthochinone*, Dissertation. München, 1908, 9—95.
4. J. Parnas — *Über Kephalin*, Biochem. Z. **22**, 411—432, 1909.
5. J. Parnas — *Energetik glatter Muskeln*, VIII Internationaler Physiologen Kongress, Wien, 27—30 September 1910.

6. J. Parnas — *Energetik glatter Muskeln*, Pflügers Arch. ges. Physiol. **134**, 441—495, 1910.
7. J. Parnas — *Über fermentative Beschleunigung der Cannizaroschen Aldehydumlagerung durch Gewebssäfte. I*, Biochem. Z. **28**, 274—294, 1910.
8. J. Parnas — *Über Bildung von Glykogen aus Glycerinaldehyd in der Leber*, Zbl. Physiol. **26**, 671—672, 1912.
9. J. Parnas — *Über das Schicksal der stereoisomeren Milchsäuren im Organismus des normalen Kaninchens*, Biochem. Z. **38**, 53—64, 1912.
10. J. Parnas und J. Baer — *Über Zuckerabbau und Zuckeraufbau im Tierischen Organismus*, Biochem. Z. **41**, 386—418, 1912.
11. J. Parnas — *Über die gesättigte Fettsäure des Kephalins*, Biochem. Z. **56**, 17—20, 1913.
12. J. Parnas und R. Wagner — *Über den Kohlenhydratumsatz isolierter Amphibienmuskeln und über die Beziehungen zwischen Kohlenhydratschwund und Milchsäurebildung im Muskel. I*, Biochem. Z. **61**, 387—427, 1914.
13. J. Parnas — *Über das Wesen der Muskelerholung*, Zbl. Physiol. **30**, 1—18, 1915.
14. J. K. Parnas und E. Laska-Mintz — *Beeinflussen subminimale Reize den Ablauf chemischer Umsetzungen im isolierten Muskel?*, Biochem. Z. **116**, 59—70, 1921.
15. J. K. Parnas — *Über den Kohlenhydratstoffwechsel des isolierten Amphibienmuskeln II*, Biochem. Z. **116**, 71—88, 1921.
16. J. K. Parnas — *Über den Kohlenhydratstoffwechsel der isolierten Amphibienmuskeln, III. Der Umsatz in Muskeln. pankreasdiabetischer Tiere*, Biochem. Z. **116**, 89—101, 1921.
17. J. K. Parnas — *Über den mechanischen Wirkungsgrad der in isolierten Amphibienmuskeln stattfindenden Verbrennungsprozesse (Vorläufige Mitteilung)*, Biochem. Z. **116**, 102—107, 1921.
18. J. K. Parnas und Z. Krasieńska — *Über den Stoffwechsel der Amphibienlarven*, Biochem. Z. **116**, 108—137, 1921.
19. J. K. Parnas und R. Wagner — *Über die Ausführung von Bestimmungen kleiner Stickstoffmengen nach Kjeldahl*, Biochem. Z. **125**, 253—256, 1921.
20. R. Wagner und J. K. Parnas — *Über die eigenartige Störung des Kohlenhydratstoffwechsels und ihre Beziehungen zum Diabetes mellitus. II. Eine klinisch-experimentelle Studie*, Z. ges. exp. Med. **25**, 361—384, 1921.
21. J. K. Parnas und R. Wagner — *Beobachtungen über Zuckerneubildung, I. Nach Versuchen, die an einem Falle besonderer Kohlenhydratstoffwechselstörung angestellt wurden*, Biochem. Z. **127**, 55—65, 1922.
22. R. Wagner und J. K. Parnas — *Zur Korrelation der Blutdrüsen*, Medizinische Klinik, **18**, 135—138, 1922.
23. J. K. Parnas i W. Jasiński — *Rozmieszczenie składników krwi niekoloidowych pomiędzy osocze i krwinki na podstawie analiz krwi rodzimej*, Sprawozdania T-wa Naukowego we Lwowie, **2**, 163—164, 1922.
24. J. K. Parnas und W. v. Jasiński — *Über die Verteilung von Zucker. Reststickstoff und Calcium im Blute*, Kli. Wo. **1**, 2029—2030, 1922.
25. J. K. Parnas, A. Rosenblüth und R. Wagner — *Über den Einfluss der Kohlehydrate auf den Grundumsatz. Nach Versuchen, die an einem Falle besonderer Kohlehydratstoffwechselstörung angestellt wurden. IV*, Z. ges. exp. Med. **38**, 445—457, 1923.
26. J. K. Parnas i J. Heller — *O zawartości amoniaku we krwi*, Sprawozdania T-wa Naukowego we Lwowie, **4**, 150—161, 1924.

27. J. K. Parnas et J. Heller — *Recherches sur l'ammoniaque du sang*, C. R. Soc. Biol. **91**, 706—707, 1924.
28. J. K. Parnas und J. Heller — *Über den Ammoniakgehalt und über die Ammoniakbildung im Blute I*, Biochem. Z. **152**, 1—28, 1924.
29. J. K. Parnas — *Über den Ammoniakgehalt und über die Ammoniakbildung im Blute II*, Biochem. Z. **155**, 247—255, 1925.
30. J. K. Parnas — *Badania nad amoniakiem zawartym we krwi i nad jego pochodzeniem*. Księga Pamiątkowa XII Zjazdu Lekarzy i Przyrodników Polskich w Warszawie, T. I. 272—274, 1925.
31. J. K. Parnas und M. Taubenhaus — *Über den Ammoniakgehalt und die Ammoniakbildung im Blute. III. Die Entstehung des Blutammoniaks*, Biochem. Z. **159**, 298—310, 1925.
32. J. K. Parnas und A. Klisiecki — *Über Ammoniakgehalt und Ammoniakbildung im Blute. IV. Ist im kreisenden Blute Ammoniak vorhanden?*, Biochem. Z. **169**, 255—265, 1926.
33. Wł. Mozołowski und J. K. Parnas — *Über eine neue Form der Chinhydronelektrode*, Biochem. Z. **169**, 352—354, 1926.
34. J. K. Parnas — *O amoniaku krwi, jego pochodzeniu i warunkach powstawania*, Sprawozdania T-wa Naukowego we Lwowie, **6**, 156—158, 1926.
35. J. K. Parnas — *A vérben élvö amoniakról és koletktozési médjáról. Therapia II*, Evfoljan Kvianyí Szám. 77—88, 1926.
36. J. K. Parnas und A. Klisiecki — *Über den Ammoniakgehalt und die Ammoniakbildung im Blute. VI. Experimentelle Untersuchungen über die Faktoren welche, den Ammoniakgehalt des kreisenden Blutes beeinflussen, und über die Lokalisation der Ammoniakbildung und des Ammoniakschwundes beim Kaninchen*, Biochem. Z. **173**, 224—248, 1926.
37. J. K. Parnas — *On ammonia in blood, its formation and its physiological behaviour*, XII-th International Physiological Congress held at Stockholm, August 3—6, 1926, Skandinav. Archiv, **49**, 199—200, 1926.
38. J. K. Parnas — *Existe-t-il des sels ammoniacaux dans le sang circulant?*, Bull. Soc. Chim. Biol. **9**, 76—90, 1927.
39. J. K. Parnas, Wł. Mozołowski — *Badania nad przemianą azotową mięśnia. I i II*, Sprawozdania T-wa Naukowego we Lwowie, **7**, 105—106, 112—113, 1927.
40. J. K. Parnas und Wł. Mozołowski — *Über den Ammoniakgehalt und die Ammoniakbildung im Muskel und deren Zusammenhang mit Funktion und Zustandsänderung. I*, Biochem. Z. **184**, 399—441, 1927.
41. J. K. Parnas und Wł. Mozołowski — *Über die Ammoniakbildung im Muskel und ihren Zusammenhang mit Tätigkeit und Zustandsänderung*, Kli. Wo. **6**, 998—999, 1927.
42. J. K. Parnas, Wł. Mozołowski i W. Lewiński — *Powstawanie amoniaku w mięśniach a praca*, Sprawozdania T-wa Naukowego we Lwowie, **7**, 167—168, 1927.
43. J. K. Parnas, Wł. Mozołowski i W. Lewiński — *Praca mięśniowa i amoniak krwi*, Sprawozdania T-wa Naukowego we Lwowie, **7**, 168, 1927.
44. J. K. Parnas, Wł. Mozołowski und W. Lewiński — *Über die Ammoniakbildung im isolierten Muskel und ihren Zusammenhang mit der Muskelarbeit*, Kli. Wo. **6**, 1710—1711, 1927.
45. J. K. Parnas, Wł. Mozołowski und W. Lewiński — *Über den Ammoniakgehalt und Ammoniakbildung im Blute. IX. Der Zusammenhang des Blutammoniaks mit der Muskelarbeit. III. Über Ammoniakbildung im Muskel*

- und deren Zusammenhang mit Funktion und Zustandsänderung, *Biochem. Z.* **188**, 15—23, 1927.
46. J. K. Parnas — *Badania nad powstawaniem amoniaku i zależnością tej sprawy od czynności i stanu mięśni*, *Acta Biol. Exp.* **1**, 1—83, 1928.
 47. J. K. Parnas — *Badania nad ciałami aminopurynowymi mięśni oraz uwagi o tzw. stosunku jądrowo-plazmatycznym*, *Sprawozdania T-wa Naukowego we Lwowie*, **8**, 104, 1928.
 48. J. K. Parnas, J. Jaworska, W. Lewiński i Wł. Mołozowski — *O sprzężeniu dezaminacyj beztlenowych z tlenowymi i o przypuszczalnej funkcji chemicznej zasad aminopurynowych zawartych w kwasach nukleinowych*, *Sprawozdania T-wa Naukowego we Lwowie*, **8**, 212—215, 1928.
 49. J. K. Parnas — *Über den Purinstoffwechsel des Muskels und über die Muttersubstanz des im Muskel entstehenden Ammoniaks. I*, *Kli. Wo.* **7**, 1423—1424, 1928.
 50. J. K. Parnas — *Über den Purinstoffwechsel des Muskels und über die Muttersubstanz des im Muskel entstehenden Ammoniaks. II*, *Kli. Wo.* **7**, 2011—2012, 1928.
 51. J. K. Parnas — *Présentation d'un appareil pour l'épuisement rapide des solutions aqueuses par des dissolvants légers que l'eau*, *Bull. Soc. Chim. Biol.* **11**, 796—797, 1929.
 52. J. K. Parnas — *Sur l'existence du lactacidogène*, *Bull. Soc. Chim. Biol.* **11**, 802—803, 1929.
 53. J. K. Parnas — *Les composés puriques du muscle et leurs transformations physiologiques*, *Bull. Soc. Chim. Biol.* **11**, 803—804, 1929.
 54. J. K. Parnas — *Le métabolisme du muscle en activité*, *C. R. Soc. Biol. (Réunion plénière)*, **101**, 37—72, 1929.
 55. J. K. Parnas — *Ammonia formation in muscle and its source*, *Am. J. Physiol.* **90**, 467, 1929.
 56. J. K. Parnas — *Über den Ammoniakgehalt des menschlichen Blutes*, *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **221**, 508, 1929.
 57. J. K. Parnas — *Über die Ammoniakbildung im Muskel und ihren Zusammenhang mit Funktion und Zustandsänderung. VI. Der Zusammenhang der Ammoniakbildung mit der Umwandlung des Adeninnucleotids zu Inosinsäure*, *Biochem. Z.* **206**, 16—38, 1929.
 58. J. K. Parnas, W. Lewiński, J. Jaworska und B. Umschweif — *Über den Ammoniakgehalt und die Ammoniakbildung im Froschmuskel. VII*, *Biochem. Z.* **228**, 366—400, 1930.
 59. J. K. Parnas — *Neue Untersuchungen über den Chemismus der Muskelkontraktion*, *Naturwissenschaften*, **18**, 916, 1930.
 60. P. Ostern i J. K. Parnas — *O rzekomej syntezie kwasu moczowego przez miazgę wątrobową*, *Acta Biol. Exp.* **5**, 19—31, 1930.
 61. J. K. Parnas i P. Ostern — *O powstaniu amoniaku w sercu żabim przeżywającym*, *Sprawozdania T-wa Naukowego we Lwowie*, **11**, 36—37, 1931.
 62. P. Ostern i J. K. Parnas — *O powstawaniu amoniaku w związku z czynnością serca*, *Acta Biol. Exp.* **7**, 27—47, 1931.
 63. J. K. Parnas und P. Ostern — *Über die Ammoniakbildung im isolierten Froschherzen. II*, *Biochem. Z.* **234**, 307—322, 1931.
 64. J. K. Parnas — *Über die Muttersubstanz des im Blut und Muskel entstehenden Ammoniaks*, *Biochem. Z.* **239**, 18—20, 1931.
 65. J. K. Parnas — *Über die postmortale Ammoniakbildung im Muskel*, *Biochem. Z.* **245**, 159—165, 1932.

66. J. K. Parnas i P. Ostern — *O mianowaniu farmakologicznym pochodnych adenozytowych w tkankach i wyciągach*, Sprawozdania T-wa Naukowego we Lwowie, **12**, 62, 1932.
67. J. K. Parnas i P. Ostern — *O przemianie nukleotydu adeninowego w sercu i o związku tej przemiany z powstawaniem amoniaku w sercu*, Sprawozdania T-wa Naukowego we Lwowie, **12**, 62—63, 1932.
68. P. Ostern und J. K. Parnas — *Über die Auswertung von Adenosinderivaten am überlebenden Froschherz*, Biochem. Z. **248**, 389—397, 1932.
69. J. K. Parnas und P. Ostern — *Über die Ammoniakbildung im Herzen. III. Über das Adeninnucleotid im überlebenden Froschherzen*, Biochem. Z. **248**, 398—402, 1932.
70. R. Klimek und J. K. Parnas — *Adenylsäure und Adeninnucleotid*, Biochem. Z. **252**, 392—396, 1932.
71. J. K. Parnas — *Über Ammoniakbildung in der Auftauungskontraktur und der Jodessigsäurekontraktur*, Kli. Wo. **11**, 335, 1932.
72. J. K. Parnas und P. Ostern — *Über die Herzwirkung von Adeninderivaten, insbesondere von Nucleosiden und Nucleotiden*, Kli. Wo. **11**, 1551—1552, 1932.
73. J. K. Parnas und R. Klimek — *Adenylsäure und Adeninnucleotid*, Z. physiol. Chem. **217**, 75—78, 1933.
74. R. Klimek und J. K. Parnas — *Über die Reaktionen der Purinbasen mit Kupfersulfat und Alkali*, Z. Physiol. Chem. **218**, 30—32, 1933.
75. J. K. Parnas und J. Sieniawski — *Eine photometrische Methode zur Bestimmung des Kohlenoxyds im Blute. I*, Biochem. Z. **266**, 102—106, 1933.
76. J. K. Parnas — *A propos des diastases déphosphorylantes et désaminantes des tissus musculaire et cardiaque. IVe Congrès de Chimie Biologique*, 8—10 Novembre 1933, Bull. Soc. Chim. Biol. **15**, 1384—1385, 1933.
77. J. K. Parnas, P. Ostern und T. Mann — *Über die Verkettung der Chemischen Vorgänge im Muskel*, Biochem. Z. **272**, 64—70, 1934.
78. J. K. Parnas — *Über den Ammoniakgehalt und die Ammoniakbildung im Blute. XI*, Biochem. Z. **274**, 158—162, 1934.
79. J. K. Parnas, P. Ostern — *Chemistry of anaerobic recovery in muscle*, Nature (London), **134**, 627, 1934.
80. J. K. Parnas, P. Ostern, T. Mann — *Linkage of chemical changes in muscle*, Nature (London), **134**, 1007, 1934.
81. J. K. Parnas i P. Ostern — *O mechanizmie glikogenolizy mięśniowej*, Przegląd Fizjologii Ruchu, **6**, 255—266, 1934.
82. J. K. Parnas, P. Ostern i T. Mann — *O istocie i funkcji fizjologicznej amonjogenezy mięśniowej i o sprzężeniu procesów chemicznych w mięśniu*, Roczniki Chemii, **14**, 1358—1376, 1934.
83. J. K. Parnas, P. Ostern und T. Mann — *Über die Verkettung der chemischen Vorgänge im Muskel. II*, Biochem. Z. **275**, 74—86, 1935.
84. J. K. Parnas, P. Ostern und T. Mann — *Über die Verkettung der chemischen Vorgänge im Muskel. III. Die Phosphatübertragung durch Brenztraubensäure*, Biochem. Z. **275**, 163—166, 1935.
85. J. K. Parnas und W. Lewiński — *Über den Ammoniakgehalt und die Ammoniakbildung im Muskel. XXII. Über den Zusammenhang zwischen Ammoniakbildung und Muskeltätigkeit unter aeroben Bedingungen*, Biochem. Z. **276**, 398—407, 1935.
86. J. K. Parnas i C. Lutwak-Mannowa — *O źródłach amoniaku powstającego w mięśniu*, Sprawozdania T-wa Naukowego we Lwowie, **15**, 112, 1935.

87. J. K. Parnas und C. Lutwak-Mann — *Über den Ammoniakgehalt und Ammoniakbildung im Muskel. XXII. 1 (Über die Methode zur Bestimmung der Adenosintriphosphorsäure. 2) Über die zweite ammoniakbildende Substanz des Muskelgewebes*, Biochem. Z. **278**, 11—12, 1935.
88. J. K. Parnas und P. Ostern — *Über die Verkettung der chemischen Vorgänge im Muskel. IX. Die Rolle der Phosphagene*, Biochem. Z. **279**, 94—98, 1935.
89. J. K. Parnas i A. Klisiecki — *O amoniaku krwi, jego pochodzeniu i kolejach fizjologicznych*, Pol. Gaz. Lek. **14**, 637—641, 1935.
90. J. K. Parnas — *Über die Verkettung der chemischen Vorgänge im Muskel*, Kli. Wo. **14**, 1017—1023, 1935.
91. J. K. Parnas — *El encadenamiento de los procesos quínicos en el músculo*. Resita del Circulo Medico Argentina y centros estudiantes de medicina, **35**, 410, 819—843, 1935.
92. J. K. Parnas i T. Baranowski — *Reakcja początkowa glikogenolizy mięśniowej*, Sprawozdania Towarzystwa Naukowego we Lwowie, **15**, 216—217, 1935.
93. J. K. Parnas et T. Baranowski — *Sur les phosphorylations initiales du glycogène*, C. R. Soc. Biol. **120**, 307—310, 1935.
94. J. K. Parnas, C. Lutwak-Mannowa i T. Mann — *Teoria sprzężenia procesów chemicznych w fermentacji alkoholowej*, Sprawozdania T-wa Naukowego we Lwowie, **15**, 217—220, 1935.
95. J. K. Parnas, C. Lutwak-Mann und T. Mann — *Über die Verkettung der chemischen Umsetzungen in der alkoholischen Gärung. II. Versuch einer Theorie*, Biochem. Z. **281**, 168—174, 1935.
96. J. K. Parnas — *L'enchaînement des processus enzymatiques dans le tissu musculaire*. Ve Congrès de Chimie Biologique, Bruxelles, 23—25 Octobre 1935, Bull. Soc. Chim. Biol. **18**, 53—95, 1936.
97. J. K. Parnas, B. Sobczuk et W. Mejsbaum — *Le mécanisme de la suppression de l'ammoniogenèse dans le muscle par l'acide pyruvique*, C. R. Soc. Biol. **121**, 701—704, 1936.
98. J. K. Parnas et P. Ostern — *Le mécanisme de la glycogénolyse*, Bull. Soc. Chim. Biol. **18**, 1471—1492, 1936.
99. J. K. Parnas, W. Mejsbaum et B. Sobczuk — *Le mécanisme de l'action de la phlorhizine sur la glycogénolyse musculaire*, C. R. Soc. Chim. Biol. **122**, 1148—1152, 1936.
100. J. K. Parnas — *Uzupełniony schemat glikogenolizy mięśniowej*, Sprawozdania T-wa Naukowego we Lwowie, **16**, 84—87, 1936.
101. J. K. Parnas et I. Mochacka — *Le rôle de l'acide inosique dans la glycogénolyse musculaire*, C. R. Soc. Biol. **123**, 1173—1175, 1936.
102. J. K. Parnas — *Der Mechanismus der Glykogenolyse im Muskel*, Ergebnisse der Enzymforschung, **6**, 57—110, 1937.
103. J. K. Parnas i I. Mochacka — *O funkcji kwasu inozynowego w przeżmianie mięśniowej*, Acta Biol. Exp., **11**, 1—2, 1937.
104. J. K. Parnas, I. Mochacka i Z. Augustin — *O koenzymach glikogenolizy mięśniowej*, Sprawozdania T-wa Naukowego we Lwowie, **17**, 164—165, 1937.
105. J. K. Parnas et B. Umschweif — *Sur le dosage des pentoses dans les nucléotides adényliques*, Bull. Soc. Chim. Biol. **19**, 325—335, 1937.

106. J. K. Parnas — *Uwagi o destylacji amoniaku przy wykonywaniu oznaczeń kjeldahlowskich w przyrządzie Parnasa i Wagnera*, *Acta Biol. Exp.* **11**, 107—110, 1937.
107. J. K. Parnas und W. Szankowski — *Über die gegenseitige Vertretbarkeit der Brenztraubensäure und Oxalessigsäure als Wasserstoffakzeptoren in der Muskelglykolyse. (Betrachtungen über den Zusammenhang zwischen aeroben und anaërober Glykolyse)*, *Enzymologia*, **3**, 220—227, 1937.
108. J. Hevesy, T. Baranowski, J. Guthke, P. Ostern i J. K. Parnas — *Badania nad glikolizą. Nowa metoda z zastosowaniem fosforu promieniotwórczego*, *Sprawozdanie T-wa Naukowego we Lwowie*, **18**, 88—95, 1938.
109. G. Hevesy, T. Baranowski, A. J. Guthke, P. Ostern und J. K. Parnas — *Untersuchungen über die Phosphorübertragungen in der Glykolyse und Glykogenolyse*, *Acta Biol. Exp.*, **12**, 34—39, 1936.
110. J. K. Parnas — *Über den Mechanismus der Muskelglykogenolyse*, *J. Physiol. of the USSR*, **24**, 277—293, 1938.
111. J. Hevesy, T. Korzybski i J. K. Parnas — *Badania nad przemianą kwasu adenilowego w ustroju zwierzęcym*, *Sprawozdania T-wa Naukowego we Lwowie*, **18**, 112—113, 1938.
112. T. Korzybski und J. K. Parnas — *Über Abbau und Wiederaufbau der Adenylsäure im Warmblütermuskel*, *Z. Physiol. Chem.* **225**, 195—204, 1938.
113. J. K. Parnas — *Über die Ausführung der Stickstoffbestimmung nach Kjeldahl in der Modifikation von Parnas und Wagner*, *Z. analyt. Chem.* **114**, 261—275, 1938.
114. J. K. Parnas — *Über die Anwendung der radioaktiven Isotopen in der biologischen Forschung. Einleitung*, *Enzymologia*, **5**, 137, 1938.
115. J. K. Parnas — *Über die enzymatischen Phosphorylierungen in der alkoholischen Gärung und in der Muskelglykogenolyse*, *Enzymologia*, **5**, 166—184, 1938.
116. T. Korzybski et J. K. Parnas — *Observations sur les échanges des atomes du phosphore renfermés dans l'acide adenosinetriphosphorique, dans l'animal vivant, a l'aide du phosphore marqué par du radiophosphore ³²P*, *Bull. Soc. Chim. Biol.* **21**, 713—716, 1939.
117. T. Korzybski und J. K. Parnas — *Über der Umsatz der Adenosin-triphosphorsäure im lebenden Tier*, *Acta Biol. Exp.* **13**, 157—166, 1939.
118. J. K. Parnas — *L'application des isotopes radioactives pour l'exploration des échanges et des transformations biochimiques*, *Bull. Soc. Chim. Biol.*, **21**, 1059—1093, 1939.
119. J. K. Parnas — *Glykogenolyse. Handbuch der Enzymologie, herausgegeben von F. F. Nord und R. Weidenhagen*, New-York, N. Y. — Berlin. Akad. Verlagsg., Leipzig, 1940, 902—967.

B. Podręczniki i prace referujące

1. J. Parnas — *O związkach tłuszczowatych (lipoidach)*, *Nowiny Lekarskie*, **25**, 591—596, 1913.
2. J. K. Parnas — *Wskazówki i objaśnienia do ćwiczeń z chemii lekarskiej*, Kurs Uniwersytetu Warszawskiego, Gebethner i Wolff, Warszawa, 1919, XIV + 144.
3. J. K. Parnas — *Nowe poglądy w nauce o odżywianiu (O składzie jakościowym pożywienia)*, *Polskie Czasopismo Lekarskie*, **1**, 14—15, 41—42, 60—61, 77—78, 97—98, 113—114, 128—129, 146—147, 1921.

4. J. K. Parnas — *Neue Untersuchungen über den Wasserhaushalt der Frosche*, *Biochem. Z.* **114**, 1—11 1921.
5. J. K. Parnas — *Chemia Fizjologiczna. Część I. Podstawy Chemiczne fizjologii*, E. Wende i H. Altenberg. Warszawa-Lwów, 1922. XII + 559.
6. J. K. Parnas — *Kurs praktyczny chemii fizjologicznej*, St. Köhler, Lwów, 1923. XV + 180.
7. J. K. Parnas — *Analiza chemiczna krwi*. *Pol. Gaz. Lek.* **1**, 251—252, 1922.
8. J. K. Parnas — *Methoden zur Beeinflussung der tierischen Entwicklung durch Gase und zur Bestimmung des respiratorischen Gaswechsels während der Entwicklungsvorgänge*. *Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden*, herausgegeben von E. Abderhalden, 1923, Abteilung V, Teil 3 A 651—670.
9. J. K. Parnas — *Chemizm oddychania*, Podręcznik Fizjologii wydany przez A. Becka, Gubrynowicz, Lwów-Warszawa-Kraków, 1924. T. II. 123—157.
10. J. K. Parnas — *Czynność wątroby*, Podręcznik Fizjologii wydany przez A. Becka, Gubrynowicz Lwów-Warszawa-Kraków, 1924, T. II, 261—282.
11. J. K. Parnas — *Mocz*, Podręcznik Fizjologii wydany przez A. Becka, Gubrynowicz, Lwów-Warszawa-Kraków, 1924, T. II, 283—301.
12. J. K. Parnas — *Skład i własności mleka*, Podręcznik Fizjologii wydany przez A. Becka, Gubrynowicz, Lwów-Warszawa-Kraków, 1924, T. II. 335—340.
13. J. K. Parnas — *O nowych postęпах w nauce o nowotworach złośliwych*, *Przyroda i Technika*, **4**, 289—295, 1925.
14. J. K. Parnas — *Krew jako układ fizyczny*, *Księga Pamiątkowa XII Zjazdu Lekarzy i Przyrodników Polskich w Warszawie*, T. I. 272—274, 1925.
15. J. K. Parnas — *Polonica u obcych (Nature o nauce polskiej)*, *Przegląd Warszawski* nr 48, 241—244, 1925.
16. J. K. Parnas — *Allgemeines und Vergleichendes des Wasserhaushaltes*, *Handbuch der normalen und pathologischen Physiologie*, herausgegeben von A. Bethe, G. Bergmann, G. Embden, A. Ellinger, J. Springer, Berlin, 1926, 17, Correlationen III, J. XVII, 137—160.
17. J. K. Parnas — *Energetyka czynności mięśniowej*, *Przyroda i Technika*, **5**, 1—10, 1929.
18. J. K. Parnas — *O kwasicy*. *Polskie Archiwum Medycyny Wewnętrznej*, **5**, 397—482, 1927.
19. J. K. Parnas — *Ernst Josef Leser*, *Biochem. Z.* **196**, 1—2, 1928.
20. J. K. Parnas — *Otto Warburg*, *Pol. Gaz. Lek.* **10**, 997—998, 1931.
21. J. K. Parnas — *The chemistry of muscle*, *Annual Review of Biochemistry*, **1**, 431—456, 1932.
22. J. K. Parnas — *The chemistry of muscle*, *Annual Review of Biochemistry*, **2**, 317—336, 1933.
23. J. K. Parnas — *Prace J. Zaleskiego nad zawartością amoniaku we krwi*, *Roczniki Chemii*, **13**, 640—644, 1933.
24. J. K. Parnas — *Prof. E. Embden*, *Nature (London)*, **132**, 994—995, 1933.
25. J. K. Parnas — *Uwagi krytyczne do artykułu prof. F. Venuleta „Równowaga kwasowo-zasadowa a miarowość tętna”* *Warszawskie Czasopismo Lekarskie*, **11**, 13—15, 1934.
26. J. K. Parnas i Wł. Mozołowski — *Podstawy chemiczne i fizjologiczne dietyki*, *Dietetyka*, Delta, Warszawa, 1934, 3—64.
27. J. K. Parnas — *Reforma studiów lekarskich w Polsce*, *Lekarz Polski*, **10**, 107—108, 1934.

28. J. K. Parnas — *Propaganda zagraniczna nauki polskiej*. *Wiadomości Literackie*, 12, nr 15 z dn. 14.IV.1935.
29. J. K. Parnas — *Regulacja chemiczna funkcji ustrojowych*, *Endokrynologia Lekarska*, 1, 3—10, 1936.
30. J. K. Parnas — *Przemiana materii*, *Świat i Życie*, Książnica Atlas, Lwów-Warszawa, 1936, T. IV. 441—456.
31. J. K. Parnas — *Tłuszcz*, *Świat i Życie*. Książnica Atlas, Lwów-Warszawa, 1936, T. IV, 1108—1116.
32. J. K. Parnas — *Trawienie*, *Świat i Życie*. Książnica Atlas, Lwów-Warszawa, 1936, T. IV, 1131—1144.
33. J. K. Parnas — *Węglowodany*, *Świat i Życie*. Książnica Atlas Lwów-Warszawa, 1936, T. IV. 1256—1272.
34. J. K. Parnas — *Witaminy*, *Świat i Życie*. Książnica Atlas, Lwów-Warszawa, 1936, T. IV, 1378—1386.
35. J. K. Parnas — *O chemizmie rozkładu węglowodanów w mięśniu czynnym*, *Roczniki Nauk Rolniczych i Leśnych*, 40, 385—401, 1936.
36. J. K. Parnas — *Laureaci Nobla: H. Dale i O. Loewi*, *Gazeta Polska*, 17 i 18 listopada, 1936.
37. J. K. Parnas — *Chemia Fizjologiczna*. Podręcznik wydany pod redakcją J. K. Parnasa. Delta, Warszawa, 1937 T. I i II. XLIV + 575; XXVII + 682. Następujące rozdziały pióra J. K. Parnasa: a) *Od redaktora* T. I. XXIII—XXX, b) *Fizyko-chemia biologiczna*, I. T. I. 1—28, c) *Fizyko-chemia — biologiczna*, II. T. I. 407—524. d) *Cukrowce*, T. I. 29—90, e) *Funkcja pochodnych purynowych i przemiana purynowa*. T. I. 311—318, f) *Przyswajanie*. T. I. 359—366, g) *Tłumaczenie i wstęp do artykułu E. G. Holmes'a: „Układ nerwowy, jego skład i przemiana”*. T. II. 269—278, h) *Wspólnie z B. Sobczukiem: Tkanka łączna, tkanki podporowe, skóra i wydzieliny skóry*, T. II. 285—299, i) *Przemiana pośrednia i tkankowa*. T. II. 375—430, j) *Wymiana oddechowa*. T. II. 431—466, k) *Odżywianie*. T. II. 505—539, l) *Dopiski i uzupełnienia*, T. I. 207—209, 547—549; T. II. 621—636.
38. J. K. Parnas — *O mechanizmach przemian tkankowych*, *Acta Biol. Exp.* 11, 292—307, 1937.
39. J. K. Parnas — *W sprawie polskiej terminologii fizjologiczno-chemicznej*, *Acta Biol. Exp.* 11, 357—368, 1937.
40. J. K. Parnas — *W sprawie nomenklatury ciał rujopędnych*, *Endokrynologia Lekarska*, 3, 31—34, 1938.

JAKUB KAROL PARNAS

Chemia fizjologiczna

Część I

E. Wende i Ska, Warszawa, H. Altenberg, Lwów, 1922. str. 559.

Przedruk str. 1—31

Wstęp

Chemja fizjologiczna jest nauką o składzie i własnościach chemicznych ustrojów żywych i o sprawach chemicznych, które się w takich ustrojach odbywają. Należy zatem do systemu nauk biologicznych i jest początkiem nauką opisową; opisując skład i budowę chemiczną ustrojów, tkanek, komórek oraz ich przetworów, zajmuje miejsce obok anatomji i histologii: jest to chemja fizjologiczna w ściślejszym znaczeniu*). Druga część zajmuje się temi sprawami chemicznymi, które odbywają się w ustrojach, a więc procesami życiowymi, uważanymi ze stanowiska chemicznego: jest to fizjologja chemiczna. Fizjologja chemiczna jest częścią fizjologii, a fizjologja zajmuje się ogółem zjawisk fizycznych i chemicznych, które dostrzegamy w ustrojach żywych.

Mówimy tu o ustrojach żywych, nie próbujemy jednak podać na wstępie definicji życia. Wobec rozległości i bogactwa jego przejawów i braku pojęcia szerszego usiłowanie takie byłoby daremne.

„Nie można w naukach przyrodzonych definiować z góry. Poznajemy przedmioty pokolei i z rozmaitych punktów widzenia; na początku nauki nie znamy rzeczy wyczerpująco, a tylko taka znajomość rzeczy może być podstawą definicji. Taki stopień poznania, to cel, to kres idealny i niedosięgly badań”.

„Metoda która polega na definiowaniu i dedukcji, odpowiada naukom duchowym” (i matematycznym), „ale jest sprzeczną z istotnym duchem nauk doświadczalnych”.

*) W języku francuskim używano dawniej pojęcia: chemji anatomicznej albo anatomji chemicznej. Ten ścisły i jasny wyraz zasługuje na wskrzeszenie: umożliwia bowiem rozróżnienie anatomji chemicznej i fizjologii chemicznej. Z fizjologją chemiczną równoznaczne są: biochemja, nauka o przemianie materji, chemja biologiczna; biochemji i chemji biologicznej używa się także w znaczeniu ogólniejszem, obejmującym obydwa działy.

„Dlatego nie trzeba wcale definjować życia we fizjologii”.

„Jeżeli mowa o życiu, to bez trudności można się co do przedmiotu porozumieć, a to wystarcza, ażeby ustalić stosowanie tego słowa i uniknąć dwuznaczności” (Claude Bernard*)

Claude Bernard przypomnia dowcipne słowa matematyka Poinsota: Gdyby ktoś żądał odemnie definicji czasu, to odpowiedziałbym: „Czy pan wie, o czym pan mówi?” Jeżeli mi odpowie: „Tak” — „Dobrze, rozmawiajmy o tem”. Jeżeli odpowie: „Nie” — „W takim razie rozmawiajmy o czym innym”.

Jeżeli mamy ustalić bliżej zakres przedmiotów**), do których nauka nasza się odnosi, to rozpoczniemy słowami Jędrzeja Śniadeckiego: „Mówimy nadto, że wszystkie jestestwa organiczne żyją. Życie to w całym ożywionym świecie zależy na wzroście i doskonaleniu się organizowanych jestestw, przez przybieranie sobie i wyrabianie szczególne ciało otaczających; w niektórych roślinach i w zwierzętach wszystkich na poruszeniu i czuciu. Niektórzy nawet poruszenie i czucie do samych tylko zwierząt ograniczyć chcieli, lecz niesłusznie, gdyż ruch i w roślinach ma miejsce, lubo nie we wszystkich równie widoczny, o czuciu innych jestestw zaledwo z jakąkolwiek pewnością sądzić możemy. Wreszcie wyobrażenie czucia wzięte jest z nas samych i zastosowane do zwierząt, w których fenomena życia bardzo są do naszych podobne.”

„Dwa zatem są fenomena ożywionemu światu właściwe, to jest organizacja i życie. Obadwa lepiej się czuć, niżeli opisać dają. Mamy ich w nas samych, mamy w tysiącznych otaczających nas jestestwach przykłady. Od czego zawisły, jakim są prawom i siłom przyrodzonym podległe, w ciągu następującej nauki dochodzić mamy”***

*) Leçons sur les phénomènes de la vie, 1879, tom I, str. 24

Claude Bernard, ur. pod Villefranche w r. 1813, umarł w r. 1878 w Paryżu. Możemy bez wahania nazwać go największym fizjologiem wszystkich czasów i narodów i uważać go za twórcę nowoczesnej fizjologii i medycyny doświadczalnej. O jego pracach i odkryciach będzie w tej książce często mowa. Fizjologowie tego kierunku, do którego poczuwa się autor tej książki, czężą w Bernardzie swego mistrza niezrównanego, którego myśl, intuicja, krytycyzm i ścisłość obserwacji otworzyły nam nowe dziedziny badań i wskazywała drogi na przyszłość.

Claude Bernard był profesorem medycyny eksperymentalnej w paryskim Collège de France, później w Musée des Sciences Naturelles. Kursa jego nie były przeznaczone dla początkujących, lecz dla uczonych i nie przedstawiały całokształtu nauki gotowej, lecz pozwalały słuchaczom iść wraz z mistrzem na drogę nowych badań, myśli i doświadczeń. Lektura wykładów Bernarda, ujętych w niepospolitą formę, daje dziś, niemniej niż wtedy, kiedy powstały, niezwykłą rozkosz. Będziemy się często powoływali na poprzedzające każdy kurs wykłady, zawierające myśli ogólne o naukach fizjologicznych i lekarskich. Między dziełami Bernarda są szczególnie ważne i dziś jeszcze świeże:

Leçons sur le diabete, Paryż 1877.

Leçons sur les phénomènes de la vie, 2 tomy, Paryż 1878 i 1879,

Leçons sur les anesthésiques, Paryż 1875.

La science experimentale, Paryż 1879,

Introduction à l'étude de la médecine experimentale. Wyd. nowe, Paryż 1912,

Leçons de pathologie experimentale. 2. wyd., 1880 (Paryż)

**) Pospolicie określa się główne cechy ustrojów żywych przez słowo „organisatio, nutritio, evolutio, motio, mors”.

***) Teoria jestestw organicznych, tom 1. str. 5, wyd. II, Wilno, 1838.

Śniadecki kładzie zatem szczególny nacisk na przemianę materji i energii, jako cechy charakterystyczne ustrojów żywych. W istocie, jeżeli myślimy o stworzeniu żywym, to przede wszystkim zwracamy uwagę na zjawiska przemiany energii. Uważając np. zwierzęta o wyższej organizacji, mówimy wtedy, że żyją, jeżeli widzimy u nich samorzutnie ruchy, np. bicie serca, oddychanie, ruchy mające na celu ucieczkę, obronę, napad lub zdobycie pokarmu; u ssaków i ptaków, jeżeli ciało jest ciepłe. Te objawy przemiany energii ustają, jeżeli ustrój jest przez dłuższy czas oddzielony od otoczenia, dostarczającego mu tlenu i pokarmu: przemiana energii jest związana z wymianą i przemianą materji.

Przemiana materji, połączona z zachowaniem organizacji, jest głównym rysem *chemicznym* życia, więc tym rysem, który naszą naukę w pierwszej linii obchodzi. Uważamy świat organiczny, zwierzęta, rośliny i pierwotniejsze formy ustrojów za bardzo złożone układy chemiczne, w których nieustannie przebiegają liczne i nader złożone przemiany chemiczne. W tym wirze przemian możemy jednak rozróżnić dwa główne prądy: prąd przyswajania, budowy, wzrostu i prąd rozkładu, wydalania, pozbywania się zniszczonych materiałów, zamierania.

Rośliny pochłaniają proste związki mineralne z otoczenia, więc z powietrza, wody i ziemi; zużytkowując energję promieniowania słonecznego, tworzą z nich związki bardzo złożone, cukry i białka, tłuszcze i inne związki roślinne, których wyliczać tu niema potrzeby: spotykamy się z nimi nieustannie w życiu codziennem jako z materiałami spożywczymi, używkami, środkami leczniczymi i technicznymi.

Niektóre z tych związków są przetworami rozkładu związków bardziej złożonych, są więc przetworami przemiany materji rozkładowej, którą stwierdzamy łatwo w roślinach wtedy, kiedy (np. w ciemności) nie przyswajają związków prostych; ten prąd przemiany góruje w roślinach wyższych w pewnych okresach życia, np. kiełkowaniu; góruje zawsze w roślin pasorzystujących, które nie mogą się obejść bez dopływu materji organicznej*).

Z tworzeniem substancyj organicznych jest związany wzrost rośliny, postępiecie sprawdzian życia roślinnego. Przyrost masy jednostki roślinnej, ujęty w prawidłowe formy zewnętrzne i prawidłową strukturę wewnętrzną idzie w parze z ciągłym przyswajaniem i budowaniem substancji oraz struktury organicznej; zarazem z ciągłym rozkładem częściowym substancji przyswojonych. Przyrost jednostki masy staje się w ustroju indywidualnym coraz powolniejszy i ustaje, kiedy sprawy rozkładowe wezmą nad przyswajaniem górę. Wtedy nadchodzi dla poszczególnych narządów, albo dla całej jednostki okres obumierania, zespół spraw rozkładowych i przyswajających rozstraja się; następuje śmierć. Wtedy, zależnie od warunków zewnętrznych, albo ustaje przemiana materji, albo też następuje rozkład materji i zatrącenie formy, struktury i układu pierwotnego ustroju.

Ustroje ratują z zatrąty pewną część swojej substancji zorganizowanej przez to, że się dzielą, lub odszczepiają część swego ustroju, jako jednostki

*) „W pewnych okresach, w pewnych narządach roślina staje się zwierzęciem; staje się jak zwierzę, przyrządem spalającym: spala węgiel i wodór i wytwarza ciepło”. Dumas, Boussingault, *Statique des êtres organisés*, 1841. W rzeczywistości proces przemiany „zwierzęcej” idzie u roślin równoległe z osobliwym procesem przyswajania węgla, tylko ten proces jest zasadniczą osobliwością przemiany roślinnej.

nowe, w których własności ustrojów rodzicielskich powtarzają się z pewną okresowością. Powtarza się na nowo rozwój, wzrost, rozmnożenie się, obumieranie i śmierć.

Najważniejszym rysem życia roślinnego jest synteza związków organicznych i struktury zorganizowanej, zbudowanej z organicznych i mineralnych związków. Ta synteza i organizacja odbywa się mocą własności tkwiących w strukturze komórki, a podlega wielkim prawom chemii i fizyki ogólnej, mianowicie prawu zachowania masy i prawu zachowania energii; nie możemy stwierdzić, czy podlega również drugiemu twierdzeniu termodynamiki. Suma pierwiastków chemicznych, z których składa się ciało rośliny, równa się sumie algebraicznej tych pierwiastków, które pochłonęło w postaci związków prostych, i tych, które wydzieliło nazewnątrz. Suma energii, które możemy wyzwolić jako ciepło przez spalanie rośliny na wodę, kwas węglowy, azot i popiół, równa się sumie energii pobranych w formie związanych chemicznie, w formie promieniowania świetlnego i ciepła, a wydalonej z przetworami chemicznymi, jako ciepło, praca, jako promieniowanie świetlne i prąd elektryczny.

Tym samym prawom podlega ustrój zwierzęcy, który tworzywo składników swych tkanek czerpie również z otoczenia, ale w postaci związków bez porównania bardziej złożonych. Roślinie można podać pierwiastki, z których zbuduje białko, węglowodany i tłuszcze, oraz całokształt swych innych składników, w postaci dwutlenka węgla, amoniaku lub azotanów, oraz soli mineralnych. Ustrój zwierzęcy przyjmie i przyswoi z tego jedynie tylko sole mineralne, — i to z wyjątkiem żelaza — tlen i wodę, natomiast musi otrzymać cały węgiel i cały azot, w postaci ściśle określonych związków organicznych, więc niektórych węglowodanów, ściśle określonych aminokwasów, ściśle określonych związków tłuszczowatych i niektórych substancji, których istoty jeszcze bliżej nie znamy.

Tę sumę związków pobiera ustrój zwierzęcy pospolicie w postaci tkanek i soków roślinnych lub zwierzęcych, a w postaci związków mineralnych tylko tlen, wodę i sole sodowe, chlorowe i wapniowe. Drobną część składa w swych tkankach w postaci niezmienionej, większą przetwarza na inne substancje organiczne, właściwe składniki swych tkanek. Wyrobień tych substancji i zorganizowanie ich w strukturze komórkowej i tkankowej stanowi jeden prąd przemiany materji, mianowicie przyswajanie; ale przyswajanie nie jest procesem wyłącznie budującym, gdyż przerobienie ciał obcych na substancje właściwe danej tkanki nie odbywa się bez odpadków, bez oddzielenia i wydalenia pewnej części nieużytecznej.

Skład ustroju zwierzęcego, powstałego przez przyswojenie składników ustrojów obcych, jest określony w ciasnych granicach; zależy od rodzaju stopnia rozwoju, wieku danej jednostki. Nie jest zaś zależny od stosunku, w jakim pokarm zawierał składniki zużytkowane; składniki mineralne i organiczne, których ustrój zwierzęcy sam wyrobić nie umie, muszą znajdować się w pokarmie w ilościach takich, ażeby mogły wystarczyć na pokrycie potrzeb, zależnych od sprawności przyswajania. Wtedy ustrój wybiera ze składników pokarmu tyle na zatrzymanie, przerobienie i przyswojenie, wiele każda tkanka potrzebuje, ażeby w swoim ściśle określonym składzie i kształcie trwać i rosnąć.

Przyswajanie jest dopóty związane ze wzrostem, dopóki jednostka jest młoda; żywość przyswajania, górującego nad prądem rozkładowym, opada w miarę wzrostu, wreszcie wzrost dobiega kresu. U jednostki dorosłej przyswajanie i rozkład trwają w równowadze; przez ustrój przepływa wtedy strumień materji, i energii przyczem masa, skład i budowa materji bardzo małym tylko podlega zmianom, początkowo w kierunku doskonalenia się, później w kierunku zanikowym.

Przemiana rozkładowa polega na przemianie związków bardziej złożonych na proste i utlenieniu (spaleniu) tych związków przemiana rozkładowa zwierzęca jest połączona z przemianą energii chemicznej na ciepło, pracę, w małej części na elektryczność, niekiedy nawet na światło. Część tej przemiany rozkładowej polega na zużywaniu się tkanki czynnej; to zużywanie wyrównuje się w stanie normalnym ustroju przez przyswajanie świeżych składników, występujących na miejsce zużytych. W stanie głodu natomiast zużywanie objawia się jako ubytek masy ciała i zanikanie tkanek; wtedy przemiana rozkładowa góruje bezwzględnie nad przyswajaniem, które odbywa się tylko w nieznaczej mierze kosztem rozkładających się tkanek. Tak więc wynikiem przyswajania jest u jednostek dorosłych po części uzupełnienie zużytego budulca.

Druga część przemiany rozkładowej jest związana ze sprawami komórek: ciała pochłonięte lub przyswojone służą albo jako surowce pędne, albo też jako surowce, które ustrój przerobi na potrzebne sobie przetwory. Cukier gronowy np. jest głównym materiałem pędnym, spalenie cukru wyzwala energję, którą mięśnie przetwarzają na pracę mechaniczną, ciepło i napięcie elektryczne; o chlorku sodowym możemy np. powiedzieć, że między innymi rozlicznymi swymi funkcjami stanowi materiał z którego gruczoły dna żołądkowego wytwarzają kwas solny. Każda czynność tkanki, czy to ma skutki mechaniczne i elektryczne, czy też tylko chemiczne, jest w istocie swęj sprawą chemiczną, sprawą przemiany materji i związanej z nią przemiany energii.

Dlatego można uważać ustrój za niezmiernie złożony warsztat chemiczno-mechaniczny, w którym odbywają się przemiany chemiczne, utrzymujące całość i niezmiennność warsztatu, oraz przemiana energii chemicznej na ciepło i pracę. Nie umiemy jednak w ustrojach żywych odróżnić mechanizmu z jednej, surowców i przetworów z drugiej strony tak ściśle, jak przy rozpatrywaniu maszyn, gdyż mechanizm ustrojowy dopełnia i odnawia się sam; dlatego niejedyn surowiec wchodzi w skład mechanizmu, zanim rozłoży się i spełni zadanie materiału pędnego. Być może, że taki pogląd wynika z niedostatecznej analizy spraw chemiczno-fizjologicznych. Z postępem analizy zjawisk fizjologiczno-chemicznych udaje się coraz częściej rozpoznać substancję przetwarzaną i odróżnić ją od mechanizmu przetwarzającego. Takiej analizie będzie poświęcona niejedna karta tej książki.

Utrzymanie owej przedziwnej równowagi dynamicznej między przemianą rozkładową a przyswajaniem, równowagi tyłu substancyj pod względem rodzaju, koncentracji i rozmieszczenia, zależy od warunków zewnętrznych i od tych urządzeń ustroju, które przystosowują stosunki wewnętrzne ustroju zarówno do zmian wewnętrznych, jak i do zmian zewnętrznych. Jako warunki zewnętrzne uwzględniamy temperaturę, skład atmosfery, jej wilgoć, do-

plyw wody i pokarmu, u zwierząt wodnych ponadto stężenie i kwasotę środowiska płynnego; te same czynniki uwzględniamy także jako warunki wewnętrzne. Wyższe formy świata zwierzęcego uniezależniają w coraz wyższym stopniu swoje warunki wewnętrzne od warunków zewnętrznych: wymieniny tylko substancje zapasowe (tłuszcz, glikogen), złożone w tkankach i umożliwiające zniesienie głodu i oszczędzenie substancji żywej; oddzielenie środowiska wodnego wewnętrznego od zewnętrznego i cudowne urządzenia, które utrzymują niezmienną stężenie i niezmienną kwasotę tego środowiska wewnętrznego (soków ustroju); wreszcie u zwierząt ciepłokrwistych zapewnienie stałej temperatury ciała, niezależnej od wahań temperatury otoczenia w granicach blisko 100°.

Nakreśliśmy krótki zarys tych zjawisk życiowych, które stanowią dziedzinę chemii i fizjologii chemicznej, jako przedmiot obserwacji, pomiarów, doświadczeń i rozważań chemicznych.

Ponieważ rodzaj i ułożenie składników jest podstawą organizacji komórkowej i tkankowej, a ta stanowi podłoże życia; ponieważ chemiczne procesy tworzą, utrzymują i uzupełniają to podłoże; ponieważ wreszcie energii wszystkich spraw mechanicznych, cieplnych i elektrycznych w ustrojach żywych dostarczają reakcje chemiczne, przeto zrozumienie spraw życiowych z punktu widzenia chemicznego jest podstawą nauk biologicznych: w ciągu rozwoju nauk biologicznych łatwo dostrzec, jak jedno zagadnienie po drugim sprowadza się do zagadnień chemicznych i fizyczno-chemicznych. Analiza chemiczna i fizyczno-chemiczna jest główną drogą, po której fizjologia i patologia dążą do zrozumienia i opanowania doświadczalnego ustrojów normalnych i chorych.

Wielcy biologowie — wymienię tylko Claude'a Bernarda oraz J. Loeba — określali ostateczne zadania nauki jako poznawanie, przewidywanie i działanie. Wiemy, na czym polega poznawanie, przewidywanie i działanie w medycynie: przypominamy pojęcia rozpoznawania, rokowania, zapobiegania i leczenia.

Claude Bernard mówi:

„Cel każdej nauki, zarówno odnoszącej się do jestestw żywych, jak do ciał martwych, można określić w dwu słowach: p r z e w i d y w a ć i d z i a ł a ć. W tym właśnie celu człowiek mozoli się w trudnych poszukiwaniach prawd naukowych. W obliczu przyrody idzie tylko za prawami swego rozumu, jeżeli stara się przewidzieć i opanować zjawiska, które dookoła niego jaśnieją. Przewidywanie i działanie, oto charakterystyka stanowiska człowieka wobec przyrody. Nauki fizyczno-mechaniczne prowadzą człowieka do opanowania przyrody martwej; nauki ziemskie, których przedmiot da się osiągnąć, nie są niczem innym, jak racjonalnym wykonywaniem panowania człowieka na ziemi”.

Czy z fizjologią ma się rzecz tak samo, jak z temi innymi naukami? Czy nauka, która bada zjawiska życiowe, może dążyć do opanowania ich? Czy dąży do ujarznienia przyrody żywej, tak samo jak opanowała przyrodę martwą? Nie wahamy się na to odpowiedzieć: „Tak”.

„Więc w jaki sposób można wpływać na zjawiska życiowe?”

„Zjawiska życiowe są przedstawione przez dwa czynniki: przez p r a w a u s t a l o n e, które określają ich formę, i przez w a r u n k i f i z y c z n o - c h e m i c z n e, które wywołują zjawiska życiowe.” Prawa można poznać:

obserwacja ukazuje je, nie jesteśmy zdolni ich zmienić. Przewidywanie jest możliwem na podstawie znajomości praw; nauka obserwująca nie może dotrzeć dalej.

„Działanie jest rzeczą nauk doświadczalnych i jest możliwem dzięki temu, że zjawiska życiowe są jednoznacznie określone przez warunki fizyczno-chemiczne...*)”

J. Loeb mówi:

„Opanowanie zjawisk przyrody uważamy za krok dalszy, niż samą tylko analizę tych zjawisk. Filozofowie przyrody ubiegłego stulecia umieli zanalizować i zrozumieć zjawiska życiowe, ku swemu zupełnemu zadowoleniu. Ale skoro się udało opanować jedno lub drugie zjawisko życiowe zapomocą środków fizycznych i chemicznych wtedy ukazały się sprzeczności między spekulacją a danymi technicznymi, a ci, którzy chcieli robić dalsze odkrycia, trzymali się oczywiście w takich przypadkach postępów technicznych a nie hipotez, teorii i czczych spekulacji**).”

Czy opanowanie zjawisk życia przez poznanie ich, czy też poznanie ich przez opanowanie należy uważać za cel nauki, to jest rzeczą potrzeb intelektualnych, uczuć i poglądów człowieka każdego z osobna. Społeczne znaczenie nauk fizjologicznych i poparcie, którego doznają ze strony instytucyj społecznych i państwowych, oraz od większości jednostek pracujących, polega bez wątpienia w pierwszej linii na doniosłości praktycznej, którą mają ich wyniki dla higieny i medycyny***). Zwracamy jednak usilnie uwagę na to, że cele praktyczne nie są bezpośrednimi celami naszej nauki; dzieje każdej nauki wykazują bezsprzecznie, że najwięcej pożytku — także

*) *Leçons sur les phénomènes de la vie*, Paryż 1878, str. 378.

**) *Vorlesungen über die Dynamik der Lebenserscheinungen*, 1906, str. 1.

***) „Mamy przed sobą prawa przyrody, twarde i niezmiennie; jeżeli je poznamy, to staną się nam dobrodziejstwem; użyjemy ich do naszych celów i uczynimy niewolnikami naszych życzeń. Jeżeli ich nie zrozumiemy, to będą potworami, które zmiażdżą nas na pył i wdęcą w proch. Nic tu nie znaczą nasze przekonania: prawa działają ślepo i niezmiennie, albo musimy je poznać, albo ponosić skutki nieświadomości. Jedyzną drogą jest działanie wedle prawdopodobnej znajomości praw przyrodzonych, ale jeśli działamy trafnie, to dobrze, jeśli nie, to trzeba potem cierpieć. Cóż, wobec tego, może być niedorzeczniejszego, niż twierdzenie, że treść przekonania jest rzeczą obojętną, jeśli tylko jest ono szczerze! Oto jedyne dziecko, ukochana kobieta, leży na łożu boleści. Lekarz mówi, że choroba jest śmiertelną; roślina zwana mikroblem dostała się do ustroju i rośnie kosztem tkanek, tworzy śmiertelne jady, niszczy krew i żywotne narządy. Lekarz przypatruje się temu i nie może nic na to poradzić. Codziennie przychodzi i stwierdza upadek sił chorego; z dniem każdym chory upada na siłach, wreszcie spoczywa w grobie. Dlaczego lekarz na to pozwala? Czy może istnieć najmniejsza wątpliwość co do istnienia lekarstwa? lekarstwa, które zabije drobnoustrój i zobojeźni jad? Dlaczego tego lekarstwa nie zastosowano? Odpowiedź na to: z powodu nieświadomości. Lekarstwa nie znamy, lekarz czeka na innych, którzy je wynajdą. Czy nasza nieświadomość nie byłaby rozprószoną, gdyby w przeszłości użyto środków potrzebnych? Ludzie uważają takie wypadki śmierci za sprawy Boskie. Jakież bluźnierstwo przypisywać Bogu to, co jest winą sobkostwa naszego i naszych przodków, którzy nie stworzyli instytucji dla badań lekarskich w dostatecznej ilości i nie wyposażyli ich w środki potrzebne”. Rowland, *Americ. Journal of Science*, 1899, VIII, 409. Cyt. podł. Garrison, *History of medicine*, 2. ed., 1917.

pod względem praktycznym — przyniosły badania tych uczonych, którzy wielkodusznie zajmowali się zjawiskami, nie bacząc na zastosowanie praktyczne wyników swoich poszukiwań; więcej, aniżeli usiłowania tych, którzy zmierzali wprost do osiągnięcia wyników praktycznych. Słusznie zauważa Tyndall, że „gdyby Farada'y zaprzętał swą myśl i fantazję rozważaniami, dotyczącymi praktycznych zastosowań swych odkryć, to nigdyby swoich odkryć nie dokonał”. A na odkryciach Farada'y' a z dziedziny elektryczności opartą jest nie tylko cała dzisiejsza nauka o elektryczności, ale jej zastosowanie techniczne, chemiczne i lekarskie*)

Zastosowanie odkryć, zjawisk spostrzeżonych i praw wykrytych do celów techniki, higieny i lecznictwa następuje dzisiaj bardzo szybko po odkryciach, ale najczęściej inne umysłowości odkrywają prawa, inne wynajdują ich zastosowania praktyczne. W dawnych czasach technika szła przed fizyką, lecznictwo przed anatomją i fizjologją, farmakologją i patologją takiemu stanowi rzeczy odpowiadał bardzo powolny postęp techniki i nauki. Profesor z Montpellieru, Riviere**), pisał o odkryciu krążenia krwi, że jest to zjawisko ciekawe, ale bez znaczenia dla medycyny. A pomyśleć tylko, jakie znaczenie ma dziś fizjologja i patologja krążenia w medycynie:***) Dziś nauka i jej zastosowanie mniej są rozdzielone i to współdziałanie jest rysem najwybitniejszym zarówno nauki, jak techniki i medycyny społecznej. Nauki doświadczalne, odległe pozornie od życia praktycznego, szybko znajdują zastosowanie: wspomnę tylko o szerokim i ważnym zastosowaniu, które część fizjologii (zwana psychologją doświadczalną) znajduje w organizacji pracy, tzw. psychotechnice i systemie pracy Taylora. W naszej nauce nie zabraknie przykładów na to, jak często czysto naukowe, teoretyczne badania wywarły wpływ decydujący na higienę i lecznictwo, wypierając grubą empirję i opierając działanie na szerokich podstawach doświadczenia i teorii. Przytoczymy wyniki badań Pettenkoffera i Voita nad odżywianiem i przemianą materji, rozwinięte później przez Rubnera, Zuntza, Atwatera i Benedicta, ujęte w prosty sposób przez Pirqueta; stanowią one dziś pierwszorzędą podstawę i narzędzie higieny i medycyny, a nawet i wielkiej polityki; badania nad pośrednią przemianą materji, które naukę o chorobach przemiany oraz leczenie ich postawiły na racjonalnej podstawie; wreszcie zastosowanie praktyczne bakterjologii w medycynie i technice, fizjologii roślin w rolnictwie.

*) „Odkryć nie robi się szukając zastosowań nauki; robi się je, szukając faktów i praw naukowych, jednym słowem przez naukę czystą; skoro teoria jest raz daną, to praktyka wynika z niej koniecznie, nieodzownie. Czyż Chevreuil szukał zastosowania przemysłowego, kiedy badał skład tłuszczów? Zajęty zagadnieniami czystej chemii rozkładał tłuszcze na kwasy tłuste i glicerynę, a to odkrycie stanowiące wielki krok w teorii budowy całej klasy ciał, pociąga za sobą jako skutek nieprzewidziany, jedno z największych zastosowań przemysłowych naszych czasów, fabrykację świec stearynowych). Claude Bernard, Physiologie operatoire, str. 21, (1879).

**) Współczesny Harvey'owi.

***) Inny przykład z czasów nam bliższych: w pierwszym wydaniu cennej książki Pearsona p.t. „Grammar of Science” jest powiedziane o falach elektrycznych, odkrytych przez H. Hertza, że to zjawisko nie ma zastosowania praktycznego. Kiedy wyszło drugie wydanie tej książki, telegrafowanie bez drutu było w pełni rozwoju.

Podkreśliliśmy już niejednokrotnie charakter doświadczalny naszej nauki; bynajmniej nie po to, aby obniżyć znaczenie traktowania jej teoretycznego, które stanowi wyższy stopień postępu nauki, jeżeli tylko teoria jest oparta na podstawach doświadczalnych. Pierwszy stopień poznania we fizjologii stanowi dokładne zaobserwowanie i zlokalizowanie anatomiczne zjawiska; potem następuje analiza doświadczalna z punktu fizycznego i chemicznego. Analiza taka polega na poszukiwaniu zależności zjawiska od czynników zewnętrznych i wewnętrznych ustroju; czynniki te zmieniamy świadomie i celowo. Wiodą nas przy tej analizie przypuszczenia i hipotezy, które po części są podobne do tych, którymi pracuje chemja i fizyka. Na podstawie teorii atomistycznej, nauki o budowie związków organicznych, o reakcjach chemicznych i procesach fizyczno-chemicznych wyobrażamy sobie istotę i stadja pośrednie zmiany spostrzeżonej; na podstawie analogji z lepiej poznanymi sprawami staramy się zrozumieć istotę zjawiska i jego udział w całości spraw ustroju. Oprócz tych hipotez, którymi się chemja fizjologiczna posługuje zarówno jak chemja ogólna oraz fizyka, stosujemy jeszcze inny rodzaj, właściwy tylko naukom biologicznym. Hipotezy te stanowią zwykle odpowiedź na pytanie: „jaki cel ma ta sprawa?”. Ten rodzaj hipotez traktuje się nieraz z pogardą, uważając, że takie stawianie zagadnień jest niewłaściwym w tych naukach, których ideałem jest zbliżenie się do nauk ścisłych. Założeniem zagadnienia teleologicznego jest hipoteza, że ustroje żywe są we wszystkich swoich częściach i sprawach doskonale dostosowane do warunków, w których żyją, t. zn. rozwijają się, zachowują i rozmnażają; i że każdą spostrzeżoną sprawę uważać należy za czynnik znakomicie dostosowany do tak doskonałego zespołu. To założenie oddało nieraz cenne usługi jako hipoteza heurystyczna w naukach biologicznych, ale ze wszystkich rodzajów hipotez teleologiczne są najryzykowniejsze; wnioski teleologiczne polegały częstokroć wręcz na ciężkich błędach, tak np. we fizjologii mięśni, gdzie skutkiem błędnej i niedokładnej analizy dopatrywano się cudownego dostosowania i ekonomji w zjawiskach, które były bądźto czysto mechanicznymi, bądź też wynikiem obumierania tkanki. Mechanizmy obmyślane przez nas są najczęściej dziwnie proste i naiwne w porównaniu z tymi, które w rzeczywistości wykrywamy, a ponadto oznaczenie bliższe warunków zjawiska fizjologicznego uczy często, że n a s z e koncepcje wcale nie spełniają celów, które im przypisywano, lub też spełniały je bardzo marnie.

Niejednokrotnie spotykami się z uwagami, które podnoszą doniosłość i trwałość f a k t ó w w porównaniu z wiotkością i zmiennością t e o r y j i i h i p o t e z. Ogólnej słuszności tych poglądów niepodobna zaprzeczyć, ale należy pamiętać, że w naukach fizjologicznych jest bardzo mało faktów naprawdę dobrze znanych, pewnych i ustalonych. Fakty, uważane ogólnie za zupełnie pewne, okazują się często przy ponownem zbadaniu zjawiska błędnymi i niedokładnie spostrzeżonymi, jeśli się tylko uwzględni ściślej czynniki (warunki) chemiczne i fizyczne, od których zjawisko w ustroju zależy. Nie zapatrujemy się pesymistycznie n a p r z y s z ł o ś ć badań fizjologiczno-chemicznych; ale jeżeli spoglądamy w p r z e s z ł o ś ć, to mamy przed sobą obraz budowli wznoszonych na grząskim gruncie, których niższe piętra zapadły się, a na nich dopiero wznoszą się tu i owdzie konstrukcje już na twardym oparte gruncie. W żadnej może innej nauce niema t y l u w a r s t w

materiału doświadczalnego, co w chemii fizjologicznej i fizjologii chemicznej*).

Wobec takiego stanu rzeczy nie należy zbyt pochopnie odrzucać teorii opartych na dobrze znanych analogjach albo na prawach fizyczno-chemicznych, nawet wtedy, kiedy wydają się sprzeczne i z niektórymi faktami: a raczej przystąpić do sprawdzenia i ściślejszej analizy faktów. Niejednokrotnie już w tych naukach teoria poprawiała i uzupełniała poglądy oparte na bezstronnej, ale nieusystematyzowanej empirii a doświadczenia podjęte na nowo, uwzględniające dokładniej warunki zjawiska, przyznały słuszność teorii. Nowe, lepsze doświadczenie rostrzyga ostatecznie, czy uogólnienia teorii były uzasadnione, czy też nie**).

W odniesieniu od tej teorii trzymamy się zasady, którą B a y l i s***) wyraża w następujących słowach:

*) „Matematyka nie burzy prac okresów poprzedzających, by w ich miejsce wznosić inne budowle”. Cytowane podług Z. Janiszewskiego, Podręcznik dla samouków. Nowe wydanie, tom 1, str. 22 (przypisek).

***) Claude Bernard zalecał w wykładach wstępnych każdego niemal kursu największą powściągliwość wobec teorii. Niektóre zdania z kursu „Leçons de physiologie experimentale” (Paryż 1853) są — z niektórymi zastrzeżeniami — i dziś aktualne i godne przytoczenia.

„Nie brak ludzi zdolnych do uogólnienia, ale wielkie uogólnienia nie są jeszcze możliwe we fizjologii. Eksperymentator, wiedziony przez światelko tymczasowe teorii współczesnych, powinien się uważać za ślepca i posuwać się naprzód jak najogólniej, podając wciąż rękę doświadczeniu, bo ono jedynie może go uchronić przed popadnięciem w błąd i przed zbłąkaniem” (tom 1, str. 15).

„Odkrycia nieprzewidziane muszą być tem rzadsze, im nauki są bardziej utrwalone, a tem częstsze, im mniej nauki są posunięte. W fizjologii każdy eksperymentator może takie odkrycia zrobić, jeśli tylko jest przeświadczony o tem, że teorie w tej nauce są tak wadliwe, że — w obecnym stanie rzeczy — tyleż jest prawdopodobieństwa, że odkryje się fakty takie, które je obalą, ile że odkryje się takie, które poprą” (str. 9).

Teorie, o których mówi i przeciw którym się zwraca C. I. Bernard, były przeważnie opartymi na niedostatecznej znajomości faktów, przypuszczeniami co do funkcji i własności narządów; nader często opierały się na dedukcji anatomicznej.

Dziś niema fizjologa, któryby w sprawie funkcji, lokalizacji itp. zagadnień fizjologicznych śmiało opierał swoje twierdzenie na czem innym, niż na doświadczeniu; metoda „dedukcji anatomicznej” zesłała na drugi plan, eksperyment fizjologiczny coraz częściej koryguje jej wnioski. Jako przykład przytoczmy sprawę tętnicy wątrobowej, o której zdawna twierdzono na podstawie obrazów anatomicznych, przedstawiających silnie zwężone (pośmiertnie) naczynia, że jest to naczynie drobne, służące co najwyżej do żywienia torebek Glissona. Doświadczenie fizjologiczno-chemiczne wykazało natomiast, że cała ilość tlenu, którą zużywa wątroba, pochodzi z dopływającej przez tętnicę krwi: wniosek anatomiczny był błędny. Twierdzenia fizjologii nowoczesnej mogą być często oparte na źle i źle zaobserwowanych zanalizowanych faktach, ale zwykle nie są bezpodstawne. Spekulacje i fantastyczne teorie przeniosły się na inny teren: polem tych igraszek stała się fizyczno-chemiczna interpretacja zjawisk fizjologicznych. Zarówno fizjologowie nie znający chemii, jak i chemicy bez głębszej znajomości fizjologii broją w tej dziedzinie „spajając skąpe fakty przez owe wiązania, które nazywają teorjami, a które są przeznaczone na to, ażeby przesłonić o ile możności sprawy niejasne i sprzeczne”. Fizyka i chemia mogą stać się źródłem wielkich błędów, jeśli są źle stosowane. Otóż uważam, że źle się stosuje chemję i fizykę, jeśli badania fizyczne i chemiczne nad danem zjawiskiem poprzedzają badania fizjologiczne. Rozpoczyna się wtedy od tego, na czem trzeba skończyć, i naraża się na to, że sprawy życiowe nie będą wytłumaczone jako takie, jakimi są, lecz jako takie, jakimi mogłyby być teoretycznie, podług danych fizyczno-chemicznych” (B e r n a r d).

***) Principles of general Physiology. II wydanie, 1918, str. XIV.

„Prawda z większym prawdopodobieństwem wypłynie z poglądu błędnego, jeżeli tylko ten pogląd jest jasny i określony, aniżeli z zamętu, a moje doświadczenie nauczyło mnie, że lepiej trzymać się dobrze zrozumianego i zrozumiałego poglądu, nawet gdyby później miał się okazać błędnym; aniżeli zadowolić się mętną mieszaniną sprzecznych poglądów, niesłusznie określaną jako „bezstronność” a często nie więcej wartą aniżeli zupełny brak poglądu. Ale nie wolno zwlekać z opuszczeniem zajętego stanowiska, skoro tylko okaże się niemożliwym do utrzymania. Nie posuniemy się za daleko, twierdząc, że wielkość badacza naukowego nie polega na tem, że nigdy nie popełnił błędu, lecz raczej na gotowości, z jaką przyzna się do błędu, skoro tylko dowody przeciwne jego poglądom staną się dostatecznie przekonujące”.

Tak przedstawia się zawsze rozwój tych nauk, których przedmiotem jest przyroda. Spostrzeżenia przypadkowe, systematyczne obserwacje, albo planowe eksperymenta prowadzą do stwierdzenia i opisu zjawiska, oraz ustalenia niektórych warunków, od których ono zależy. Zmieniając planowo te warunki, którym przypisujemy wpływ na przebieg zjawiska, stawiamy przyrodzie obmyślane pytania; zmiany w przebiegu zjawiska są odpowiedziami, otrzymujemy zupełniejszy i ściślejszy opis zjawiska i taką znajomość oraz opanowanie jego warunków, że zjawisko (w doświadczeniu) daje się zupełnie — (to zn. także pod względem ilościowym) — powtórzyć.

Ze zjawisk tak opisanych wyłaniają się ogólne własności i prawa, wyprowadzone i zbudowane przez czynność wyobraźni*) i rozumowanie. Ścisłość i ogólne znaczenie praw i uogólnień poddajemy coraz nowym próbom, powtarzając podstawowe doświadczenia i obserwacje na nowych przedmiotach i tworząc w nowych warunkach nowe doświadczenia; wysnuwamy z uogólnień — znowu przez czynność wyobraźni i rozumowania — wnioski, przewidujące przebieg zjawisk w nowych warunkach; realizujemy te warunki i sprawdzamy doświadczalnie słuszność wniosków. Jeżeli wniosek jest ze stanowiska logiki nienaganny, a znajdzie się w sprzeczności z rzeczywistością, wtedy zachodzi potrzeba poddania ponownemu rozpatrzeniu i naprawie uogólnień, które mogły mieć charakter prostego uogólnienia własności, prawa lub też obrazu hipotetycznego. Ten proces obserwacji i doświadczeń, uogólnienia i hipotezy, poprawek wniesionych przez nowe doświadczenia i obserwacje, tworzenie nowej hipotezy itd.***) powtarza się wielokrotnie w dzie-

*) Przypisując wyobraźni rolę potężnego w kształtowaniu nauki czynnika, kładziemy jednocześnie nacisk na konieczność najściślejszego i świadomego rozdziału między czynnością wyobraźni a obserwacją. Claude Bernard mówi: „Odlóż wyobraźnię, jak odkładasz płaszcz, kiedy wchodzisz do pracowni; wdziej ją znowu, kiedy opuszczasz pracownię. Przed doświadczeniem i w chwilach wolnych pozwól wyobraźni potoczyć się dokoła; ale odtrąć ją od siebie podczas doświadczenia, bo inaczej zakłóci twój zdolność obserwacji”.

**) Powtórzymy tu słowa amerykańskiego fizyka Rowlanda: „Zwykły, nieokresany umysł ma tylko dwa oddziały: jeden dla prawdy, drugi dla błędu; w rzeczywistości zawartość tych dwóch oddziałów jest często śmiesznie pomieszana. Umysł naukowy ma tych oddziałów niezmiernie wiele: każda teoria i każde prawo ma tam osobny oddział, oznaczający stopień jej prawdopodobieństwa; ilekroć pojawi się nowy fakt, tylekroć uczony przenosi odnośną teorię z jednego przedziału do drugiego, ażeby zawsze utrzymać ją we właściwym stosunku do prawdy i do nieprawdy”. Rowland, American Journ. of Science, 1899, tom VIII, str. 409.

jach poglądów na każdą sprawę. Nadarzy się nam sposobność przedstawienia dziejów myśli i doświadczenia ludzkiego wobec niejednej sprawy fizjologiczno-chemicznej*).

Naukami przygotowawczymi do chemii fizjologicznej są chemja nieorganiczna, organiczna i ogólna; fizyka; anatomja i histologja człowieka i zwierząt; zasady morfologii roślin. Elementarne przygotowanie w tych naukach jest nieodzowne, jeżeli kurs chemii fizjologicznej ma być z korzyścią słuchany lub przeczytany. Fizyka w zakresie np. podręcznika Witkowskiego i Zakrzewskiego lub Kalinowskiego**); chemia nieorganiczna i fizyczna w zakresie znanego podręcznika Hollemana; chemia organiczna Marchlewskiego, oraz znakomite dzieło tego uczonego pt. „Teorje i metody badania współczesnej chemii organicznej”; to wystarczy do zrozumienia osnowy chemii fizjologicznej; podobnie wystarczy elementarny kurs uniwersytecki anatomji i histologii.

Każdy kurs chemii fizjologicznej musi zawierać dopełnienie tych wiadomości, które słuchacz wyniósł z kursów początkowych chemii ogólnej i organicznej. Kursa pierwiastkowe chemii obejmują teorję związków organicznych, zarys ich systematyki, najważniejsze reakcje i właściwości grup oraz szczególnie ważnych a prostych jednostek chemicznych. W chemii fizjologicznej spotykamy się odrazu ze związkami bardzo złożonymi, a wybór ciał, z którymi trzeba obznajmić słuchacza, nie może już polegać na względnie dydaktycznym, lecz kieruje się ważnością danego związku jako składnika ustrojów i ich przetworów. Stąd wynika, że wstępem do każdego kursu chemii fizjologicznej musi być względnie obszerny kurs dopełniający z chemii organicznej, obznajmiający słuchaczów z temi dziedzinami, których nie mógł dość obszernie uwzględnić kurs elementarny. Kurs taki obejmuje zwykle chemję cukrów, tłuszczów, ciał tłuszczowatych, aminokwasów i białek, kwasów nukleinowych, zasad purynowych; nie należy jednak do systemu chemii fizjologicznej, lecz do organicznej, podobnie jak chemja alkoholu i mocznika, gliceryny i kwasu octowego; tylko ze względów dydaktycznych pomieszczamy go w kursie chemii fizjologicznej.

Podobnie ma się rzecz z chemją fizyczną; z dziedziny nauki o roztworach, o t. zw. układach koloidowych, z elektrochemji, nauki o równowadze chemicznej, zjawiskach powierzchniowych, szybkości reakcji i termochemji potrzeba dla zrozumienia chemii fizjologicznej i fizjologii szerszych i głębszych wiadomości, aniżeli te, które dziś przypadają w udziale na wielu uniwersytetach słuchaczom chemii. Stąd wynika konieczność dopełnienia w ramach kursu chemii fizjologicznej także i tych wiadomości.

W opracowaniu tego działu, który zajmuje się sprawami fizyczno-mechanicznemi, nie zawahałem się przed użyciem środków matematycznych.

*) Każdy myślący przyrodnik lub lekarz odniesie wiele korzyści z następujących dzieł, poświęconych ogólniejszym zasadom nauki: M. Smoluchowski: Fizyka w Podręczniku dla samouków, nowe wydanie (1916), tom 2; A. Stöhr: Lehrbuch der Logik in Psychologischer Darstellung, Wiedeń 1910; Biegański: Logika medycyny.

**) Z podręczników fizyki w językach obcych polecamy słuchaczom medycyny podręcznik Lechera (niemiecki), dla nich szczególnie napisany i uwzględniający w sposób nader jasny rzeczy takie, których w podręcznikach fizyki znacznie obszerniejszych trudno znaleźć.

W kursach uniwersyteckich fizyki i chemji (a zwłaszcza w obliczonych dla słuchaczy medycyny) spotykamy się z taką powściągliwością w stosowaniu środków matematycznych, jak gdyby słuchacze ci nie mieli za sobą całego wykształcenia matematycznego, w które nauczyciele i uczniowie szkół średnich tyle pracy włożyli. Ale kształcenie matematyczne w szkołach średnich dostosowuje się do ducha nauki współczesnej, główne jej narzędzia myślowe funkcja i pochodna wchodzi w program nauczania średniego, kosztem pewnego nadmiaru geometrii, podawanego w nauczaniu dawniejszym, wobec tego wolno i należy stosować elementa matematyki wyższej w kursach uniwersyteckich fizyki i chemji. Jeżeli w tych kursach nie wolno nam wykraczać w stosowaniu środków matematycznych ponad regułę trzech, to pocóż cały ten balast, którego się młodzieniec w szkołach średnich uczy; czy tylko po to, aby go potem jak najprędzej zapomnieć?*)

Słusznie twierdzi Love we wstępie do swego krótkiego podręcznika rachunku różniczkowego i całkowego**), że zasady tego rachunku powinny stanowić niezbędną część składową wykształcenia każdego mężczyzny i każdej kobiety w XX wieku, tak samo jak znajomość teorii dziedziczności lub układu Kopernika. Nie chodzi na tym stopniu tyle o nabycie umiejętności w operowaniu środkami matematycznymi, ile o zaznajomienie się choćby powierzchowne z tą „stenografią pojęciową”, bez której nie podobna się obejść, jeżeli zależy na ścisłym a krótkim wyrażeniu praw fizyki i chemji fizycznej.

Kilka słów w odniesieniu do zakresu ustrojów, któremi będziemy się zajmowali. Aczkolwiek uwzględniamy szczególnie chemję i fizjologję człowieka, opartą na wnioskach z doświadczeń nad zwierzętami wyższemi (z ssaków głównie nad królikiem, psem, koniem, z płazów nad żabą) oraz na spostrzeżeniach nad normalnym i chorym człowiekiem, to jednak będziemy sięgać do materiału fizjologii wszelkich gatunków świata zwierzęcego i roślinnego. To samo zjawisko, które trudno daje się ująć i zanalizować u jednego ustroju, przedstawia się u drugiego — nieraz bardzo w systemie zoologii odległego — w formie o wiele prostszej i doświadczalnie dostępnej.

Tak np. badania nad przemianą białkową u drożdży (F. Ehrlich) naprowadziły na ważne odkrycia w sprawie przemiany białkowej u ssaków (O. Neubauer), a wyjaśnienie tej sprawy w wątrobie psa wyjaśniło ostatecznie jej przebieg w drożdżach (Neubauer i Fromherz) i przygotowały podstawę do zrozumienia fermentacji alkoholowej cukru; zrozumienie fermentacji alkoholowej wywarło znowu wpływ na pojęcie o przemianie cukru w mięsniu.

Zagadnienie, czy pepsyna jest identyczna z fermentem podpuszczkowym, który ścina mleko, zostało zasadniczo rozwiązane przez odkrycie Duceschiego, który znalazł w żołądku dydelfa (szczura workowatego) pepsynę, ale brak podpuszczki. Mięśnie prądkowane kręgowców wykonują skurcze tępcowe, ale także skurcze trwałe toniczne” u małżów

*) Celem nauczania matematycznego jest wpojenie w ucznia przeświadczenia, że „ścisłe myślenie oparte na ścisłych przesłankach może opanować świat zewnętrzny” (F. Klein).

**) W polskim tłumaczeniu St. Kalinowskiego i Wł. Wojtowicza, Warszawa 1912, str. 225. Więcej przykładów z nauk przyrodniczych zawiera Nernsta i Schoenfliessa Einleitung in die Mathematische Behandlung der Naturwissenschaften”, 8 wyd., Monachium 1918, str. 445. Książkę tę gorąco polecamy każdemu, kto chce w zakresie powyżej zaznaczonym zaznajomić się ze stosowaniem środków matematycznych w naukach przyrodniczych.

natomiast mamy dwa rodzaje mięśni: zwieracze skorup są złożone z dwóch odrębnych mięśni, jeden z nich ma zdolność wykonywania jedynie skurczów krótkich, natomiast drugi umie tylko trwać w skurczu. Na tym mięśniu można było wykazać, że trwanie w skurczu może nie być związane ze zużyciem energii, a tego fizjologja, oparta na doświadczeniach nad mięśniem żabim, nigdy przedtem nie przypuszczała, a nawet takiej możliwości wręcz przeczyła. Ze względu na wielką korzyść, którą naszej nauce przyniosły badania nad różnymi ustrojami, będziemy w zakresie naszych rozważań uwzględniali cały świat zwierzęcy i roślinny. Punkt widzenia fizjologii porównawczej, która zapytuje: jaki przebieg ma ta sprawa u różnych rodzajów ustrojów, pogłębia często zrozumienie danej funkcji, rozszerza horyzont i ma wielką wartość dydaktyczną: tak np. porównanie sposobów wymiany gazowej u ssaków, płazów, ptaków, zwierząt wodnych i owadów, albo porównanie spraw trawiennych u ssaków mięsożernych, roślinożernych nieprzeżuwających a przeżuwających. Porównanie zdolności spalania tkankowego kwasu moczowego na alantoinę u człowieka i u innych ssaków rzuciło światło na osobliwy brak w ustroju ludzkim, z którym związana jest dna. Przykładów podobnych możnaby podać wiele.

Często wyrażano zdanie, że elementarne zjawiska życiowe dadzą się szczególnie łatwo wyjaśnić przez doświadczenia i obserwacje nad pierwotniakami, jako nad ustrojami najprostszymi. Przejawy życiowe mogą się nam u pierwotniaków wydawać prostszymi jedynie dlatego, że nie umiemy ich anatomicznie analizować; w istocie sprawy fizjologiczne, więc przemiana materji, rozwój, rozmnażanie, regeneracja, pobudliwość są związane u nich z grudką substancji żywej, której prawie że nie można już podzielić. U tkankowców funkcje te są rozdzielone na narządy dostrzegalne, znane do pewnego stopnia w swej budowie, a z organizacją wyższą rozwinęła się specjalizacja komórek i tkanek; eksperymentom są tu dostępne narządy o odrębnych funkcjach, daną sprawę można zlokalizować, a co za tem idzie, można jej warunki i jej istotę ściślej zanalizować i opanować doświadczalnie. Fizjologja chemiczna odniosła wiele korzyści ze studjów nad drobnoustrojami, zwłaszcza nad takimi, które mają bardzo jednostronną a żywą przemianę materji saprofityczną; ale główną podstawą zrozumienia zjawisk życiowych są analizy i eksperymenta nad ustrojami tkankowców. Badania np. nad amebami lub wymoczkami nader mało przyniosły nauce naszej korzyści.

*

Każdy ustrój jest zorganizowany ze składników postaciowych, rozróżnianych przez nauki histologiczne i analizę fizjologiczną. Dzielimy je na następujące klasy:

1. Substancja żywa, która występuje zawsze tylko w postaci komórek, zróżnicowanych zarówno pod względem chemicznym jak i postaci. Komórki tworzą u pierwotniaków całość ustroju, u tkankowców są budulcem głównym tkanek, z tkanek składają się narządy, z narządów ustrój. Przemiana materji odbywa się w substancji żywej, w której odróżniamy jądro i protoplazmę wraz z jej zróżnicowanymi składnikami, które trafnie określono jako narządy komórkowe.

2. Struktury szkieletowe, zawarte zarówno w komórkach, jak i w ustrojach w największej różnorodności postaci i funkcji mechanicznej. Nadają one ustrojom postać, spójność i odporność mechaniczną; wystarczy wskazać na delikatne włókienka w białych krwinkach i cały szereg struktur szkieletowych aż do potężnych pancerzy u skorupniaków, skorup u małżów i kośćców u kręgowców. Struktury szkieletowe są wytworem substancji żywej, same nie są substancją żywą, ale otaczająca je substancja żywa podtrzymuje w nich przemianę materji.

3. Substancje zapasowe, nagromadzone w każdym ustroju: więc węglowodany i tłuszcze, woda i sole, wreszcie i białko. Substancje zapasowe są bardzo rozmaicie rozmieszczone, nieraz w tkankach osobnych (tłuszcz), nieraz na miejscu zużycia (glikogen), niekiedy są niedostrzegalne dla obserwacji morfologicznej. Stosunek substancji żywej do zapasowej może być bardzo rozmaity: weźmy np. chudego człowieka, gdzie zapasowych substancyj bardzo mało, a tłustego, gdzie obydwa rodzaje w niemal równych mogą znaleźć się ilościach. Albo jajko kurze, gdzie substancja żywa (zarodek) stanowi drobną część całości, resztę zaś substancja zapasowa, która w miarę rozwoju prawie zupełnie się organizuje, w żywą przechodzi substancję.

4. Płyiny śródkomórkowe, które obserwacja mikroskopowa wykazuje szczególnie w postaci wodniczek. Wodniczki bijące mogą być pojęte tylko jako zbiorniki, do których „zdrenowany” jest niewidoczny płyn komórkowy, w żywą przechodzi substancję.

5. Płyiny międzykomórkowe, które u tkankowców stanowią właściwe środowisko wewnętrzne (milieu intérieur), w którym żyją komórki.

Najczęściej otaczają one w drobnych ilościach komórki, w większych ilościach występują niekiedy w jamach ciała. Lekarzowi ukazują się w większych ilościach wtedy, kiedy występują w obrzękach tkanek, albo w prześiękach i wysiękach jam.

6. Płyiny krążące. U zwierząt rozróżniamy dwa rodzaje płynów krążących, mianowicie krew i limfę. Limfy nie można ograniczyć ściśle do płynu międzykomórkowego, układy chłonne stanowią jakby układ drenów, przez które ten płyn zlewa się do krwi: właściwie nie powinniśmy mówić o krążeniu limfy, lecz tylko o jej spływaniu. Krew natomiast krąży w układzie naczyń, który rozdziela się na naczynia włoskowate, a poprzez delikatne ścianki tych naczyń odbywa się wymiana składników krwi i składników płynu międzykomórkowego czyli śródtkankowego: wymiana soli, wody, cukru, aminokwasów itp. Krew i limfa są bardzo złożonymi roztworami, w których unoszą się składniki zorganizowane, bądźto złożone z substancji żywej jak leukocyty, bądź też zawierające ją poczęści, jak krwinki czerwone ptaków, płazów, gadów, wreszcie struktury pozbawione substancji żywej, lecz wytworzone przez nią do osobliwych celów, jak krwinki czerwone ssaków.

7. Wydzieliny i wydaliny. Są to płyny wytworzone przez czynność komórek lub narządów, służące albo do szczególnych celów chemicznych lub fizycznych w obrębie ustroju, albo do działania na zewnątrz (wzgl. w przewodzie pokarmowym), albo wreszcie do wydalenia składników zużytych lub niepotrzebnych. Wymienimy np. ślinę, sok żołądkowy i trzustkowy i żółć; mleko i moc; przetwory gruczołów wkręwnych. Powstawanie tych płynów wzgl. ich składników daje się wykazać już w obrębie komórek gruczołowych, kiedy znajdują się jeszcze w substancji żywej.

*

Analiza chemiczna ustrojów, więc właściwa chemja fizjologiczna, ma swój początek tam, gdzie i chemja organiczna: w technice farmaceutycznej i barwierskiej, oraz w badaniach rozpoznawczych wydzielin i wydaliny. Dla chemji organicznej istniały pierwotnie tylko takie ciała, które otrzymywano z roślin lub zwierząt: przypisywano ich powstanie osobliwszej sile życiowej.

„W jestestwach organicznych, gdzie siła indywidualna i przeciw związkom chemicznym i przeciw spojeniu fizycznemu działa, układając i wiążąc przyrodzone materji odżywej pierwiastki sobie właściwym sposobem, powstaje nowy związek od poprzedzających różny, który dlatego *związkiem organicznym* (kursywa autora) nazwać należy. A tak wszystkie istoty organiczne, co do najdrobniejszych swoich cząsteczek są równie jak każda inna materja, w związku fizycznym, co do pierwiastków składających, w *organicznym* (kursywa cytującego).” „Stąd równie łatwo jest pojąć, dlaczego chemja nie tylko organicznych istot, ale nawet ciał martwych, związek organiczny mających, tworzyć nie może; dlaczego jestestwa żyjące jedynymi są warstewkami, w których takowe wyrobienie miejsca mieć może. Uważając tedy ciała naturalne złożone, co do ich składu, mamy oczywiście dwa tego gatunki, to jest *skład chemiczny i organiczny* (kursywa autora). A zatem chemia organiczna, jako na innym oparta porządku, powinna osobną całkiem od chemji ogólnej stanowić naukę”.

Kiedy Jędrzej Śniadecki w pierwszym wydaniu *Teorii jestestw organicznych* pisał te słowa (1811), sprawa przedstawiała się istotnie tak, jak ją tu z właściwą swej myśli ścisłością przedstawił. Kiedy jednak powtarzał je w wydaniu drugim (1838), wtedy sprawa była już rozstrzygniętą w kierunku wręcz przeciwnym. W roku 1828 *Woe h l e r* otrzymał syntetycznie mocznik, uważany dotąd za ciało organiczne w tem znaczeniu, w jakim pojmował takie ciała *Ś n i a d e c k i*.

Od tego czasu chemja organiczna poszła własnymi, nowymi drogami i wzniosła z pojęć o budowie związków organicznych i przy pomocy sztuki syntezy chemicznej wspaniała, dziś niemal zakończoną budowę. Wiele korzyści przypadło przytem chemji fizjologicznej, gdyż przy wznoszeniu systemu chemji organicznej wyjaśniała się kolejno budowa i własności napotykaných przytem ważnych składników ustroju. Budowa związków prostych, które znajdowano w wydzielinach i wydalinach, rozjaśniała się kolejno.

A w ostatnich dziesięcioleciach wieku XIX i w wieku XX oznaczono już istotę chemiczną głównych składników ustrojów żywych; wyjaśniono i otrzymano syntetycznie tłuszcze, ciała grupy kwasu moczowego, barwniki roślinne (alizarynę i indygo, żółte barwniki flawonowe), liczne alkaloidy roślinne, zasady zwierzęce i gnilne, alkaloidy sporyszu, terpeny, olejki eteryczne i kamforę, cukry i glukozydy, wszystkie aminokwasy, wchodzące w skład białka, wreszcie kauczuk i garbniki; wyjaśniono zasadniczo budowę białka, barwnika i krwi i chlorofilu, kwasów nukleinowych, kwasu chondroitynosiarzanego, wielkiej części lipidów, składających tkanki nerwowe. Kiedy już zakończono budowę teoretycznej chemji organicznej i wypełniono ją materiałem o wielkiej doniosłości naukowej i praktycznej, kiedy zadania syntezy w służbie teorji i techniki zaczynały się wyczerpywać, wtedy mistrzowie chemji organicznej coraz częściej zwracali się do zadań związa-

nych z chemją fizjologiczną, poczytując sobie za największe zadanie oznaczenie budowy ważnych dla fizjologii, a dotychczas niewyjaśnionych związków. O tej dziedzinie można dziś powiedzieć słowami Liebiga, że wprawdzie jeszcze wiele w niej niezrozumianego ale nic nie ma niezrozumiałego. W roku 1900, kiedy w wielkiej części wymienionych tu zdobyczy jeszcze nie było, mógł Marceli Nencki*) wypowiedzieć słowa Goethego: „Wonach ich mich in der Jugend sehnte, davon habe ich im Alter die Fülle”**); wielki uczyony, schodząc ze świata w pełni sił i pracy, wyraża żal, że musi ustąpić z pola, które się właśnie tak zapełniło i ożywiło nowymi zdobyczami i podstawami dla nowych zadań.***)

Podczas tego rozkwitu chemji organicznej, obejmującego działy dla chemji fizjologicznej najważniejsze, chemja fizjologiczna posuwała się bardzo powoli naprzód. Chemicy zajmowali się własnościami ważnych składników ustroju, ale tylko tych, które łatwo było otrzymać w większej ilości i w stanie czystym: inne zupełnie zadania stawiała analiza ustroju. Rozdzielanie dziesiątek i setek rozmaitych substancyj, o których z góry niewiele wiadano, było niewdzięcznym zadaniem. Stan koloidowy materji, charakterystyczny dla środowiska spraw życiowych, utrudniał analizę i wywoływał zniechęcenie u chemików, którzy lubili pracować tylko nad związkami czystymi i krystalizującymi się. Niejedno zadanie ważne dla chemji fizjologicznej nie dojrzało jeszcze do rozwiązania. Ci uczeni, których ważność przedmiotów porywała do usiłowań, do których ani oni, ani też inni współcześnie nie byli jeszcze gotowi, załamywali się na trudnościach, a niepowodzenia ich były interpretowane już to jako wynik dyletanckiej roboty, już to jako uwarunkowane przez właściwości przedmiotu; padły cyniczne słowa: „Tierchemie ist Schmierchemie” (chemia zwierzęca jest chemią nieczystości). Najważniejszą potrzebą metodyczną chemji fizjologicznej było i jest oznaczenie ilościowe związków organicznych w bardzo złożonych mieszaninach; chemja organiczna nieliczne tylko w tym kierunku stworzyła metody, i wśród setki tysięcy związków organicznych umiemy zaledwie kilkadziesiąt związków oznaczyć ilościowo w takich mieszaninach.****)

Tem większą jest zasługa tych mężów, którzy mimo trudności szukali ścieżek wśród gęstwiny. Prace niedoceniane przez chemików, jak analizy

*) O zadaniach chemji biologicznej. Mowa przy otwarciu Zjazdu Przyrodników-lekarzy polskich w Krakowie. Przegląd lekarski 39 (str. 446, rok 1900).

***) W oryginale po niemiecku: „To za czem tęskniłem w młodości, mam na starość w pełni”.

****) Marceli Nencki, wielki fizjolog-chemik polski, ur. 15 stycznia 1847 w Kaliskiem. Z początku studjował filologję klasyczną. W r. 1870 zdał doktorat medycyny w Berlinie, w r. 1877 otrzymał profesurę w Bernie, a w r. 1891 stanowisko dyrektora oddziału chemicznego w instytucie medycyn w eksperymentalnej w Piotrogradzie. Zmarł 14 października 1901. Prace Nenckiego, odnoszące się do wielu dziedzin chemji organicznej i fizjologicznej (raz fizjologii chemicznej, wydano po śmierci) jako dzieło pt. Opera omnia (I tom, 840 str., II tom, 879 str.), Brunświk, 1905 (po niemiecku). Pracami tego wielkiego uczonego będziemy się niejednokrotnie zajmowali.

*****) Chemia fizjologiczna wyprzedziła w wypełnieniu tych zadań inne dziedziny chemji: w analizie moczu i krwi stosujemy liczne metody określenia ilościowego pewnych związków w mieszaninach bardzo złożonych, metody dla celów fizjologicznych wypracowane. Także w nowoczesnej analizie bardzo drobnych ilości substancji (mikrochemji, mikroanalizie) przodowali fizjologowie.

A d. S c h m i d t a, jak prace samotnego angielskiego lekarza T h u d i c h u m a nad składnikami mózgu, próby rozłożenia na składniki indywidualne peptonów, podejmowane przez K ü h n e g o i przez H o f m e i s t r a, badania M i e s c h e r a nad kwasami nukleinowymi, to wszystko badania na wielkiej umiejętności i pracowitości oparte, nie za efektem goniące, nie wybierające pojedynczych błyskotek, a dążące do zupełnej analizy substancji żywej i jej wytworów.

Bezradność wobec związków, których analiza rozłożyć ani wyjaśnić nie umiała, ustąpiła nieco wobec rozwoju chemji fizycznej. Teoria roztworów i elektrochemja, nauka o układach koloidowych i o chemji działań powierzchniowych wyjaśniły niektóre własności substancji żywej i płynów ustrojowych. Połączenie niezrozumiałe z punktu widzenia klasycznej stechjometrii chemicznej stały się zrozumiałszymi z punktu widzenia nauki o zjawiskach powierzchniowych napozór bardzo złożone reakcje wyjaśniono jako zjawiska elektrostatyczne. Metody fizyczno-chemiczne pozwalały niejednokrotnie określić stan, w jakim dany składnik w płynie lub nawet w komórce się znajduje, bez zniszczenia układu żywego, umożliwiły poszukiwania w odniesieniu do niezmiennych płynów i żywych struktur ustrojów, z których dawne grubsze analityczne metody nawet marzyć nie pozwalały.

O płynach ustroju i o jego elementach strukturalnych, które nie są żywe, które nie posiadają własnej przemiany materji, możemy dziś również powiedzieć, że wiele w nich rzeczy dotąd niewyjaśnionych, ale że nie ma nic zasadniczo niepojętego.

Inaczej ma się rzecz z substancją żywą. Analizy chemiczne wykazują we wszystkich rodzajach komórek zawsze to samo: zgrubsza rozdzielono rodzaje białek i nukleoproteidów, sole, ciała tłuszczowate, glikogen i cukry, cholesterynę; wynik bardzo ubogi. W dodatku można było wątpić, czy analizy odpowiadają rzeczywiście składowi tkanki; układ ciał, składających się na nią, jest nietrwały, i wiemy, że np. samo rozdrobnienie wątroby powoduje zcukrzenie glikogenu, pokrajanie mięśni wywołuje powstawanie kwasu mlecznego. Przeciwdziałamy takim zmianom przez jak największe przyspieszenie procesu, który tkankę żywą zamienia na martwą mieszaninę; utrwalamy ten skład chemiczny, który miała tkanka żywa. Podobnie postępuje chemik, jeśli chce zanalizować gazy w tym właśnie składzie, jaki miały np. w płomieniu w temperaturze 1500°; w tej temperaturze reakcje będą niezmiernie szybko; równowaga przy 1500°, np. wody, CO, CO₂, H₂ i O₂ przesunęłaby się przy powolnem ochłodzeniu i otrzymalibyśmy gazy w składzie tej równowagi, która odpowiada temperaturze pokojowej. Jeżeli natomiast gazy wyciągnąć z płomienia przez rurkę włoskowatą platynową, otoczoną płaszczem, przez który krąży zimna woda, to można ochłodzić je tak szybko, że przesunięcie się równowagi, odpowiadającej temperaturze 1500°, nie ma czasu się odbyć; albowiem w niskiej temperaturze reakcje będą bardzo powoli. Podobnie postępujemy wobec tkanek. W mięśniu istnieje substancja, która rozkłada się nader szybko na kwas mleczny; jeżeli mięsień drażnimy, rozdrabniamy, zagotujemy, lub utrwalamy przez wrzucenie do alkoholu, wtedy układ fermentów w substancji żywej umożliwi niemal wybuchowy rozkład. Jeżeli mięsień ochłodzimy i potem nagle w temperaturze -10° rozmiądzimy w alkoholu,

albo w nasyconym roztworze siarczanu amonowego to białka fermentu będą zabite, zanim odbędzie się reakcja, która w tak niskich ciepłotach bardzo powoli się odbywa.

Wielki postęp stanowiło stwierdzenie w komórce zaczynów śródkomórkowych, narzędzi chemicznych substancji żywej; nie postąpiliśmy dotąd wcale naprzód na drodze zmierzającej do poznania chemicznej istoty zaczynów, ani nie wiemy, jaki jest mechanizm cząsteczkowy ich działania, ale wiemy przynajmniej, jakie są wyniki ich wpływu na reakcję; umiemy powtarzać za pomocą oddzielonych od komórki narzędzi niektóre reakcje, znane przedtem tylko jako skutek czynności żywej komórki. Umiemy przeprowadzić fermentację alkoholową za pomocą soku wyciśniętego z drożdży, rozmaite utlenienia za pomocą wyciągów z tkanek zwierzęcych i roślinnych, rozkład argininy na mocznik i ornitynę za pomocą wciągu z wątroby i wiele innych reakcyj. Oprócz tego umiemy — zajmujemy się tym przedmiotem w części poświęconej fizjologii chemicznej — stwierdzać przemiany chemiczne, których doznają określone ciała pod działaniem tkanek; umiemy wpływać na przemianę materji przez zmianę warunków fizyczno-chemicznych, jako też przez podawanie różnych surowców substancji żywej. Ale pozostajemy ciągle w sytuacji obserwatora, który stoi przed wrotami zamkniętej krainy, widzi surowce, jakie do tej krainy przywożą, towary, jakie z niej wywożą, zna może wpływ deszczów, pożarów i powodzi, odbijający się na produkcji; ale nie umie z tych danych wywnioskować ani o rodzaju ludzi, zwierząt i roślin, które ją zamieszkują, ani zrozumieć urządzeń fabryk i warsztatów, przebiegu rzek i dróg, które ten kraj przecinają. A nasze analizy mniej mówią o mechanizmach komórkowych, aniżeli o budowie zegara mówi analiza, stwierdzająca żelazo, miedź, cynk korund i złoto w roztluczonym materiale tego mechanizmu.

Substancja żywa jest układem niezmiernie złożonym i to z bardzo złożonych jednostek. Nie wątpi o tej niesłychanej złożoności nikt, kto się zastanowił nad procesami takimi, jak przenoszenie podniety nerwowej, jak czynność ośrodków, jak wreszcie niezmierna różnorodność przemian chemicznych, np. w komórce wątrobowej. Nie brak wreszcie doświadczeń, które pozwalają wprost ocenić wielkość układów jednostkowych, funkcjonujących w substancji żywej. Podamy przykład:

Strofantyna działa na serce (więc narząd o mechaniczno-chemicznej, raczej jednostronnej funkcji) już w ilościach 0·00008 mg na 5 mg suchej substancji serca .Ponieważ ciężar cząsteczkowy strofantyny wynosi 922, przeto możemy obliczyć ciężar cząsteczkowy układu, który przez obecność strofantyny ulega zmianie:

$$0 \cdot 00008 : 5 = 922 : x,$$

$$x = 57625000;$$

musi to być kompleks 57 milionów razy większy od atomu wodoru. Możliwyby działaniem jadu porównać z działaniem małego klina, który zatrzymał maszyny olbrzymiego okrętu.

Do wyjaśnienia struktury substancji żywej nie prowadzi żadna droga znana; ani dzisiejsza fizyka i chemja, ani histologia. Nie przesadzamy, czy nowe drogi nie znajdują się podobnie, jak znalazły się sposoby określenia budowy ciał organicznych, a niedawno i atomów: najtrudniej przewidzieć

nową drogę*). Ale dobrze jest znać granicę tych rozumowań i metod, któremi dziś rozporządzamy: dlatego poświęcimy trochę czasu na przeprowadzenie rachunku, który da czytelnikowi obraz złożoności substancji żywej.

Hofmeister obliczył w przybliżeniu liczbę cząsteczek, wchodzących w skład komórki wątrobowej. Jest to kostka o objętości $8 \cdot 10^{-9} \text{ cm}^3$, zawierająca 76% wody, a 24% substancji suchej, wtem około 16% białka, $2\frac{1}{2}\%$ ciał tłuszczowatych, cukier, kwasy, mocznik, kwas moczowy, sole nieorganiczne w ilości, wynoszącej razem około $5\frac{1}{2}\%$.

Ponieważ cząsteczka gramowa jakiegokolwiek substancji zawiera $6 \cdot 2 \cdot 10^{23}$ cząsteczek, przeto można obliczyć liczbę cząsteczek białka, lipidów, oraz ciał drobnocząsteczkowych, zawartych w komórce. Biorąc dla białek przeciętny ciężar cząsteczkowy 16000, dla lipidów 800, dla ciał drobnocząsteczkowych 100, dochodzimy do następującego wyniku: komórka wątrobowa zawiera cząsteczek:

wody	225000	miliardów
białka	53	„
ciał tłuszczowatych	166	„
ciał drobnocząsteczkowych	2900	„

Porównywano komórkę wątrobową z fabryką chemiczną; wyobraźmy sobie budowę objętości 200000 miliardów zwykłych cegieł, w której 200 miliardów cząsteczek koloidowych (białka i ciała tłuszczowate) tworzy mury, dachy, urządzenia wewnętrzne, woda natomiast wypełnia przestrzenie puste, więc pokoje, podwórza, ulice. Hofmeister oblicza, że taka budowa pokrywałaby przestrzeń 7000 kilometrów kwadratowych przy wysokości 50 m, stanowiłaby zatem zabudowanie całego kraju. Widzimy z tego porównania, jak wiele bardzo złożonych struktur może się pomieścić w obrębie substancji żywej komórki wątrobowej.

A gdzie leżą granice histologii? Ciałka o średnicy 0.1μ (10^{-4} cm) nie można już odróżnić pod mikroskopem; a ciało takie ma objętości $0.001\mu^3$, w komórce wątrobowej jest miejsce na 8 milionów takich ciałek.

Hofmeister oblicza, że ciało takie zawierałoby 25 milionów cząsteczek wody, 25000 cząsteczek koloidowych i 25000 cząsteczek drobnych: odpowiadałoby fabryce o 100 m frontu a 20 m wysokości i głębokości. Miliony takich bardzo złożonych układów mogą się mieścić w płynnej, krążącej protoplazmie, „a ich sprawy mogą od ruchu protoplazmy być podobnie niezależne, jak prace na okręcie od kierunku żegluga”.

Chemja organiczna obznajomiła nas ze strukturą atomową cząsteczek, których wielkość dosięga blisko 1000-krotnej wielkości atomu wodorowego; powyżej tej wielkości, aż do kilkunastokrotnej jej wartości, znamy już tylko niewyraźne zarysy. Dla histologii są niedostępnymi już zarysy ciał i struktur 25000 razy większych. Między temi granicami leży organizacja komórkowa, struktura substancji żywej; przedstawia ona dzisiaj jakoby wielką

*) „Nic nie ma jaśniejszego nadto, co znaleziono wczoraj, a nie trudniejszego do przewidzenia niż to, co się znajdzie jutro” (Biot. cyt. podług Cl. Bernard, Leçons de physiologie experimentale, 1855, t. I, str. 10).

białą plamę na mapie, wewnątrz ładu, którego wążutki rąbek odkryła chemja, a który pozwala tylko zdaleko oglądać histologja.

Cała czynność, która się tam odbywa, jest niewidzialna z tak wielkiej odległości: w komórce wątrobowej działa cała armia zaczynów, odbywają się przemiany setki substancyj, a „mikroskop ukazuje próżną scenę”; co najwyżej tylko epizody czynności, jak złogi glikogenu, tłuszczu lub ziarenek wydzielinowych, gotowych przetworów.

Uważam raczej za optymistyczne słowa, które wypowiedział w r. 1912 Keith Lucas:

„Trzeba spojrzeć w daleką przyszłość, by dostrzec, jak współczesna histologja komórki rozszerzy się dzięki nowej histologji, której zadaniem będzie zlokalizowanie w obrębie komórki powierzchni o znaczeniu fizyczno-chemicznym”.

Procesy chemiczne, które odbywają się w ustroju, są przedmiotem fizjologii chemicznej. Rozróżnimosy wśród tych procesów znowu takie, które się odbywają poza obrębem substancji żywej, pod pośrednim jej wpływem, od tych spraw, które przebiegają na warsztacie samym żywej substancji. Pierwsza grupa procesów, to sprawy zaczynów trawiennych, zmiany zachodzące we wydzielinach i wydalinach; druga, to właściwa przemiana materji tkankowa.

Sprawy trawienne dostępne dla badań, zarówno *intra corpus* jak *in vitro*, przedstawiają one naogół sprawy przygotowawcze przemiany materji. Sprawy przemiany tkankowej są trudniejsze do ujęcia; zarówno w prądzie przemiany rozkładowej jak i w prądzie przyswajania.

Fizjologja chemiczna zwierząt rozpoczyna się od wielkiego Lavoisiera. Lavoisier i Laplace*) (1780) wykazali, że w ustroju zwierzęcym odbywa się spalanie, przemiana wdychanego tlenu na wydychany dwutlenek węgla. Jest to ten sam proces, na którym polega — jak to odkrył Lavoisier — spalanie się np. świecy. Lavoisier zrozumiał, że spalania w ustrojach są źródłem ciepła zwierzęcego; wspólnie z Laplacem porównywali w kalorymetrze ilość lodu, stopioną przez ciepło, wywiązane przez spalanie świecy z ciepłem wyzwolonem przez oddychanie morskiej świnki, i stwierdzili, że w obydwu wypadkach ilość ciepła wywiązanego pozostaje w takim samym stosunku do ilości wytworzonego CO₂. „Oddychanie jest zatem spalaniem, które przebiega bardzo powoli, ale pozatem jest zupełnie podobne do spalania węgla”.

Lavoisier zastosował do badań nad przemianą oddechową człowieka i zwierząt niemal wszystkie metody, które rozwinęli później inni badacze i uwzględnił wszystkie czynniki, które wpływają na przemianę fizjologiczną: stwierdził jej zależność od pracy, od temperatury, od odżywiania. Metody i odkrycia tego przedziwnego genjusza rozwinęli później Pettenkofer i Voit, Regnault i Reiset, Zuntz, Rubner, Atwater i Benedict; zależność przemiany gazowej, od rodzaju, wielkości, stanu ustroju, od pracy, pożywienia, temperatury są dziś doskonale zbadane. Bilanse przemiany białkowej, mierzone przez ostateczny produkt rozkładu

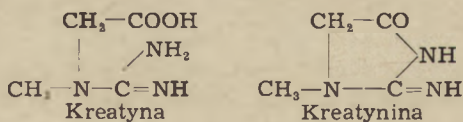
*) Antoine Laurent Lavoisier, ur. 1743, stracony przez lud paryski w r. 1794, twórca nowoczesnej chemji. Laplace był jednym z największych astronomów, matematyków i fizyków.

białka, wydalanym w moczu azot mocznikowy, były przedmiotem tysiącznych badań, i te sprawy są w głównych zarysach względnie dobrze znane.

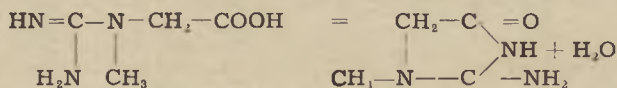
Tak samo jak cały ustroj, tak i poszczególne narządy, tkanki i komórki mogą być przedmiotem badań nad wymianą gazową; siedzibą przemiany tlen na CO₂, więc ogniskiem całego ustroju jest bowiem substancja żywa (tka nek*). Mierzono zużycie tlenu i wytwarzanie dwutlenku węgla w narządach izolowanych, albo pozostających in situ w ustroju; poddawano analizie gazy zawarte w próbach krwi przepływającej przez narząd, albo mierzono wymianę gazową tkanki izolowanej, nawet komórek izolowanych w atmosferze lub w płynie fizjologicznym, określając znowu zależność przemiany od rodzaju narządu, jego czynności i temperatury.

Badania takie przedstawiają analizę przemiany materji ze stanowiska anatomicznego: lokalizowanie jej w określonych narządach i tkankach. Analiza z punktu widzenia chemicznego ma inny cel; zapytuje: jeżeli tkanka przerabia np. cukier na tlen dopływający z krwią tętniczą na dwutlenek węgla (i wodę) odpływający z krwią żylną (jak to stwierdził Ch a u v e a u i K a u f m a n n na mięśniu żywego normalnego konia) to jakie stadia przebiega ta powolna reakcja? Czy cukier i tlen stają się częścią protoplazmy a z tej protoplazmy odszczepia się wreszcie CO₂? Czy też ciała spalone przechodzą przez szereg zmian, które można wyrazić w pospolitych wzorach chemicznych tak samo jak wyrażamy reakcję w układach martwych?

Najprostsze wnioski nauki o przemianie pośredniej opierają się bezpośrednio na wynikach chemji fizjologicznej. Jeżeli w analizach tkanek i przetworów danego ustroju napotykamy na ciała chemiczne sobie bliskie, jeśli na podstawie reakcji znanych z doświadczeń czysto chemicznych, lub łatwych do pomyślenia na podstawie znanych analogji, można sobie wyobrazić, że jedno powstało z drugiego: wtedy wnioskujemy, że ciała te stoją między sobą w związku genetycznym. Znajdujemy np. w moczu stale kreatyninę



a w mięśniach kreatynę; kreatynina powstaje z kreatyny



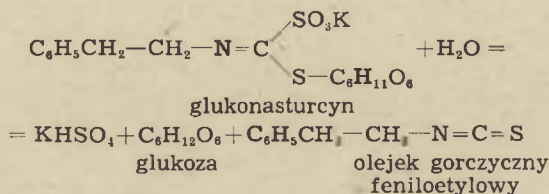
przez proste odwodnienie, możemy tę reakcję wywołać przez ogrzewanie kreatyny z kwasem solnym:

Z występowania kreatyny w tkankach, a kreatyniny w wydalinach wynika prosty wniosek, że i w ustroju kreatynina powstaje z kreatyny. Takie rozumowanie jest szczególnie charakterystyczne dla fizjologii przemiany

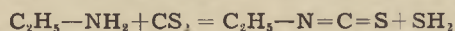
*) Wielki matematyk Lagrange był pierwszym, który zrozumiał, że tlen rozpuszczony we krwi łączy się powoli z węglem i wodorem tkanek, w których krew krąży (ob. Hassenfratz Ann. de Chimie Paryż, tom IX, str. 275) (1791).

pośredniej u roślin, która prawie zupełnie jest opartą na podobnych wnioskach. Eksperyment chemiczno-fizjologiczny — o tej drodze badań będzie zaraz obszerna mowa — daje się na roślinach wyższych wykonać tylko w rzadkich wypadkach; natomiast bogaty dorobek chemii opisowej ustrojów roślinnych stanowi szeroką podstawę dla wniosków fizjologicznych.

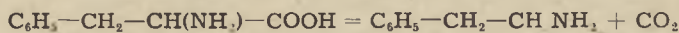
Znajdujemy np. w rukwi lekarskiej oraz w korzeniu rzedy glukozyd glukonasturcyn, który drogą hydrolizy przez zaczyn mirozynę rozkłada się na cukier gronowy, siarczan potasowy i olejek gorczyczny feniloetylowy



Cukier gronowy jest w roślinie dany obficie; kwas siarczany i potas należą do związków odżywnych mineralnych, które roślina pobiera z ziemi. Interesuje nas pochodzenie olejku gorczycznego. Olejki gorczyczne — estry kwasu izosiarkocyanowego — powstają z amin i siarczku węgla; np.



Czy feniloetylamina i siarczek węgla, z których w myśl podanej reakcji mógłby powstać w roślinie uważany tu olejek gorczyczny, są dane w roślinie? Nie poucza nas o tym analiza rukwi, ale z analiz innych produktów roślinnych (np. sporyszu) wiemy, że feniloetylamina powstaje — eksperymentalnie wykazano to w procesach gnilnych — z feniloalaminą zawartą w białku;



A zatem amina jest daną. Co do składnika siarkowego, to można się oprzeć na stwierdzeniu, że w grzybie jawańskim *Schizophyllum lobatum* występuje siarczek węgla CS_2 ; ta substancja powstaje widocznie w ustroju roślinnym, aczkolwiek nader rzadko pojawia się w stanie wolnym, a w ilościach uchwytnych analitycznie. Z tych wszystkich danych wynika, że substancjami macierzystymi olejku gorczycznego rukwiowego są feniloetylamina, powstała z feniloalaminą, oraz siarczek węgla, może z cystyny białkowej pochodzący.

Nietrudno dostrzec jak wiele pierwiastka hipotetycznego zawiera ten wywód, napozór tak prosty. A niepewność takich wniosków staje się tem większą, im prostsze, im mniej osobliwe ciała chemiczne rozważamy. Czujemy się dość pewnymi wniosków, w których łączymy genetycznie przez proste reakcje chemiczne grupy związków o osobliwszych, raczej złożonych i trwałych układach aromatycznych, więc pochodne aminokwasów aromatycznych, związki terpenowe i kamforowe, związki indolowe, alkaloidy tropanowe i wiele innych grup. Natomiast zawodzi nas ta metoda zupełnie wobec związków prostych, któ-

rych pochodzenie można wyobrazić sobie w bardzo rozmaity sposób. Kwas mleczny można sobie wyobrazić zarówno jako pochodną cukru gronowego, powstałą przez rozszczepienie cząsteczki cukru, jako też wyprowadzić go z alaniny przez wymianę reszty aminowej na wodorotlenową:

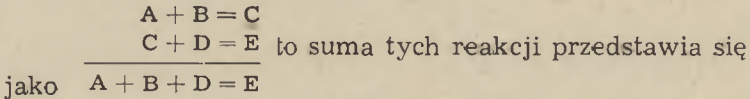


albo



Ze względu na wszechobecność w ustroju zarówno cukru jak alaniny trudno orzec, które przypuszczenie jest słuszne; kruszono dawniej kopje zarówno w obronie jednego jak i drugiego.

Druga trudność polega na tem, że ani przetwory pośrednie reakcji, ani też substancje macierzyste nie muszą się znajdować w tkankach lub wydzielinach w ilościach analitycznie uchwytne. Jeżeli mamy reakcje:



Jeżeli reakcja $C + D = E$ przebiega o wiele szybciej, niż reakcja $A + B = C$, wtedy nie można się spodziewać, ażeby w układzie, zawierającym A, B, D i E można było znaleźć substancję C . Tak np. w mięśni, pracującym normalnie, bez znużenia, przy doskonałym dopływie krwi odbywa się reakcja



więc spalanie cukru gronowego, ale to spalanie przebiega, jak wykażemy, w dwóch fazach: pierwszą stanowi rozkład cukru na kwas mleczny, drugą spalanie kwasu mlecznego. Jeżeli w normalnych warunkach kwas mleczny spala się niemal równie szybko, jak powstaje, to niema prawdopodobieństwa wykrycia tej substancji. Przy asymilacji węgla w roślinie zielonej nie zdołano wykryć przetworów pośrednich między CO_2 a cukrem: jedni autorowie dopatrują się tych przetworów w kwasach roślinnych (szczawiowym), znajdujących się w liściach asymilujących, inni w aldehydzie mrówczanym, którego nie można w liściach stwierdzić w sposób dość pewny. Tymczasem ani występowanie kwasów w liściach nie jest dowodem na ich rolę pośrednią w asymilacji, ani brak (analityczny) aldehydu mrówczanego nie przemawia przeciw temu, ażeby mu przypisać rolę głównego przetworu pierwszego asymilacji. Kwasy mogą się gromadzić dlatego, że są produktem ubocznym reakcji bezdrożnej, a aldehyd może właśnie dlatego nie występować w stanie wolnym, że substancja żywa zamienia z błyskawiczną szybkością na cukier już najmniejsze jego ilości. Tak niepewne i wieloznaczne mogą być wnioski, oparte na samym tylko wspólnym pojawianiu się substancji, lub braku takiej wspólności.

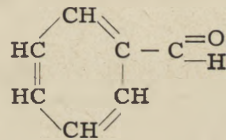
Wyższy stopień pewności daje dopiero eksperyment fizjologiczno-chemiczny. Góruje on nad „dedukcją chemiczną” podobnie jak eksperyment fizjologiczny zapanował nad „dedukcją anatomiczną”. Eksperyment chemiczno-fizjologiczny jest charakterystycznym dla fizjologii zwierząt i niższych roślin (fermentacji); na tej drodze stworzono naukę o pośredniej

przemianie materji, w której fizjologia zwierzęca i nauka o drobnoustrojach znacznie wyprzedziła fizjologję roślin wyższych.

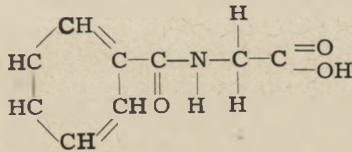
Eksperyment fizjologiczno-chemiczny polega na tem, że zmieniamy — jakościowo lub ilościowo — czynność i przetwory ustrojów; osiągamy to przez zmienianie warunków chemicznych czynności. Zmiany eksperymentalne polegają na podawaniu ściśle określonych surowców lub przetworów półgotowych, na odejmowaniu poszczególnych składników, które stanowią warunek czynności normalnej ustroju, wreszcie na zmienianiu stosunków ilościowych tych składników.

Badania eksperymentalne nad przemianą pośrednią wyjaśniły w sposób jasny i niedwuznaczny przebieg wielu ważnych reakcji fizjologicznych; wykazały, że można spostrzegać reakcje odbywające się w warsztacie substancji żywej nieinaczej, aniżeli reakcje odbywające się w pracowni lub w fabryce. Podamy przykład*):

Liebig odkrył w roku 1829 kwas hipurowy w moczu końskim i oznaczył (1839) jego skład, różny od kwasu będzwinowego. Budowę kwasu będzwinowego ($C_7H_6O_2$) określa wzór strukturalny:



kwas hipurowy jest związkem kwasu będzwinowego i glikokolu i odpowiada wzorowi:

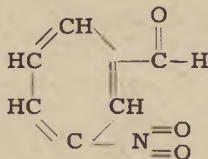


Ure z Glasgowu odkrył wkrótce potem, że kwas będzwinowy podawany choremu wydzieliał się jako kwas hipurowy w moczu. Wöhler dawał już przedtem kwas będzwinowy psom i sądził — jak się później okazało, błędnie —, że kwas ten przechodził do moczu w stanie niezmienionym; ale kiedy Liebig wykazał różnice między kwasem będzwinowym a hipurowym, wtedy Wöhler przypomniał sobie własności kwasu otrzymanego z moczu psa badanego i uznał, że był to prawdopodobnie kwas hipurowy. Zrozumiawszy doniosłość stwierdzenia faktu, że określona substancja może być w sposób tak jasny przerobiona w przemianie materji ustroju na inną, polecił powtórzenie dawnych doświadczeń; uczeń jego Keller wykonał je na sobie samym i stwierdził niewątpliwie, że ustrój ludzki może wielkie ilości kwasu będzwinowego przerobić na hipurowy.

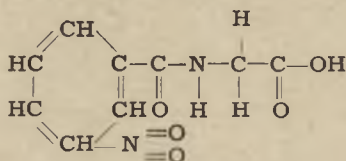
Pierwsze stwierdzenie syntezy w ciele zwierzęcem wywarło wielkie wrażenie i wywołało wiele doświadczeń, które w pełni potwierdziły pierwsze spostrzeżenia. Bertagnini posunął potem sprawę znacznie naprzód. Kwas będzwinowy, zawarty w wydalonym hipurowym mógł pocho-

*) Ob. Hopkins, The Dynamic Side of Biochemistry, Birmingham 1913, str. 4.

dzić z substancji żywej, z niezmiernego zbiorowiska chemicznego ustroju. Bertagnini napiętnował zatem kwas będzwinowy za pomocą grupy nitrowej; podając psu obcy ustrojowi kwas meta-nitro-będzwinowy



i izolując z moczu kwas meta-nitro-hipurowy

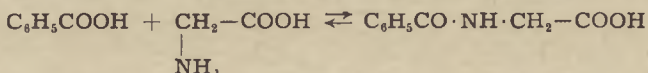


stwierdził ściśle, że to właśnie podany kwas złączył się z glikoholem. Stwierdzono to samo u bardzo licznych pochodnych kwasu będzwinowego; na kwasie salicylowym, meta-chloro-będzwinowym, toluilowym, anyżowym, mesytylenowym, feniloctowym; wszystkie łączyły się z glikokolem.

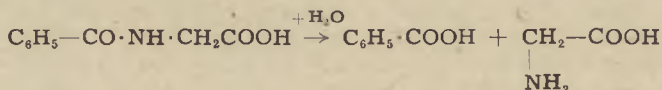
Ale nie tylko pochodne kwasu będzwinowego przechodziły w kwas hipurowy; także toluol $C_6H_5 - CH_3$ podany psom, zamienia się w kwas hipurowy; ustrój spala go na kwas będzwinowy; podobnie wiele innych związków, których budowa pozwala przewidzieć taką zmianę.

Doświadczenia Bertagniniego wykazały, że istnieją w ustroju urządzenia chemiczne, przeprowadzające na ciałach zbudowanych analogicznie określone reakcje: układ aromatyczny i grupa karboksylowa wywołują zawsze związanie grupy karboksylowej z glikolem i wydalenie związku powstałego przez nerki. Bunge i Schmieberg posunęli sprawę w roku 1876 na nowo. Przetaczali krew przez izolowaną nerkę psa i dodawali do krwi kwasu będzwinowego i glikokolu; powstał kwas hipurowy.

Schmieberg stwierdził później, że reakcja:



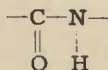
przebiega w obydwu kierunkach i że nerka zamienia także kwas hipurowy i wodę na kwas będzwinowy i glikokol, zależnie od stężeń tych trzech ciał we krwi. Zdołał otrzymać z nerki wyciąg wodny, który hydrolizował kwas hipurowy w myśl równania:



Później badał tę samą reakcję Mutch; wykazał, że jałowy wyciąg z nerki, wolny zupełnie od komórek, rozkłada w rozcieńczonym wodnym roztworze kwas hipurowy i że reakcja się zatrzymuje wtedy, kiedy 97%

tego ciała uległo rozkładowi; z mieszaniny kwasu będzwinowego i glikokolu zdołał pod działaniem tego wyciągu otrzymać drobną ilość kwasu hipurowego.

Reakcja, o której tu mowa okazała się jedną z najbardziej z ustroju rozpowszechnionych. Wiązanie:

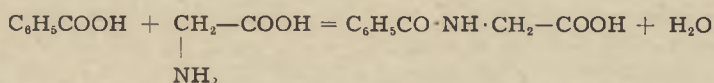


występuje w połączeniu aminokwasów z rozmaitymi kwasami, węglowym, octowym, wreszcie wiąże aminokwasy w białku.

Sprawa kwasu hipurowego nie jest jeszcze wyczerpana. Ustrój łączy obcy kwas z glikokolem, którego sam dostarcza. Skąd bierze się glikokol? Ile glikokolu może ustrój psa lub królika na ten cel dostarczyć? Glikokol jest częścią składową białka, można z góry obliczyć wiele tego ciała ustrój królika zawiera. Kiedy próbowano podawać królikom bardzo wielkie ilości kwasu będzwinowego, wtedy okazało się, że te zwierzęta mogą w niemal nieograniczonej ilości dostarczać glikokolu; nawet więcej, aniżeli tego ciała z góry zawierały. Widocznie ustrój królika może wytwarzać glikokol z innych związków azotowych.

Na przykładzie kwasu hipurowego widzimy zadania, jakie przedstawia zbadanie prostej reakcji chemicznej w ustroju: stwierdzenie reakcji i jej warunków; zlokalizowanie w pewnych narządach; eksperymentalne przeprowadzenie reakcji w organie odosobnionym; wykrycie zaczynu biorącego udział w reakcji i przeprowadzenia jej poza narządem bez udziału substancji żywej; zbadanie pochodzenia substancji, biorących udział w reakcji.

Jaka zachodzi różnica między reakcją



w ustroju lub narządzie żywym, a w roztworze zaczynów? Królik zamienia kwas będzwinowy kompletnie na hipurowy i wydziela tę substancję; natomiast w roztworze składników i zaczynu zaledwie 3% zamienia się na kwas hipurowy.

Ale wyobraźmy sobie urządzenie, które umożliwiłoby ciągle wydzielanie z mieszaniny reagującej nazewnątrż utworzonej drobnej ilości kwasu hipurowego; podług prawa działania mas całość kwasu będzwinowego i glikokolu musiałaby ulec z czasem przetworzeniu. W tym wypadku osobliwe działanie struktury żywej daje się wprowadzać do czynności wydzielniczej, do rozdzielenia i szczególne rozmieszczania substancji, które ślepe siły fizyczne mogą tylko mieszać.

Wybieranie, gromadzenie, rozmieszczanie i rozdzielenie wbrew siłom fizycznym; oto sprawa, do której sprowadzić zdołamy niejedną osobliwość chemiczną żywej substancji. Łatwo dojrzeć, jak ta sprawa w swej istocie bliską jest samorzutnej organizacji, tej głównej cechy substancji żywej.

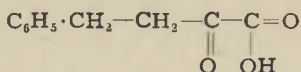
Organizacja substancji żywej nie jest statyczną, nie polega na równowadze martwej tego szczególnego układu, przeciwnie: jest ona dynamiczną, a utrzymanie jej wymaga nieustannej pracy wewnętrznej. Energji

na pokrycie tej pracy dostarcza przemiana materji, nieodłączna od życia. Przemiana materji musi mieć pewne minimum natężenia, jeżeli organizacja ma się utrzymać. Objasni to przykład: w żywej bulwie kartoflanej mamy skrobję i ferment diastatyczny obok wielkiej zawartości wody; układ ten poza substancją żywą jest nietrwały, gdyż skrobia zamienia się na maltozę. Atoli w bulwie skrobja i woda trwają, widocznie wewnętrzna praca komórek utrzymuje ferment i skrobję w takim rozmieszczeniu, że do reakcji nie dochodzi. Wystarczy jednak obniżyć temperaturę poniżej + 6°, ażeby skrobja w bulwie cukrzała; przemiana materji nie wystarcza podówczas, ażeby pokryć potrzebną pracę wewnętrzną proces zcukrzenia skrobji jest tu zaczątkiem procesów obumierania.

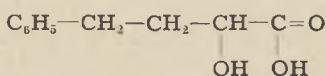
Podobnie ma się rzecz w komórce wątrobowej: glikogen trwa w niej obok zaczynu diastatycznego i tworzy się lub zużywa w miarę zapotrzebowania cukru w innych narządach. Jeżeli ustrój jest chory na cukrzycę, wtedy glikogen przestaje być trwałym i zamienia się zupełnie na cukier. Każda komórka wymaga pewnej pracy wewnętrznej, nawet wtedy, kiedy trwa w spoczynku; kiedy komórka gruczołowa nie wydziela, mięsień nie pracuje, leukocyt nie trawi, wątroba nie przetwarza.

Zużywanie tlenu jest w większości tkanek objawem tej pracy wewnętrznej i jeżeli do pracy samozachowania dodaje się jeszcze praca zewnętrzna, praca w służbie ustroju, wtedy zwiększone zużycie tlenu jest tej pracy najlepszym wskaźnikiem.

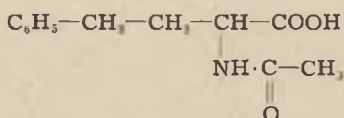
Zwróciliśmy uwagę na doświadczenia Bertagniniego, które stwierdziły przerobienie substancji zupełnie obcych ustrojowi, podług pewnego właściwego ustrojowi typu reakcji; one to upewniły o istotnym przebiegu tych reakcji w ustroju zwierzęcym. Taki rodzaj doświadczeń oddał w nauce o przemianie pośredniej bardzo cenne usługi. Narzędzia chemiczne ustroju działają na pewną część cząsteczki organicznej, niezależnie od jej reszty, jeżeli ta reszta nie jest wręcz zabójczą. Jeżeli zatem na ciałach z całą pewnością ustrojowi obcych stwierdzimy pewien rodzaj przemiany, to można wnioski co do spraw fizjologicznych oprzeć na następującej hipotezie: Jeżeli ciało fizjologicznie obce ulegają w ustroju pewnej reakcji, to tej reakcji odpowiada reakcja analogiczna, ale mająca fizjologiczną funkcję w ustroju. Gdyby doświadczenia Bertagniniego poprzedziły odkrycia Ure'a i Kellera, to możnaby z nich wynioskować, że przemiany kwasu meta-nitro-będźwinowego na meta-nitro-hipurowy odpowiada analogiczne przetworzenie kwasu będźwinowego, który jest składnikiem pokarmu roślinożerców, nie ulegającym w ustroju zwierzęcym dalszemu rozkładowi. Zadawano sobie np. pytanie, czy ustrój zwierzęcy może tworzyć azotowe składniki białka, aminokwasy, z materiału organicznego bezazotowego i amoniaku: pytanie pierwszorzędnej doniosłości. Niepodobna było rozstrzygnąć to pytanie przez doświadczenia, w których podaje się zwierzętom substancje bezazotowe i szuka np. w moczu powstałych z tych bezazotowych substancji aminokwasów zwykłych; te ciała i tak znajdują się w ustroju. K n o p podał psu substancję obcą, która w naturze wogóle nie występuje: kwas α -keto- γ -fenilomasłowy:



W moczu zwierzęcia, które spożyło 12 g tego związku, znaleziono 2·5 g ciała, powstałego przez redukcję ketonokwasu, mianowicie kwas α -hydroksy- γ -fenilomasłowy:

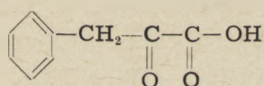


dużo kwasu hipurowego, powstałego przez spalanie łańcucha bocznego na kwas bédźwinowy i 0·44 g związanego z grupą acetylową aminokwasu, obcego ustrojowi, dlatego nieużytkowanego; ten aminokwas powstał z ketonokwasu i amoniaku:

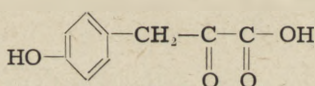


kwas α -acetylamino γ -fenilomasłowy.

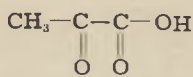
Doświadczenie to stanowi dowód, że ustrój zwierzęcy może syntetycznie tworzyć aminokwasy; a że wolny amoniak płynie z krwią żyły wrotnej do wątroby, to wykazali M. Nencki i J. Zaleski w jednej z najpiękniejszych prac, na których nauka nasza jest oparta. Wkrótce po odkryciu Knoopa wykazali Embden i Schmitz, że feniloalanina, tyrozyna i alanina powstają z odpowiadających im budową ketonokwasów i oksykwasów, przetwarzanych przez wątrobę izolowaną. Więc z kwasu



fenilopyrogronowego

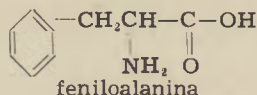


p-hydroksyfenilo
pyrogronowego

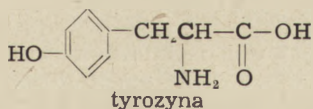


pyrogronowego

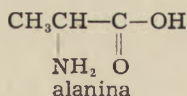
powstaje



feniloalanina



tyrozyna



alanina

Tak stwierdzono fizjologiczny odpowiednik reakcji wykrytej przez Knoopa.

Badanie zdolności chemicznych ustrojów przez poddawanie ich działaniom substancji obcych daje wyniki jasne nawet wtedy, jeżeli jest oparte na doświadczeniach, posługujących się tylko jakościową analizą. Jeżeli badania przemianę substancji fizjologicznych*), to tylko analizy ilościowe mogą być podstawą wniosków. Chciałbym podać jako przykład jeden z najpiękniejszych i najpewniejszych dowodów w sprawach przemiany pośred-

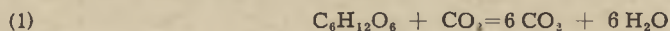
*) Tzn. takich, które w normalnej biorą udział przemianie.

niej: dowód L ü t h j e g o na podstawie cukru z białka. Pies chudy, pozbawiony trzustki, chory na cukrzycę, tracił w moczu cały cukier, który z pokarmem do ustroju się dostawał, a musiał podobnie tracić i cukier, któryby w ustroju powstał. Karmiono go przez 25 dni wyłącznie białkiem i określano w tym okresie ilość cukru wydaloną w moczu; pies ważący 5.8 kg wydalil w tym czasie 1.176 kg cukru gronowego. Gdyby tkanki psa były bardzo bogate w glikogen, czego u pozbawionego trzustki zwierzęcia niepodobna przypuścić, to mogłyby zawierać najwyżej 0.25 kg cukru. Przeszło 0.9 kg musiało powstać z białka.

Dowód L ü t h j e g o jest zarazem przykładem na użytkowanie dla celów fizjologii chemicznej doświadczeń patologii doświadczalnej, lub też obserwacji chorych.

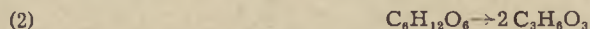
Dalszym stopniem postępu w zrozumieniu spraw chemicznych w substancji żywej, stopniem wyższym niż zbadanie jej zdolności chemicznych, jest ilościowe ujęcie reakcyj chemicznych, odbywających się rzeczywiście w tkance i określenie ich w związku z czynnością tkanki. Dla większości tkanek i komórek można ująć tylko przemianę gazową z tego punktu widzenia; jedynie w sprawy chemiczne mięśnia udało się wnikać głębiej.

C h a u v e a u i K a u f m a n n określali ilość cukru i tlenu, dopływającą z krwią tętniczą a odpływającą z krwią żylną do żwacza lub mięśnia, wznoszącego wargę górną konia spokojnie żującego; ze swych analiz obliczyli stosunek zużycia tlenu do pracy wykonanej; z tych samych analiz obliczył później B a r c r o f t, że znikło tyle tlenu, wiele potrzeba na spalenie jednocześnie zużytego cukru.

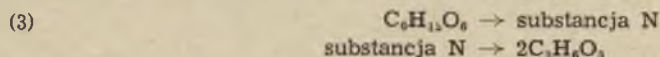


Doświadczenie stwierdziło zatem, że w mięśni pracującym przy normalnym dopływie krwi odbywa się spalenie cukru na dwutlenek węgla i wodę.

F l e t c h e r i H o p k i n s stwierdzili później, że kwas mleczny powstaje i gromadzi się w mięśniach żabich izolowanych i trzymany w wodrze lub azocie; jeżeli mięśnie pracują — bez dostępu tlenu — to kwas mleczny gromadzi się szybciej, dochodząc do zawartości wynoszącej 0,15% wagi mięśni; ta sama zawartość powstaje nagle, jeżeli mięśnie posiekać. P a r n a s i W a g n e r stwierdzili, że drażnienie beztlenowe mięśnia wywołuje — współcześnie z powstaniem kwasu — znikanie zapasów węglowodanowych mięśnia — i to w ilościach, odpowiadających ilości kwasu powstałego: stąd można proces chemiczny, odbywający się w pracującym, pozbawionym tlenu mięśni, ująć we wzór:



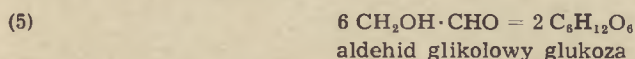
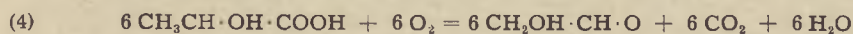
Każdy mięsień posiekano i określono zaraz ubytek węglowodanów, okazało się, że powstawanie kwasu nie jest w tych warunkach spóczesne z rozkładem węglowodanów, lecz wyprzedza rozkład tych substancyj. Kwas musiał zatem powstać z substancyj, które same powstają z węglowodanów:



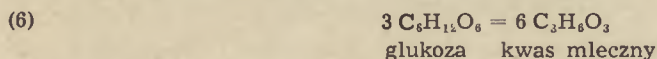
Substancję pośrednią N uważają za związek cukrowo-fosforowy; związki takie odgrywają prawdopodobnie w rozkładzie fizjologicznym cukrów ogólnie doniosłą rolę.

Fletcher i Hopkins stwierdzili także, że w atmosferze tlenowej nie gromadzi się w mięśniach kwas mleczny, a jeśli się nagromadził w atmosferze beztlenowej, to w tlenie znika: tylko w tym ostatnim procesie wywiązuje się CO_2 (Fletcher) i zużywa tlen (Parnas); Hill zaś wykazał w mistrzowskich eksperymentach, że podczas skurczu mięśniowego wywiązuje się tyle ciepła ile po skurczu; część ciepła poskurczowa nie wywiązuje się, jeśli mięsień znajduje się w atmosferze beztlenowej. Te fakty ukazały w pełni znaczenie fazy wypoczynkowej w procesie mięśniowym: sam skurcz okazał się sprawą beztlenową, związaną z wytworzeniem kwasu mlecznego, wypoczynek zaś właściwie spalaniem, w którym znika kwas mleczny i tlen, powstaje CO_2 i powraca zdolność wykonywania skurczów.

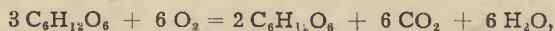
W sprawie zagadnienia, jakim przemianom ulega podczas spalań wypoczynkowych kwas mleczny, panowały różne zdania. Hill, Hooper, Embden byli zdania, że kwas mleczny zamienia się napowrót na ową pośrednią substancję N, o której wspominaliśmy, a energii na ten proces powrotny ma dostarczyć spalanie nie kwasu mlecznego, lecz węglowodanów. Parnas zaś (1914) utrzymywał, że proces wypoczynkowy polega na spalaniu kwasu mlecznego na CO_2 i H_2O i opierał się na doświadczeniach, w których mierzył stosunek tlenu zużytego do kwasu, który znikł, i na tem, że podczas wypoczynku w tlenie mięśni znrzniętych niema ubytku węglowodanów. Meyerhoff, który początkowo przyłączył się do tej ostatniej interpretacji (1918), wykazał ostatnio, na podstawie wysoce udoskonalonych eksperymentów, że prawda leży między powyższymi dwoma tłumaczeniami. Podczas wypoczynku spala się CO_2 i H_2O tylko 1/3 część kwasu mlecznego, który powstał w skurczu; 2/3 zamieniają się napowrót na węglowodany, z których powstały w skurczu beztlenowym. Jest to prawdopodobnie proces taki, jaki Parnas i Baer przewidywali w roku 1912, zanim znane jeszcze były dane ilościowe co do spraw chemicznych wypoczynkowych: utlenienie kwasu mlecznego — poprzez kwas glicerynowy i oksypyrogro-nowy — na aldehyd glikolowy i resyntezę cukru z tego aldehydu:



Jeśli uwzględnić jeszcze proces skurczowy



i zesumować reakcje 2 + 4 + 5, to otrzymuje się w rezultacie ostatecznym:



czyli



w ten sposób ze sumy procesów, na które zanalizowano sprawę chemiczną w mięśni, wynika ta zmiana, którą sumarycznie stwierdzili Chauveau i Kaufmann.

Parnas określił ciepło wywiązane w mięśni wypoczywającym. Przemiana energii, tj. energia wyzwolona przez tę reakcję, jest znana, jest to ciepło spalania kwasu mlecznego lub cukru; ale w kalorymetrze ukazała się tylko część tej ilości ciepła, którą utlenianie musiało wyzwolić; druga część musiała się w tkance utaić. To ciepło utajone, to źródło energii następnych skurczów mięśnia wypoczętego. Meyerhoff wykazał wreszcie, że energia utajona wyczynku zużywa się w części — ściśle określonej — na resyntezę węglowodanu w mięśni, w drugiej części na przywrócenie stanu fizyczno-chemicznego tkanki mięśniowej, umożliwiającej wywiązanie nowych skurczów.

Ten przykład analizy chemicznej funkcji tkankowej — analizy bezsprzecznie tylko zupełnie z gruba dającej nam obraz procesów rzeczywistych — ukazuje znowu drogi, na jakich idzie fizjologia chemiczna. W tym wypadku badano przemianę materji rodzimą tkanki, ale badano ją w warunkach sztucznych, świadomie zmienianych; w ten sposób zdołano otrzymać kilka odpowiedzi na zapytania dotyczące stadiów pośrednich przemiany. Kładę szczególny nacisk na warunki sztuczne. Zjawisko fizjologiczne, stwierdzone przez Chauveau'a i Kaufmanna w warunkach naturalnych zostało zanalizowane przez eksperymentu nad zachowaniem się tkanki w warunkach sztucznych.

Słusznie powiedział zmarły niedawno, młody badacz angielski R. G. Mines, że „warunki normalne są dla nas na razie warunkami nieznanymi, nieokreślonymi”. Tak np. skład krwi i limfy, więc normalnego środowiska komórkowego, jest znany bardzo z gruba i niedokładnie. Niektórzy biologowie żądają, ażeby tkanka badana pozostawała w „warunkach możliwie normalnych”. Tkanka musi w doświadczeniu pozostawać tylko w warunkach możliwie ściśle określonych, ale te warunki tylko wtedy posuną analizę zjawiska, jeżeli będą uproszczone w porównaniu z naturalnymi.

Klasycznym przykładem są doświadczenia Sidney'ego Ringera nad działaniem prostych soli (NaCl , KCl , CaCl_2 , MgCl_2) na mięśnie, serce i nerwy. Mięśnie i nerwy, zarówno jak narząd mięśniowo-nerwowy, serce, żyją w środowisku bardzo złożonym; znamy ich znaki życia i umiemy je sprawdzać i analizować. Badając te znaki życia u tkanek przeżywających w środowiskach sztucznie coraz bardziej uproszczonych, stwierdzamy, które składniki mają istotnie udział w tych sprawach i znaczenie dla funkcji danych tkanek. Jeżeli serce żaby bije w roztworze NaCl , nie zawierającym zupełnie jonów Ca^{++} , wtedy tętno staje się coraz słabszem i wreszcie serce ustaje w rozkurczu. Dodanie do płynu soli CaCl_2 przywołuje serce do życia i czynności. Podczas okresu słabego tętna daje się zauważyć ważna zmiana: nie można wtedy przez drażnienie nerwu błędnego wywołać ustania serca; nerwowo-mięsna komórka jest w braku wapnia nieczynna; działanie nerwu błędnego powraca do normy za dodaniem drobnej ilości chlorku wapniowego lub strontowego. Nadmierne stężenie wapnia wywołuje ustanie serca skurczowe; sole strontowe działają tak samo. Obecność

Ca⁺⁺ albo podobnego doń Sr⁺⁺ jest jednym z warunków chemicznych, koniecznych dla normalnej czynności serca.

Nie będziemy przeprowadzali całej analizy działania jonu wapniowego na tkanki; ten przykład wystarczy, ażeby zaznaczyć linje wytyczne dziedziny fizjologii chemicznej, która zajmujący się tymi warunkami życia, które są czynnikami stanu tkanki, czynnikami organizacji substancji żywej.

W tych pracach występuje czynnik metodyczny, na którego znaczenie z naciskiem zwrócimy uwagę: charakteryzuje on poniekąd nowoczesną fizjologję chemiczną. Zmiany wywołane skutkiem pewnej zmiany eksperymentalnej w „znakach życia”, więc w oddziaływaniu narządu, powinny być odwracalne, jeżeli wynik doświadczenia ma być jasny. W układach tak złożonych, jak są ustroje żywe, łączy się czynnik z czynnikiem, zmiana wywołuje wtórne zmiany, rozstrój zespołu prowadzimy do ustalania nieodwracalnego, do śmierci. Jeżeli np. ustanie funkcji skutkiem odjęcia jednego składnika odżywczego daje się natychmiast naprawić przez doprowadzenie tego składnika, wtedy mamy dowód, że brak tego czynnika wywołał ustanie, ale nie zniszczył ustroju: wynik doświadczenia jest jasny. Bez bardzo dokładnego baczenia na odwracalność zmian wywołanych doświadczalnie można łatwo wziąć za zjawisko życiowe to, co jest obumieraniem lub zmianą pośmiertną: odnosi się to szczególnie do pomiarów i analiz procesów w tkankach przeżywających.

Przykłady podane wystarczą, ażeby zaznaczyć zakres i zadania fizjologii chemicznej: zupełna analiza kolei, którą przechodzi w obrębie ustroju i narządów każda z tych wielu substancyj, z których składa się ustrój; określenie udziału — udziału materialnego substancyj i energetycznego przemian — w funkcjach ustroju i narządów. Weźmy jako przykład białko; będziemy śledzić jego koleje w przewodzie pokarmowym, badając rozpuszczanie w żołądku, czynniki, które to rozpuszczanie sprawiają i zmiany chemiczne, wywołane przez te czynniki: rozbitcie cząsteczki białka w jelicie, dalsze losy jego składników, wchłonięcie w ciśnienie jelita, stan składników we krwi wrotnej; przemiany w wątrobie, przetworzenie danego składu aminokwasów na inny; ponowną syntezę białka ze składników, które we krwi krążą; spalenie części, względnie przetworzenie na ciała inne: więc na cukier, lub na kwas dwuoctowy; rozkład na amoniak i przemianę amoniaku na mocznik; rozkład cukru w mięśniach; wydzielanie mocznika w mocz; zmiany gnilne w kiszce, wchłonięcie przetworów tych przemian i zmiany, którym każdy z nich ulega, zanim jako nowa a niewinna substancja opuści ustrój; zależność przemiany białkowej od czynników wewnętrznych i zewnętrznych, pracy, temperatury, gorączki — każdy punkt wymieniony jest ośrodkiem niezliczonych zagadnień i analizy, uwzględniającej przemiany chemiczne, ich lokalizację anatomiczno-histologiczną i udział w funkcjach zespołu komórkowego, tkankowego, narządów, wreszcie całego ustroju.

I oto jest dzisiaj jedyna droga, która prowadzi do poznawania substancji żywej: może ze szczegółowego poznania czynności dowiemy się czegoś o jej istocie.

*

Na zakończenie kilka słów, przeznaczonych dla tych czytelników, którzy pragną zaznajomić się głębiej z chemją fizjologiczną. Nauka ta może obecnie tylko dla nielicznych stać się zawodem; ale dla wielu może być w zawodach innych znakomitą podporą: chemja fizjologiczna ma wielkie i ważne zastosowanie w medycynie wewnętrznej, pediatrii, higijenie i bakterjologii, chemji przemysłu fermentacyjnego, mleczarstwie, hodowli bydła, chemji rolniczej, fizjologii roślin, w nauce o środkach spożywczych.

W szczególności pragnę zwrócić uwagę na to, że medycyna wewnętrzna oddawna połączyła się ściśle z fizjologją chemiczną zwierzęcą i że w ostatnich dziesięcioleciach wielka część prac fizjologiczno-chemicznych, między temi pracami pierwszorzędnej doniosłości, wychodzi z pracowni klinik i większych szpitali wewnętrznych i dziecięcych. Liczne rzesze lekarzy, bądź to asystentów i pracowników klinicznych, bądź też lekarzy praktykujących, poświęcają wolne chwile badaniom z dziedziny fizjologii chemicznej, pogłębiając przez to swą wiedzę fachową i służąc nauce teoretycznej*).

Podręcznik chemji fizjologicznej, jak i fizjologii, może dać tylko pobieżną orientację, wprowadzić czytelnika w zagadnienia nauki i stan obecny wiadomości. Jeżeli czytelnik zaznajomi się z chemją fizjologiczną na tym stopniu, na jakim wyłożoną jest np. w tym podręczniku, a pragnie naukę tę poznać głębiej i pracować w niej, to nie radzimy mu dążyć do tego przez lekturę obszerniejszych dzieł, lecz przez przygotowanie się do pracy doświadczalnej i przez zajęcie się określonymi zagadnieniami nauki. Gruntowne obznajomienie się z chemją jest nieodzowne; powiedziałem już raz, że to, czego się student chemji w ciągu studjum czteroletniego nauczy, jest raczej niedostatecznym, niż nadmiernym przygotowaniem do pracy fizjologiczno-chemicznej. Niedostatecznym jest przygotowanie chemiczne wielu biologów, fizjologów i lekarzy, którzy się zajmują badaniami fizjologiczno-chemicznymi, stąd mała wartość wielu prac z tej dziedziny. Słowa Hopkinsa: „rzadko spotkać w tym kraju zawodowego biologa — nawet między temi, którzy nie są obciążeni ani przez lata, ani przez tradycję — któryby podjął się trudu przyswojenia sobie takiego wykształcenia w chemji organicznej, ażeby móc porządnie zrozumieć któryś z ważnych faktów przemiany materji, wyrażony we wzorach chemji strukturalnej”, wypowiedziane w roku 1913 pod adresem biologów angielskich, odnoszą się słusznie i do biologów w krajach innych.**)

*) Na posiedzeniu sekcji fizjologicznej Zjazdu angielskich przyrodników w roku 1913 (British Association for the Advancement of Science) powiedział prezydent sekcji, F. G. Hopkins, że zapotrzebowanie na wykształconych fachowo biochemików w Anglii i w jej kolonjach wzrasta gwałtownie i przewyższa już podaż.

**) „Na zadania, którym doświadczeni i sprawny chemik schodzi z drogi, porywają się z naiwną otuchą adepci wiedzy lekarskiej, którzy nie rozporządzają nawet najskromniejszymi wiadomościami, nie mówię już o wprawie i zręczności chemicznej”. Słowa W. Hüfnera, cytowane przez Marcelego Nenckiego w liście do Th. Kochera (1890), Opera omnia, tom II, str. 163. Szyderstwo Liebiga „Wyjaśnienia te muszą przebrzmieć bezowocnie i pozostać zupełnie bezużytecznymi, gdyż nawet dla przywódców fizjologii pojęcia kwasu węglowego, amoniaku, kwasów i zasad są dźwiękami bez znaczenia, słowami bez sensu, wyrazami mowy nieznannej, niezdolnej wywołać myśli, albo skojarzenia pojęć”, nie jest już, na szczęście, aktualne. Natomiast zawsze jeszcze aktualne są słowa Claude Bernarda „Pewność siebie, właściwa nieukom i ufność, z jaką niektóre osoby uważają, że bez odpowiedniego wykształcenia

Łatwiej dojrzałemu człowiekowi zrozumieć i ująć nowe zagadnienia, aniżeli nauczyć się nowej techniki; dlatego lepiej w młodych latach nauczyć się metod. Trzeba się zaznajomić z metodami analizy chemicznej, z teorią i z praktyką chemii organicznej, a potem przerobić kurs praktycznej chemii lekarskiej. Można w ciągu półrocza kilka prostych analiz wagowych, gruntowny kurs analizy miareczkowej i gazowej z zastosowaniami do analiz fizjologiczno-lekarskich; potem obznajomić się z reakcjami ciał organicznych*) i z preparatyką organiczną**), wreszcie sporządzić szereg preparatów ważnych składników ustroju**), oto kurs praktyczny***), który można przerobić w ciągu roku w zakresie szerszym lub ciaśniejszym, zależnie od zdolności, szybkości pracy i od czasu wolnego; równie ważne jest zaznajomienie się z chemją fizyczną, przerobienie najważniejszych zadań (pomiarów) i analiz przy pomocy sposobów fizyczno-chemicznych. Każda pracownia fizjologiczno-chemiczna powinna być dla takich kursów urządzoną, ale można się tych rzeczy nauczyć także w pracowni analitycznej, organicznej, fizyczno-chemicznej i fizycznej.

Niemniej ważne jest przygotowanie w metodach doświadczeń fizjologicznych. Obchodzenie się ze zwierzętami doświadczalnymi, metodyka doświadczeń, operacji, wiwisekcji, grafiki fizjologicznej: to wszystko jest niezmiernie ważne dla pracownika, który chce być samodzielnym w badaniach chemiczno-fizjologicznych. Te rzeczy nie są trudne dla lekarza, ale trzeba się ich nauczyć; a nie można się ich nauczyć z książek, lecz tylko w pracowni fizjologicznej, albo farmakologicznej.

Z takim przygotowaniem można przystąpić do pracy fizjologiczno-chemicznej. Radzimy każdemu, który tylko czuje w sobie siły i iskrę bożą, ażeby nie zwlekał z przystąpieniem do pracy samodzielnej i produktywnej. Każdy z nas zna naprawdę tylko ten dział, w którym pracował doświadczalnie; poglądy w tym dziele nabyte rozświetlają badaczowi większe dziedziny, zaś doświadczenia i krytycyzmu musi nabyć każdy z osobna**).

są zdolne do pracowania we fizjologii, wprowadza w naszą naukę moc marnych doświadczeń, a te stają się posiewem nieskończonych dyskusyj". *Physiologie experimentale*, t. I, str. 19 (1855).

*) Parnar, Wskazówki i objaśnienia do ćwiczeń z chemii lekarskiej, Warszawa, 1919.

*) Np. podług Abderhaldena, *Physiologisches Praktikum*, Berlin 1912.

**) Np. podług Salkowskiego.

***) Ob. Marchlewski, *Podręcznik do badań fizjologiczno-chem.*; t. I, Warszawa 1916.

**) „Tę konieczność rozumieją ci, którzy śledzą rozwój fizjologii w jego codziennym przebiegu. Teren jest już zawałony przez moc badań, które wykazują często więcej gorliwości aniżeli prawdziwego zrozumienia metody eksperymentalnej. Trzeba, ażeby krytyka eksperymentalna zajęła się tymi niepowiązanymi materiałami i doprowadziła je do warunków doświadczenia fizjologicznego.

Badania nad zjawiskami życia są połączone z wielkimi trudnościami. Fizjolog musi ocenić wszystkie warunki doświadczenia, ażeby wiedzieć, czy spełnia je wszystkie i żeby rozróżnić te, które od jednego doświadczenia do drugiego uległy zmianie.

Jeżeli warunki doświadczalne są identyczne, wtedy w fizjologii, jak w fizyce i w chemii, wynik jest jednoznaczny: jeśli wynik jest różny, to zmieniło się coś w warunkach. Ścisłość bynajmniej nie jest mniejszą w zjawiskach życia niż w zjawiskach świata martwego; tylko warunki eksperymentalne są liczniejsze, czulsze, trudniejsze do poznania i utrzymania. Nie wchodzi w grę „życie” lub wpływ

Nie będziemy wymieniali pracowni, w których z korzyścią pracować można*), ale ze względu na wysoki duch naukowy, panujący tam, polecamy każdemu, który się fizjologii chemicznej poświęcić pragnie a ma możliwość wyjazdu za granicę ażeby spędził jakiś czas w zakładzie fizjologicznym i fizjologiczno-chemicznym w Cambridge albo w University College w Londynie. Należy ostrzec nieświadomych przed garnięciem się do uczonych — a są między nimi badacze pierwszorzędni — którzy zużytkowują tylko pracę ręczną współpracownika do swoich celów, nie udzielając mu wzajem nic; często w tych warunkach pracownik nie wie niemal sam, co robi, i po jakimś czasie opuszcza słynną pracownię bez żadnych korzyści, wykonawszy ewentualnie setki tej samej powszedniej analizy, jako współautor przyczynka naukowego, realizującego drobną część myśli mistrza.

Również niewłaściwym byłby wybór pracowni podług okazałości i „nowoczesności” urządzeń technicznych. Pracownie wyposażone we wszelkie udogodnienia dla pracowników, zaopatrzone w liczne i doskonałe instrumenta i obfite zapasy chemikaliów, ułatwiają oczywiście pracę; ale to wszystko przedstawia czynnik uboczny w porównaniu z duchem, który w pracowni panuje. Znamy — także i w Polsce — zakłady, zaopatrzone we wszystko, czego fabryki urządzeń laboratoryjnych dostarczyć mogą, a przytem najzupełniej jałowe.

„Nie potrzeba muzeów... dla nauki, lecz p r a c o w n i; wartości takiego zakładu nie należy oceniać według ceny zakupna przyrządów nagromadzonych, lecz według pracy dydaktycznej i naukowej, którą się tam wykonywa.” „Jeżeli mowa o właściwych pracowniach do badań naukowych, to nie ulega żadnej wątpliwości, że najważniejszym składnikiem dobrej pracowni naukowej jest: d o b r y k i e r o w n i k! Historia nauki dowodzi, że najważniejsze prace często wychodziły z pracowni nader skromnie wyposażonych. Q u i n c k e w Heildelbergu wykonywał najciekawsze badania przy pomocy przyrządów skonstruowanych ze szkła, korka i laku. L o r d R a l e i g h pokazywał nieraz, jak doniosłe, precyzyjne rezultaty otrzymać można przy pomocy środków bardzo prostych” (S m o l u c h o w s k i).**) Warto zobaczyć skromne pokoiki, w których dokonał swego niezrównanego dzieła Claude B e r n a r d.

Z pracą doświadczalną musi iść w parze obznajomienie się z literaturą oryginalną przedmiotu, to jest poznanie materiału doświadczalnego i myśli tych pracowników, którzy się przed nami przedmiotem zajmowali. Czyta-

jakiegoś czynnika kapryśnego: sama złożoność zjawisk utrudnia ich ujęcie. Będzie można wyjaśnić zasady Badań doświadczalnych, zastosowanych do istot żywych, tylko przez długie studia i uporczywą pracę. Ażeby przezwyciężyć trudności i poznać warunki zjawiska fizjologicznego, na to trzeba mieć poza sobą długie szukanie po omacku tysiące błędów, trzeba się postarzyć w doświadczeniu eksperymentalnym”. Claude Bernard, *Leçons sur les phénomènes de la vie*, tom I, str. 19

*) Ponieważ wartość pracowni zależy od kierownika i pracowników, a ci — zwłaszcza w dniach obecnych — nader często się zmieniają.

***) Tym słowom wielkiego uczonego polskiego, pisanym w r. 1916, wtóruje w r. 1919 głos fizjologa amerykańskiego Grahama L u s k a: „Pieniądze same nie wzbudzą ducha twórczego; raczej go zepsują. Najlepsze prace nie powstają bynajmniej w zakładach najbogaciej wyposażonych, ani w tych pracowniach, które mają największą liczbę asystentów i posługaczy. Zależy jedynie na duchu”.

jąc prace dawniejsze należy zwracać uwagę na opisy doświadczeń, analizy, protokoły, dane liczbowe, a nie tylko na wnioski i teorie autorów*). Jeżeli ktoś uważnie studjuje doświadczenia obce i zastanawia się nad nimi krytycznie na zasadzie własnych poglądów podstawowych, to myśli i tematów do pracy mu nigdy nie zabraknie. Przed zbyt obszernymi a bez określonego celu studjami w literaturze, przed powtarzaniem i analizowaniem prac bez wniesienia nowej myśli, przed wałkowaniem rzeczy błahych również ostrzegamy adepta naszej nauki: w chemii fizjologicznej i w patologii chemicznej zagadnienia najważniejsze bez końca czekają na opracowanie.

„I pojedynczy badacz, przepracowawszy całe życie, nie może powtórzyć słów Seneki: „si quis totam diem currens pervenit ad vesperam, satis est”, gdyż widzi, jak jedne pokolenia po drugich dalej kroczyć i pracować muszą, a końca badań nie ujrzą. Zato wiedza nasza będzie coraz obszerniejsza i głębsza, a korzyść praktyczna, mianowicie w medycynie, coraz większa” (Marceli N e n c k i).

*) Lektura pracy wielkich mistrzów jest zawsze cenną, także ze względu na poznanie ich toku myśli. Lektura prac podrzędnych natomiast jest dla doświadczonego i krytycznego czytelnika najczęściej przykrą i niesmaczną, dla początkującego wręcz szkodliwą.

gu reakcji laboratoryjnych. Pracę nad tym zagadnieniem podejmuje od samego początku, od pierwszej ogłoszonej z O. Schultzenem pracy i od swej dysertacji doktorskiej. W pracowitym życiu Nenckiego, w zdumiewającej liczbie prac, wśród badań czysto chemicznych, farmakologicznych, bakteriologicznych, technicznych powraca coraz to do głównego jakoby zainteresowania: początek, w dysertacji z r. 1870, to zagadnienie źródeł moczownika; koniec, to wspaniałe — od r. 1895 — prace chemiczno-fizjologiczne nad powstawaniem i znikaniem amoniaku, prace dziś jeszcze zupełnie aktualne. W tych pracach Nenckiego widzimy jasno linie badań przemiany narządowej i tkankowej, które stanowią główne zainteresowanie doby dzisiejszej. W obydwu wspomnianych przykładach, barwika krwi i przemian końcowych związków azotowych, podwaliny badań były przez Nenckiego w roku 1902 założone, drogi dalsze wskazane.

Pozycja chemii fizjologicznej w systemie nauk chemicznych i biologicznych jest taka, że każde zagadnienie chemii fizjologicznej jest zagadnieniem chemii ogólnej, fizyki, chemii fizycznej i organicznej; a zagadnieniem chemii fizjologicznej może być każde zagadnienie fizjologii i anatomii, histologii i cytologii, nauk lekarskich w najszerszym tego słowa znaczeniu, nauki o odżywianiu i środkach spożywczych. Celem chemii fizjologicznej jest:

(A) poznanie części składowych ustroju, składu ustroju — pod względem jakościowym i ilościowym; to co trafnie określono jako *anatomię chemiczną*; a następnie

(B) to, co analogicznie określono, jako *fizjologię chemiczną*. Fizjologia chemiczna, to rozpoznanie przemian w ustroju, w narządach, tkankach, komórkach i płynach; rozłożenie ich na przemiany prostsze i — o ile do tego dotrzeć zdołamy — na zupełnie proste reakcje chemiczne; złożenie z tych reakcji prostych ciągów, reakcji grupowych; skoordynowanie reakcji prostych i ciągów ze zjawiskami fizjologicznymi. W jakim kierunku poszła i jak wypełniła te zadania chemia fizjologiczna w tym okresie, który rozpoczął się po śmierci Nenckiego, co w tym okresie osiągnęliśmy? Pracowaliśmy w tym czasie w warunkach coraz to doskonalszych: chemia organiczna wyjaśniła nam budowę tak licznych składników ustrojowych, bądź już przedtem znanych, bądź też przez pracę fizjologiczną wytropionych i oddanych w ręce chemikom, do zbadania trudnej ich budowy lepiej przygotowanych.

Wielcy chemicy doby Nenckiego — v. Baeyer, Emil Fischer, Kiliansi, St. Kostanecki, Wallach, — stworzyli fundamenty dla zrozumienia najważniejszych części składowych ustrojowych, cukrowców, peptydów i białek, puryn, terpenów, barwików. Wielcy chemicy wieku XX i ich uczniowie rozwinęli na tych podstawach dzisiejszą chemię składników organicznych ustroju: wyjaśnienia budowy i syntezy tych ciał, których jesteśmy dziś świadkami, przewyższają śmiałe marzenia pokolenia, do którego należeli Tamci. Przypomnijmy wyjaśnienie, w ostatnich dziesięcioleciach, chemii związków czwórpirolowych, heminowych i bilirubinoidów; pogłębienie chemii cukrowców; wyjaśnienie grupy pochodnych cholanowych-steroli, hormonów płciowych, witaminów D, kwasów cholowych; odkrycie i wyjaśnienie tyłu karotenoidów, flawin i aneuryny, kwasu askorbinowego, związków grupy adeninowej. *Materia physiologica* jest dziś bez porównania obfitsza, aniżeli w okresie poprzednim,

i ze względu na budowę chemiczną składników jaśniejsza. Usiłowania chemii organicznej sięgnęły daleko w dziedzinę wielkocząsteczkowców różnych grup, pozwoliła nam zrozumieć ich postaci, od których własności fizyczne (pęcznienie, rozpuszczalność, lekkość) zależą u ciał wielkocząsteczkowych w stopniu wyższym, aniżeli u ciał drobnocząsteczkowych.

Ale cóż się okazało? W miarę jak wyjaśniły się budowy tak licznych i coraz liczniejszych składników ustrojowych, składników budulcowych, hormonów, koenzymów, nawet enzymów, występowało coraz jaśniej to, że te liczne i różnorodne w swoich funkcjach i działaniach substancje są zbudowane według nielicznych planów zasadniczych. Zdaje mi się, że nie ma biochemika, na którym by ustalanie się tego rysu nie robiło zawsze wielkiego wrażenia, ilekroć się okazywało, że znowu któryś z ważnych związków trzeba było zaliczyć do znanej już grupy. Do ciał, zbudowanych według typu nukleotydowego należały w roku 1920, tylko kwas inozynowy i gwanilowy, jako nukleotydy wolne, i nukleotydy purynowe i pirymidynowe, zawarte w kwasach nukleinowych. Do grupy tej należą dziś kwas adenozy-nojednofosforowy, dwufosforowy i trójfosforowy, koenzymy glikogenolizy mięśniowej, glikolizy drożdżowej i wielu innych procesów; dwunukleotyd adenilowo-pirydynowy—kozymaza—koenzym oksydoredukcji i odwodorowań o znaczeniu zupełnie ogólnym w świecie zwierzęcym i drobnoustrojowym; według podobnego planu zbudowany jest również kwas laktoflawinofosforowy, grupa czynna żółtego fermentu oddechowego i pochodna pośrednia między laktoflawiną (witaminą B₂) a żółtym fermentem. Sterole, kwasy żółciowe, witaminy D, hormony płciowe jajnika i ciała żółtego, hormony męskie jądrowe, ciała czynne kory nadnercza, aglukony glikozydów narządnicowych, wszystkie te ciała o tak różnorodnych działaniach okazały się pochodnymi perhidro-cyklopentano-fenantrenu, w których łańcuch boczny na węglu Nr. 17, rozmieszczenie wodorotlenów na innych węglach rdzeniowych, grupy ketonowe w rdzeniu lub łańcuchu bocznym, epimerie na węglu Nr. 3 i różnice cis-trans na pograniczu rdzeni I i II decydują o charakterze i funkcji fizjologicznej danej pochodnej. Przypomnijmy następnie różnorodność pochodnych czwórpirolowych, zarówno typu porfirowego jak i bilirubinoideowego: i ujawniony niedawno przykład różnorodności funkcji przy identycznej grupie czynnej.

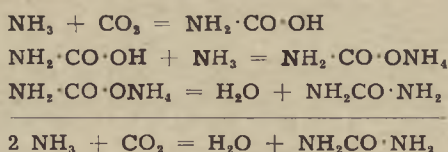
Methemoglobina, katalaza i peroksydaza są związkami o tej samej grupie hemowej, połączonej z różnymi globinami; a methemoglobina różni się od hemoglobiny tylko tym, że żelazo jest w niej trójwartościowe, w hemoglobinie niezmiennie dwuwartościowe. Niechaj te przykłady wystarczą. Można by ich wyliczyć znacznie więcej.

Wnioski o mechanizmie przemian, oparte na dedukcji chemicznej, i pozornie zupełnie uzasadnione, okazywały się błędne po bliższym poznaniu ciał uczestniczących w nich. Któż byłby wątpił w roku 1910, że uroporfiryna jest przetworem powstałym z barwika krwi! Wyjaśnienie budowy uroporfiryny wykazało, że odmienne ułożenie grup propionowych — poza zastąpieniem metyli przez reszty kwasu octowego — wyklucza bezpośredni związek genetyczny między uroporfiryną, wywodzącą się od etioporfiryny I, a protoporfiryną zawartą w hemoglobinie, wywodzącą się od etioporfiryny III. Zdolności syntetyczne ustroju zwierzęcego są o wiele różnorodniejsze i rozleglejsze, aniżeli wyobrażaliśmy sobie niedawno.

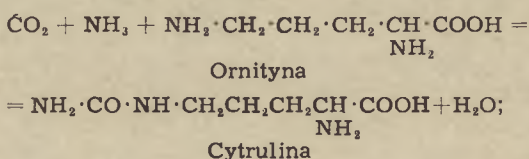
Chemia fizyczna umożliwiła chemii fizjologicznej poznanie i opanowanie nieznanych przed tym warunków spraw życiowych i ich chemizmu: ściślejsze określenie oddziaływania, prężności gazowych, potencjałów oksydoredukcyjnych, szybkości reakcji; poznanie struktur warstewek i błonek, ich przepuszczalności i czynników, od których przepuszczalności zależą. Wyobrażenia o budowie protoplazmy, o budowie komórek i ich otoczek są dziś, na podstawie rozwoju chemii organicznej i fizycznej, o wiele dokładniej sprecyzowane, aniżeli w pierwszych latach wieku XX.

Wiadomości o przebiegu przemian chemicznych w ustrojach uległy w ciągu ostatnich dziesięcioleci głębokiej zmianie, na podstawie rozszerzenia materiału fizjologiczno-chemicznego i dokładniejszego poznania warunków. To, co formułowano dawniej jako proste reakcje, których przeprowadzenie przypisywano enzymom uczynnionym przez aktywatory lub koenzymy, okazało się ciągiem wielu reakcji. Przeobrażenie glikogenu w kwas mlekowy, które jeszcze po roku 1910 formułowano co najwyżej jako hidrolizę glikogenu na cukier prosty, i następnie rozbitcie cukru prostego na kwas mlekowy, dziś pojmujemy jako ciąg kilkunastu reakcji, między którymi brak jednak hidrolizy glikogenu na glikozę! Rysem zupełnie nowym jest wykrycie udziału czynników chemicznych pomocniczych, przygotowanych i przeobrażających się okresowo w tkankach (czynników k o e n z y m a t y c z n y c h) w spalaniach czy przeobrażeniach tych ciał, które ustrój dla wyzwolenia energii czy dla wyrobienia materiałów budulcowych przetwarza.

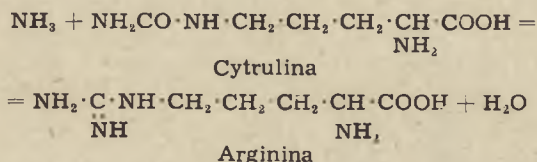
Rozpoznanie funkcji i mechanizmu działania tych czynników koenzymatycznych jest może najistotniejszym rysem biochemii naszej doby: z poznaniem tych mechanizmów jest związane zrozumienie reakcji biochemicznych. W epoce N e n c k i e g o wyobrażano sobie mechanizm powstawania m o c z n i k a z amoniaku i dwutlenku węgla jako reakcję, w której jako przetwórcę pośredni przyjmowano — temu zagadnieniu poświęcili N e n c k i i Z a l e s k i wiele pięknych prac — kwas karbaminowy i karbaminian amonowy:



Jeżeli w tym ciągu reakcji były etapy pośrednie, to wyobrażano je sobie jako związane już z właściwymi enzymami, ciałami wielkocząsteczkowymi, wolnymi albo związanymi w strukturze komórkowej; z enzymami ciała uczestniczące w przemianach są luźnie związane i ulegają przeobrażeniom. Dziś wiemy, że mechanizm powstawania mocznika jest zupełnie inny: że z amoniaku, dwutlenku węgla i ornityny powstaje cytrulina



z cytruliny przez przyłączenie drugiej cząsteczki amoniaku powstaje arginina:



a z argininy, w znanej oddawna hidrolizie przez enzym arginazę, odtworza się ornityna i powstaje przetwór końcowy mocznik.

Na tym przykładzie rysuje się już wyraźnie różnica w pojmowaniu przemian komórkowych w okresie N e n c k i e g o, kiedy urabiano sobie wyobrażenia o tym mechanizmie na podstawie prostych analogii chemicznych. Po o d k r y c i u czynników dla tych przemian nieodzownych, a przed tym zupełnie nieznanymi, i wyjaśnieniu ich udziału w reakcjach, przeważnie znowu na podstawie analogii chemicznych, obraz mechanizmu przemian biochemicznych komplikuje się coraz to bardziej podobnie, jak komplikuje się — ale i wypełnia — mapa kraju w miarę bliższego zbadania.

W ubiegłym dziesięcioleciu liczba poznanych koenzymów wzrosła bardzo znacznie, i objęła zupełnie nieprzewidziane dziedziny. Przed dwudziestu laty znano właściwie tylko jeden czynnik należący do tej klasy: k o z y m a z ę H a r d e n a i Y o u n g a, o której tyle wiedziano, że bez tego ciała organicznego enzymy drożdżowe nie mogą przeobrazić cukru w alkohol. Dziś wyliczenie znanych czynników koenzymatycznych przekroczyłoby ramy tego wykładu.

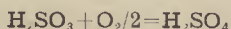
W spalaniach komórkowych i w fermentacjach d e h i d r o g e n a z y odszczepiają z ciał spalanych wodór, który przenosi się na wspólne koenzymy spalania i fermentacji, na k o z y m a z ę i f o s f o k o z y m a z ę; z dwuhidrokozymazy przejmuje wodór w niektórych spalaniach żółty ferment, który oddaje go tlenowi, w fermentacjach inne akceptory ostateczne; w innych spalaniach przeniesienie elektronów na tlen odbywa się przez szereg kolejnych koenzymów oddechowych, przy czym pierwszy człon tego szeregu oddaje elektrony — utlenia się — w reakcji z tlenem, a odbiera elektrony — utlenia — dalsze człony szeregu, aż na pewnym punkcie szeregu przeciwnieznego, nastąpi spotkanie się z członem, przenoszącym wodór, i powstanie przetwór spalania ostateczny, woda. Od strony ciała spalanego i od strony tlenu pośredniczą koenzymy oddechowe, z jednej strony ciała wodorowane odwracalnie, z drugiej utleniane — w znaczeniu elektrochemicznym — odwracalnie; ciąg reakcji biegnie w kierunku nadanym przez potencjały oksydoredukcyjne, sterowany przez właściwe katalizatory poprzez etapy, wytyczone przez przygotowane w środowisku ustrojowym k o e n z y m y odwodorowania i utlenienia.

Odkrycie czynników koenzymatycznych, wyodrębnienie ich i wyjaśnienie ich działania dokonuje się niekiedy w związku z wykryciem nowego składnika ustrojowego i poszukiwaniem jego funkcji, niekiedy w badaniach nad witaminami, i nad innymi czynnikami egzogenicznymi a niezbędnymi, lub w próbach rekonstrukcji przemian tkankowych przy pomocy enzymów i substratów, kiedy wychodzi na jaw nieodzowność któregoś ze składników tkankowych. Wiele można przytoczyć pouczających przykła-

dów. Reakcja pozornie tak prosta, jak odszczepienie dwutlenku węgla z kwasu pirogronowego przez drożdże (przez enzym karboksylazę) wymaga obecności — i niewątpliwie współdziałania w ciągu reakcji — dwufosfoaneuryny; obecności aneuryny — czy też dwufosfoaneuryny — wymaga reakcja *Krebsa*, przetworzenie dwu cząsteczek kwasu pirogronowego w cząsteczkę kwasu mlekowego, octowego i dwutlenku węgla: reakcja, której wstrzymanie w tkance nerwowej przez brak egzogenicznej aneuryny jest, zdaje się, istotą choroby beri-beri.

Przytaczam ten przykład działania koenzymatycznego dlatego, że wyjaśnia on jednocześnie istotę zachorzeń z braku witaminy B_1 : witamina B_1 — aneuryna — jest koenzymem, czy też pro-koenzymem przeobrażenia kwasu pirogronowego w reakcji *Krebsa*. Zagadnienie działania witaminów sprowadza się dla niektórych witaminów — nie chciałbym tego stwierdzenia uogólniać — do ich funkcji koenzymów czy pro-koenzymów: odnosi się to w każdym razie do witamin grupy B i do kwasu askorbinowego, witaminy te są koenzymami lub pro-koenzymami egzogenicznymi. Jak to pojęcie jest względne — mianowicie ze względu na odrębności ustrojowe — wynika stąd, że endogeniczne dla ustroju zwierzęcia wyższego koenzymy komórkowe, *kozymaza i fosfokozy-maza* są witaminami, więc koenzymami egzogenicznymi dla niektórych drobnoustrojów, np. *B. haemophilus parainfluenzae*.

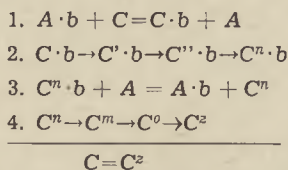
Spróbujmy, na podstawie tych przykładów, określić w sposób ogólniejszy istotę czynników koenzymatycznych i reakcje, w których pośredniczą. Okazuje się, że w tkankach są nagromadzone w ilościach niekiedy dużych, — np. w mięśniach i w drożdżach, — niekiedy drobnych, jak koenzymy odwodorowań i utleniań, takie ciała, z którymi wchodzi w reakcję, pod działaniem właściwych enzymów, substraty przetwarzane w przemianie materii i przetwory pośrednie tych przemian. Zanim przejdziemy do ściślejszego ujęcia przedstawimy obraz wzięty z chemii mineralnej, który funkcje koenzymów doskonale uzmysłowi. Dwutlenek siarki łączy się bardzo powoli z tlenem na bezwodnik kwasu siarkowego; w metodzie wyrobu kwasu siarkowego *komorowej* kwas siarkowy wprowadzamy w reakcję z kwasem azotowym, powstaje kwas nitrozylosiarkowy, reakcja ta jest bardzo szybka; kwas nitrozylosiarkowy rozpada się z wodą na kwas siarkowy i kwas azotawy, kwas azotawy na swój bezwodnik (N_2O_3), bezwodnik kwasu azotowego na tlenek (NO) i dwutlenek (NO_2) azotu, tlenek azotu z tlenem daje dwutlenek, z dwutlenku powstaje kwas azotowy. *Bilansem* tego znanego ciągu reakcji jest szybkie przeobrażenie, po wyeliminowaniu uczestników reakcji odtworzonych, kwasu siarkowego i tlenu w kwas siarkowy:



Gdyby taka reakcja odbywała się w ustrojach, to uważalibyśmy kwas azotowy za *koenzym* utlenienia kwasu siarkowego na kwas siarkowy.

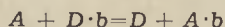
Niechaj w reakcji biochemicznej substrat C przetwarza się w przetwór końcowy C^z , dla reakcji tej okazuje się *nieodzownym* współdziałanie koenzymu obecnego w tkance, który oznaczamy znakiem *A.b*. Oznaczamy koenzym przez znak złożony dlatego, że bardzo wiele koenzymów rozpada się w reakcji, w której uczestniczą. Niechaj znaki C' , C'' , C^n , C^m , ozna-

czają przetwory pośrednie. Ciąg reakcji koenzymatycznej przedstawia się wtedy jak w następującym schemacie:



W podanym tu schemacie reakcja koenzymatyczna obejmuje człony 1 do 3, to jest te, w których znika i odtwarza się koenzym. Ażeby koenzym mógł się odtworzyć, na to potrzeba przeobrażenia się przetworu pośredniego $C \cdot b$ w przetwór pośredni $C^n \cdot b$, który z częścią koenzymu A reaguje, dając C^n i $A \cdot b$. Ciąg reakcji wyrażonej w części 4 może odbyć się spontanicznie — znamy takie przeobrażenia samorzutne, od pewnego punktu ciągu reakcji, w powstawaniu melaninu z tyrozyny w ciągu, wyjaśnionym przez R a p e r a — albo też może biec przy udziale dalszych enzymów i koenzymów. I dla przeobrażeń członu $C \cdot b$ w człon $C^n \cdot b$ mogą być potrzebne dalsze koenzymy.

Niekiedy koenzym $A \cdot b$ rozłożony w reakcji 1 odtwarza się przez działanie systemu pomocniczego, który określimy przez $D \cdot b$. Reakcja według schematu



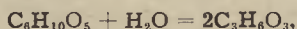
odtworza koenzym, który wchodzi znowu w obieg w reakcji 1, i zalega tylko część D koenzymu pomocniczego. W pewnej dalszej części ciągu reakcji biochemicznej odtworzy się koenzym wtórny $D \cdot b$ w reakcji, która jest odwróceniem reakcji 5, której odwracalność zaznaczono w równaniu.

Przykład ciągu reakcji z udziałem koenzymów odtwarzających się w dalszym ciągu, i koenzymów wtórnych daje glikogenoliza mięśniowa, albo fermentacja alkoholowa, którą w dalszym ciągu obszerniej przedstawimy. Funkcję koenzymów pełnią w niej kwas adenozynotrójfosforowy, który przerzuca fosfor na ester heksozozjednofosforowy, z którego powstanie aldehyd fosfoglicerynowy i fosfo-dwuoksyaceton; kozymaza, która przejmie wodór z aldehydu fosfoglicerynowego i przejdzie w dwuhidrokozymazę, a ta przerzuci ten wodór bądźto na fosfo-dwuoksyaceton (dając fosfoglicerol), bądź też na kwas pirogronowy w glikogenolizie mięśniowej, na aldehyd octowy w fermentacji, dając alkohol metylowy; wiążąc przytem w niewyjaśnionej dotąd ze względu na swój mechanizm reakcji — resztę fosforanową, która przerzuca się na kwas adenilowy, przyczyniając się do odtworzenia kwasu adenozynotrójfosforowego.

Koenzymem jest w dalszym ciągu kwas adenilowy, który przejmuje z kwasu fosfo-pirogronowego — odpowiadającego członowi $C^n \cdot b$ naszego schematu — grupę fosforanową, z odtworzeniem kwasu adenozynotrójfosforowego. Układ pomocniczy stanowi w glikogenolizie mięśniowej f o s f o k r e a t y n a, która nie jest sama koenzymem glikogenolizy, i bez której glikogenoliza w układzie uproszczonym (wyciągach mięśniowych) może się odbyć; ale z fosfokreatyny przerzucają się t y m c z a s o w o grupy fosforanowe na kwas adenilowy, odtwarza się koenzym właściwy glikogenolizy,

i kreatyna zalega dopóty, dopóki nie odtworzy się fosfo-kreatyna z kwasu adenozynotrójfosforowego, przez odwrócenie reakcji, w której się rozłożyła. Jeżeli rozpatrujemy całość przemian mięśniowych, nie wybierając jako głównej linii jednego ciągu, to kwas adenozynotrójfosforowy jest koenzymem ufosforowania estru heksozozjednofosforowego na heksozodwufosforowy i kenzymem ufosforowania kreatyny; kwas adenilowy jest koenzymem odfosforowania kwasu fosfopirogronowego na pirogronowy; kozymaza jest koenzymem reakcji oksydoredukcyjnej między fosfo-dwuoksyacetone i aldehydem fosfoglicerynowym, między aldehydem fosfoglicerynowym a kwasem pirogronowym, niewątpliwie także między fosfoglicerolem a kwasem pirogronowym.

Schemat glikogenolizy mięśniowej i układów koenzymatycznych działających w tej przemianie, uzmysławia złożoność i liczbę etapów pośrednich tego rozkładu i różne rodzaje układów koenzymatycznych pierwszorzędowych i wtórnych. Przemiana glikogenu w kwas mlekowy, którą w roku 1914 ujmowaliśmy w proste równanie



dla której przyjmowaliśmy następnie jeden etap ufosforylowany, dwa lub trzy etapy triozy i metyloglioksalu, obejmuje na głównej linii nie mniej niż 10 członków pośrednich, ester *C o r i ' c h*, ester *E m b d e n a*, ester *H a r d e n a* i *Y o u n g a*, aldehyd fosfoglicerynowy, fosfo-dwuoksyaceton, kwas 3. fosfoglicerynowy, kwas 2. fosfoglicerynowy, kwas fosfopirogronowy, kwas pirogronowy, fosfoglicerol; w roli koenzymów układy: fosforan mineralny, kwas adenozynotrójfosforowy, adenozynodwufosforowy, kwas adenilowy; kozymazę i dwuhidrokozyamazę; może i kwas inozynowy; w roli układów pomocniczych — fosfokreatynę i kreatynę. W fermentacji alkoholowej stwierdzamy te same koenzymy, co w glikogenolizie mięśniowej, w innym cyklu — grupa fosforanowa krąży nie między kwasem adenozynotrójfosforowym a kwasem adenilowym, lecz między kwasem adenozynotrójfosforowym a adenozyną¹⁾.

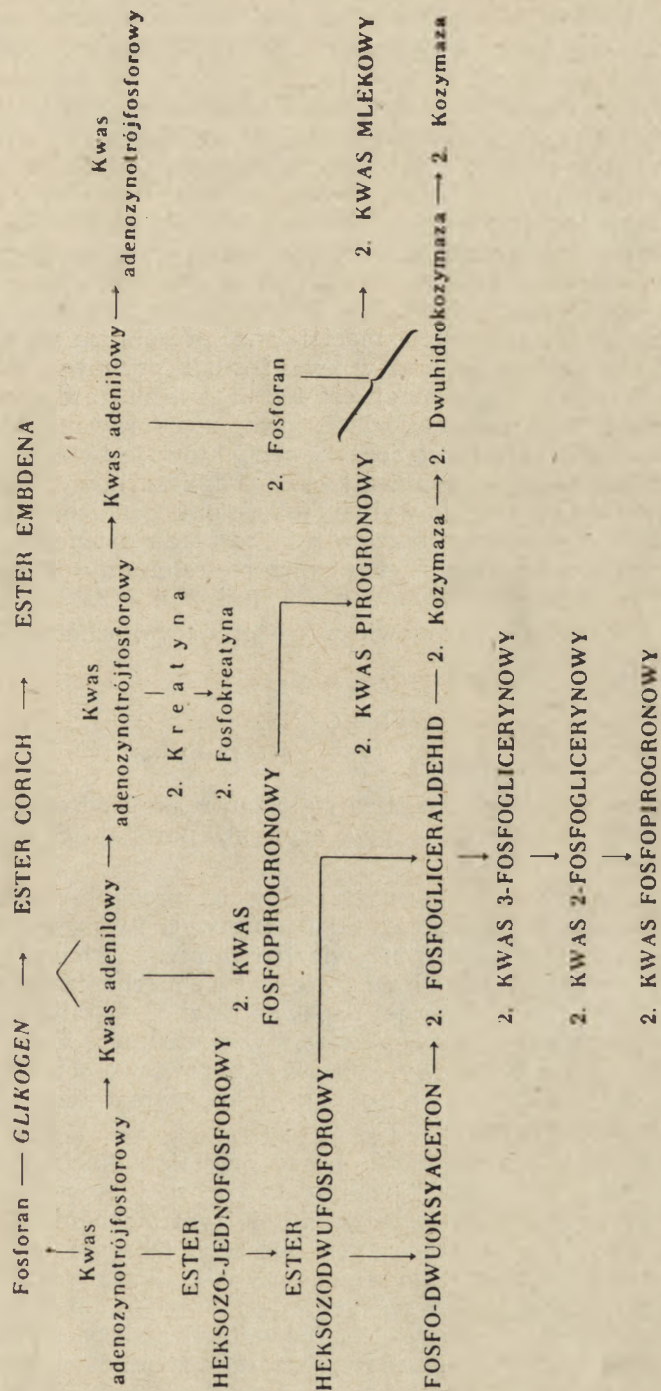
Spróbujmy, po tych przykładach podać definicję koenzymów. Określiłem koenzymy jako części składowe tkanek lub komórek, bądź to pojedyncze, bądź też układy składników wzajemnie powtarzalnych²⁾, których najprostszy człon nie może powstać z przetwarzalnego w danej reakcji podłoża: uczestniczące w reakcji enzymatycznej przez wymianę atomów albo grup z podłożem lub przetworami pośrednimi; dla przebiegu reakcji nieodzowne, a w ciągu reakcji, w której uczestniczą, odtwarzające się w takiej postaci i ilości, w jakich w tę reakcję weszły.

W definicji tej kładę nacisk na pewne własności istotne, stanowiące odrębność czynników koenzymatycznych. Za szczególnie ważny punkt definicji — inne są zrozumiałe bez objaśnień — uważam to, że najprostszy człon układu koenzymatycznego, (np. kwas adenilowy w mięśniach, albo ornityna w syntezie mocznika) nie wywodzi się z substratu przetwarzanego. W ciągu glikogenolizy nie uważamy zatem na koenzymy ani estru *H a r d e*

1) To zdanie włączono w tekst wykładu później, w listopadzie r. 1937.

2) Jak kwas adenozynotrójfosforowy, adenozynodwufosforowy, adenilowy — i w drożdżach ponadto adenozyne, albo i część adenozynowa kozymazy.

SCHEMAT CIĄGU GŁÓWNEGO GLIKOGENOLIZY MIĘŚNIOWEJ

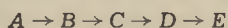


Objaśnienie: W tym schemacie nie chcę podać zupełnego obrazu przemian pośrednich w glikogenolizie mięśniowej, tylko obraz przemian substratu i udziału czynników koenzymacyjnych. Substrat i przetwory pośrednie są oznaczone literami dużymi, czynniki koenzymacyjne wypisane literami małymi. Strzałka przerywana → np. Kwas adenozyntrójfosforowy — Kreatyna → Fosfokreatyna oznacza, że z kwasu adenozyntrójfosforowego i kreatyny powstaje fosfokreatyna. Strzałki nieprzerwane → np. Fosfogluceraldehyd → f. kwas fosfoglicerynowy oznacza, że ciało pierwsze przeobraża się w drugie, a jednocześnie strzałka przerywana poprzez kozymazę do dwuhidrokozymazy wskazuje, że wodor z fosfogluceraldehydu przenosi się na kozymazę, i tworzy z niej dwuhidrokozymazę. Znak \wedge oznacza, że kwas adenilowy jest aktywatorem fosforolizy glikogenu.

na i Younga, ani kwasu pirogronowego lub kwasu fosfopirogronowego, których szkielet organiczny wywodzi się z przetwarzanego substratu cukrowcowego.

Wydaje się rysem znamionym przemian biochemicznych, że w przebiegu ciągu reakcji występują okresowo ciała, na których ciąg zatrzymuje się, jeżeli nie wejdą w reakcję z określonym członem poprzedzającym je w tym właśnie ciągu reakcji, w której powstały. Udział tych ciał w mechanizmie danej reakcji jest podobny do udziału koenzymów. Różnica polega w tym, że koenzymy odtwarzają się okresowo zupełnie, a tamte ciała powstają coraz to na nowo z przetwarzanego substratu. W glikogenolizie mięśniowej powstaje kwas pirogronowy, który w reakcji z aldehydem fosfoglicerynowym, swoją substancją macierzystą, przeobraża się w produkt ostateczny, kwas mlekowy, oraz w kwas fosfoglicerynowy, który będzie ciałem macierzystym następnej cząsteczki kwasu pirogronowego. Podobnie zająć się w fermentacji alkoholowej uwodorowanie aldehydu octowego o redukcję aldehydu fosfoglicerynowego, który jest ciałem macierzystym aldehydu octowego — poprzez kwas fosfoglicerynowy, fosfopirogronowy, pirogronowy. Możemy to wyrazić tak, że glikogenoliza mięśniowa zająć się swoim $n + 4$ członem o człon n -ty rozkładu drugiej jednostki glukozowej, a wynikiem tej reakcji jest utworzenie członu $n + 5$, ostatecznego, ale zarazem odtworzenie członów $n + 1$, $n + 2$, $n + 3$.

Możemy ten mechanizm uzmysłowić w następującym schemacie:



Warunkiem nieodzownym posunięcia się ciągu reakcji od członu E do członu F jest reakcja między E a A , przy czym z E powstaje F , a z D powstaje E .

Powtarzanie się okresowe tych samych ciał w ciągu reakcji rozkładowej ukazuje się przepięknie w mechanizmie spalań końcowych kwasów dwu, trój, i czterowęglowych, w mechanizmie przewidzianym przez Thunberga, a wyjaśnionym przez prace Krebsa. Ale w tym mechanizmie zacięra się — w obecnej chwili nie umiemy jej napewno ustalić — granica między funkcjami okresowo powracających przetworów pośrednich, a funkcjami koenzymatycznymi. Kwas fumarowy, jabłkowy, szczawiowo-octowy stanowią według Szent Györgi'ego układ koenzymatyczny, według Krebsa przetwory pośrednie.

Próbowałem przedstawić złożoność obrazu przemian tkankowych jak się nam dziś ukazuje, w przeciwstawieniu do pozornej prostoty obrazu dawniejszego. Przy bystrzejszym przyjrzeniu się tym mechanizmom wychodzą jednak na jaw uproszczenia tych obrazów. Okazuje się przede wszystkim różnorodność funkcji tego samego czynnika koenzymatycznego: kozymaza jest koenzymem bardzo różnych odwodorowań, dokonywanych przez rozmaite dehidrogenazy swoiste na rozmaitych podłożach; dehidrogenazą dwuhidrokozymazy okazuje się znowu żółty enzym; dalszym akceptorem wodorowym układ jabłkowo-fumarowy; dalszym układ cytochromowy. Odnosi się to do oksydoredukcji i utleniań różnorodnych, zapoczątko-

wanych przez różne dehidrogenazy: a dalsza droga różnych przeobrażeń jest już wspólna.

Tak dostrzegamy, wśród niemal nieprzejranej liczby związków i przemian ustrojowych, które wykrywają prace chemii fizjologicznej i chemii organicznej, coraz to wyraźniej wspólne plany budowy ciał, wspólne i podobne metody przeróbki: i chemia fizjologiczna, czy fizjologia chemiczna zaczyna wychodzić w bardzo wielu dziedzinach z tego okresu, w którym mnożyły się znane fakty, a brakowało szerszych perspektyw. Jak i w rozwoju innych nauk, tak i w rozwoju chemii fizjologicznej dokładniejsze poznanie faktów naprowadziło na połączenie ich, na zrozumienie korelacji chemicznych i — tu i ówdzie — także i fizjologicznych.

Ale w dobie obecnej dostrzegamy również, jak daleko do wyczerpania nawet tych zagadnień, w których wyjaśnieniu zdawałoby się, uzyskano szczególne postępy. Niewyczerpalność zagadnień biochemicznych narzuca się nam dziś może bardziej przekonująco, aniżeli wtedy, kiedy dokonywał przeglądu 35-lecia swojej pracy Marceli Nencki.

Na początku swego przemówienia Nencki powiedział, że jeżeli uprzytomni sobie to, co na początku jego działalności naukowej wydawało mu się wysokim, trudnym do osiągnięcia celem, i porówna z tym, co po 30 latach jest już osiągnięte, to może powiedzieć z Goethem, „wonach ich mich in der Jugend sehnte davon habe ich im Alter die Fülle”. Podobne uczucia budzi i w nas — a szczególnie w tych, których praca na ten okres przypada — przegląd tego, co osiągnięto w pierwszym trzydziestolecu XX wieku; w czasie, na który przypadła wielka wojna i głębokie wstrząsy polityczne. Ale i zakończenie mowy Nenckiego jest nie mniej aktualne, i zawsze nim zapewne pozostanie: „Zadań, czekających na rozwiązanie jest nieskończona ilość i pojedynczy badacz, przepracowawszy całe swe życie, nie może nie powtórzyć słów Seneki „si quis totam diem currens peruenit ad vesperum, satis es”, gdyż widzi, jak jedne pokolenia po drugich dalej kroczyć i pracować muszą, a końca badań nie ujrzą. Za to wiedza nasza będzie coraz obszerniejsza i głębsza, a korzyść praktyczna, mianowicie w medycynie, coraz większa”.

IRENA MOCHNACKA

Procesy wstępne glikogenolizy *

Wstęp

Przedmiotem niniejszej pracy są procesy wstępne glikogenolizy mięśniowej. Za procesy wstępne uważa się te przemiany chemiczne, w których powstaje ester heksozo-dwufosforowy (ester *Hardena-Younga*); na tym związku dopiero zaczyna się rozpad łańcucha sześciowęglowego.

Procesy wstępne glikogenolizy okazały się w świetle badań ostatniego dwudziestolecia ciągiem, złożonym z co najmniej czterech reakcji a przebiegającym aż do utworzenia estru *Hardena-Younga* przez trzy pośrednie produkty; poza tym w tych reakcjach enzymatycznych biorą udział trzy koenzymy i dwa aktywatory.

Ścisłejszy przedmiot niniejszej rozprawy stanowią zagadnienia:

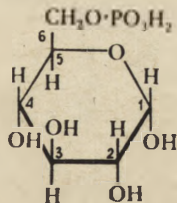
1. Jakie aktywatory biorą udział w pierwszym kroku przemiany glikogenu?

2. Czy rozkład glikogenu polega tylko na procesach fosforolizy, czy też w przemianach wstępnych biorą udział także procesy hydrolizy?

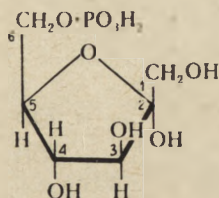
Jeżeli rozkład glikogenu odbywa się w układach enzymatycznych najbardziej uproszczonych, w których brakuje zarówno donatora fosforowego, to jest kwasu adenozynotrójfosforowego, jak i koenzymy (to jest koenzymu oksydoredukcji i fosforylacji oksydoredukcyjnej), to przemiana glikogenu zatrzymuje się na estrach heksozo-jednofosforowych. Estry heksozofosforowe występują w procesie glikogenolizy jako jedyne jednocukrowce. W roku 1935 zagadnienie rozkładu i pierwszej fosforylacji glikogenu mięśniowego wyszło ze stanu zupełnej niejasności; *Parnas* i *Baranowski* (21) rozpoznali, że ester heksozo-jedno-fosforowy — znano podówczas mieszanekę dwu estrów heksozo-6-fosforowych, tzw. ester *Embdena* powstaje przez bezpośrednie odszczepienie, przez przyłączenie fosforanu do glikogenu, reszty jednocukrowcowej. Proces ten *Parnas* i *Baranowski* sformułowali w równaniu:

* Praca wykonana pod kierunkiem prof. dra J. K. *Parnasa* w Zakładzie Chemii Lekarskiej Uniwersytetu Jana Kazimierza we Lwowie i przedłożona w maju 1939 r. Radzie Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu Jana Kazimierza celem uzyskania stopnia doktora medycyny.

Ester ten pod działaniem enzymów zawartych w wyciągu mięśniowym (brak go zatem w miazdze wymytej) przetwarza się w ester *Robisona*, ten z kolei przechodzi w ester *Neuberga*, tworząc w ten sposób mieszaninę, którą nazywamy estrem *Embdena*.

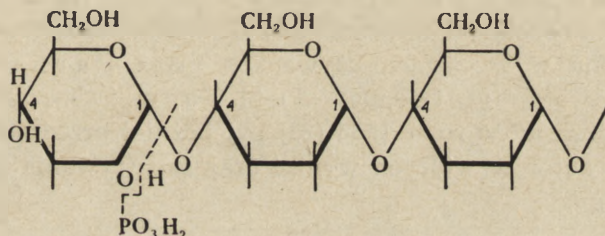


II. Ester Robisona
glukoza-6-jednofosforowy



III. Ester Neuberga
fruktoza-6-jednofosforanowy

Odkrycie estru *Cori'ch* tłumaczyło mechanizm fosforolizy w sposób zupełnie jasny ze względu na strukturę glikogenu i produktów fosforolizy. Fosforoliza polega na przerwaniu wiązania między węglem Nr 1 a węglem Nr 4, łączącego jednostki cukrowce, a to przez przyłączenie reszty fosforanowej do węgla Nr 1 w skrajnej glukozy. Wodór łączy się z tlenem węgla 4 następnej glukozy, która teraz stanie się skrajną i jako skrajna ulega fosforolizie:



IV. Fragment glikogenu

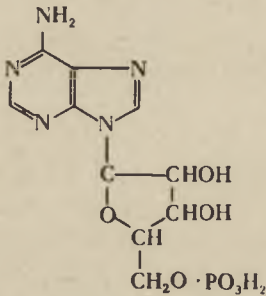
Pierwszy produkt fosforolizy, ester *Cori'ch* pozostaje zatem w stosunku zupełnie przejrzystym do jednostki cukrowcowej glikogenu.

Na tym punkcie rozpoczęłam pracę nad przedmiotem glikogenolizy, przy czym pierwszym zagadnieniem było: co jest właściwie aktywatorem glikogenolizy. Zagadnienie to wynika z następującej sprzeczności:

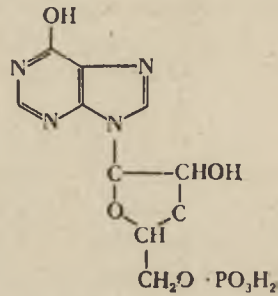
C. F. Cori i *G. T. Cori* (3) stwierdzili, że czynnikiem koniecznym do fosforolizy glikogenu jest kwas adenilowy. Miazga mięśniowa wypłukana lub wyciąg mięśniowy dializowany przez 17 godzin (4) nie rozkładają lub rozkładają tylko w małym stopniu glikogen. Dodanie kwasu adenilowego w stężeniu 10^{-3} molarnym powoduje fosforylację glikogenu przez fosforany.

Kwas adenilowy mięśniowy jest nukleotydem adenozy-5-fosforowym; w mięśniu ulega szybko dezaminacji na kwas inozynowy. Kwas inozynowy nie ulega już przeobrażeniu w mięśniu szkieletowym, tylko mięsień sercowy

zawiera swoistą fostazę, 5-nukleotydazę (24), rozkładającą kwas inozynowy na inozynę i wolny fosforan.



V. Kwas adenilowy



VI. Kwas inozynowy

W wyciągach mięsnych autolizowanych rozkład glikogenu w obecności fosforanów przebiega szybko, pomimo, że wyciągi takie nie zawierają już kwasu adenilowego. Muszą zatem zawierać jakiś inny czynnik, aktywujący fosforolizę, czynnik, którego nie zawiera miazga mięśniowa wypłukana; czynnik ten znika po dłuższej dializie wyciągu.

Wynikiem już pierwszych doświadczeń było stwierdzenie, że funkcję aktywatora może pełnić na równi z kwasem adenilowym także i kwas inozynowy; przez to zdołałam wyjaśnić, co było właściwie aktywatorem fosforolizy glikogenu w wyciągach używanych przez Parnasa i Baranowskiego oraz Osterna, Guthkego i Terszakowcia. Wynik ten ogłoszony w roku 1936 (22) był później przedmiotem licznych badań innych autorów, których wyniki oraz zapatrywania przedyskutuję w dalszym ciągu.

Metody

Doświadczenia były przeprowadzone na wyciągach wodnych i fosforanowych z mięśni króliczych.

1. Wyciąg wodny: po zabiciu i skrwawieniu królika, wypreparowane mięśnie grzbietowe i odnoży mielono i rozrabiano z wodą destylowaną w stosunku 1:1. Płyn oddzielano od miazgi przez wyciśnięcie w worku płóciennym, wyciąg zobojętniano do pH7, pozostawiano dla autolizy w temperaturze pokojowej, dializowano w węzłach celofanowych do bieżącej wody i przechowywano w lodówce. Czas dializy i przechowania wyciągów jest podany przy doświadczeniach.

2. Wyciągi fosforanowe według Kendala i Sticklanda (7). Zmielone mięśnie rozrabiano dziesięciokrotną objętością wody destylowanej. Po 30 minutach oddzielano płyn a pozostałość mięsną wy-

plukano kilkakrotnie roztworem fosforanu dwusodowego 1/50 molarnym. W ten sposób otrzymuje się I, II, III, IV, V, VI, wyciągi fosforanowe. Wyciągów fosforanowych nie dializowano, przed użyciem zobojętniano je fosforanem jednosodowym.

W doświadczeniach nad amylazą ślinową używano śliny ludzkiej przesączonej. W doświadczeniach nad amylazą trzustkową stosowano preparat Mercka.

Glikogen izolowano z wątrób królików karmionych przez parę dni cukrem metodą Pfluegera (23) lub metodą Osterna (20). Roztwory wodne glikogenu oznaczano przed doświadczeniami polarymetrycznie.

Kwas inozynowy (sól barowa) i kwas adenilowy pochodziły z firmy „Laokoon”. Do zacierów dodawano je jako sole sodowe.

Ubytek glikogenu oznaczano nefelometrem Kleinmanna, obserwując znikanie opalescencji w zacierach po odbiałczeniu równą objętością 10% kwasu trójchlorooctowego. Glikogen oznaczano również po wyizolowaniu metodą Pfluegera.

Powstanie estru Embdena stwierdzano jako ubytek fosforu nieorganicznego równoległy ze znikaniem glikogenu. Fosfor oznaczano w zacierach po odbiałczeniu metodą Fiskego i Subbarowa (6).

I

W moich doświadczeniach wyciągi autolizowane przez trzy do sześciu godzin, dializowane przez 30 godzin, są aktywne, rozkładają dodany glikogen po uzupełnieniu fosforanami. Dodanie do takich wyciągów kwasu adenilowego nie zwiększa szybkości fosforolizy. Dopiero wyciągi przechowane po dializie w temperaturze 0° przez kilka tygodni, wyciągi elektrodializowane lub autolizowane w oddziaływaniu zasadowym (pH8, w temperaturze 40°), tracą czynność fosforolityczną. Wyciągi takie można aktywować przez dodanie nie tylko kwasu adenilowego, lecz także i inozynowego. Jeżeli czynność wyciągu była wyraźnie zmniejszona, to obydwie te ciała zwiększają jego działanie. Wyciągi inaktywowane w temperaturze 40° w oddziaływaniu zasadowym powyżej pH8 tracą nieodwracalnie zdolność fosforolizowania glikogenu.

Działanie kwasu inozynowego i kwasu adenilowego na fosforolizę glikogenu przedstawiają wyniki doświadczeń podanych w tablicach 1, 2, 3 i 4.

Z wyników doświadczeń podanych w tablicy 1 i 2 widać, że kwas inozynowy zarówno jak kwas adenilowy aktywuje nieczynne wyciągi: aktywacja przez kwas inozynowy jest nieco słabsza.

W doświadczeniach podanych w tablicy 3 i 4 używałam wyciągów fosforanowych (otrzymanie takich wyciągów podane jest w ustępie: Metody). Wyciągi fosforanowe I, II, III, IV, i V fosforylują glikogen bez dodania

Tablica 1

Aktywacja nieczynnego wyciągu przez kwas adenilowy i przez kwas inozynowy

Wyciąg mięśniowy wodny, autoliza: 7 godzin; dializa: 16 godzin; elektrodializa: 2 godziny przy pH7, przez 10 minut pH8,2.

a.	20 ml wyciągu,	1 ml 20% MgCl ₂ ,	2 ml wody,	8 ml 2,5% glikogenu w moderatorze fosforanowym (M/12)
b.	„	„	2 ml kwasu inozynowe- go (M/650)	„
c.	„	„	2 ml kwasu adenilowe- go (M/650)	„

Po złożeniu zacieru pobierano natychmiast próbkę, którą odbiałczano równą objętością 10% kwasu trójchlorooctowego. Próby takie oznaczone są w tablicach jako próby o czasie inkubacji O. Resztę zacieru pozostawiano w temperaturze 20°. Po pewnych czasach trwania inkubacji pobierano próbki do odbiałczenia. W przesączach oznaczano zawartość glikogenu nefelometrycznie, w nefelometrze Kleinmanna, na podstawie efektu Tyndalla, który jest — w granicach — proporcjonalny do stężenia. Jako wzorce używano próby o czasie inkubacji O, której zawartość glikogenu określano jako 100%. Porównanie stężenia glikogenu na podstawie porównania zjawisk Tyndalla polega na tym, że im większe — w pewnych granicach — stężenie glikogenu, tym mniejsza warstwa płynu da efekt Tyndalla równy płynowi wzorcowemu. Niech wzorcem będzie warstwa np. 10 mm płynu wzorcowego, to jest warstwa oświetlona wycinkiem snopa światła wysokości 10 mm; niech płyn badany da rozjaśnienie (efekt Tyndalla) takie same, jeżeli go oświetli wycinek (10 + n) mm wysoki, to zawartość glikogenu w tym płynie wynosi

$$100 \cdot \frac{10}{10 + n} \% \text{ zawartości w płynie wzorcowym.}$$

W tablicach dla większej jasności podano zamiast zawartości glikogenu w poszczególnych próbach ubytki glikogenu w procentach.

Czas inkubacji	Ubytek glikogenu w % oznaczony nefelometrycznie	
	40 minut	90 minut
a	0	0
b	27	31
c	31	44,5

Tablica 2

Aktywacja słabo czynnego wyciągu przez kwas inozynowy i przez kwas adenilowy

Wodny wyciąg mięśniowy, dializa: 12 godzin; autoliza: 8 godzin przy pH 8 w temperaturze 40°.

Skład zacierów:

a. 20 ml wyciągu, 1 ml 20% MgCl₂, 2 ml wody, 8 ml 2,5% glikogenu w moderatorze fosforanowym (M/12)

b. „ „ „ 2 ml kwasu inozynowego (M/650)

c. „ „ „ 2 ml kwasu adenilowego (M/650)

Inkubacja w 20°, pH 7

Czas inkubacji	Ubytek glikogenu w % oznaczony nefelometrycznie		
	30 minut	60 minut	90 minut
a	9	16	23
b	20	28,5	37,5
c	20	33,4	41,5

aktywatora. W wyciągach IV i V, działających słabiej, zaznacza się już wpływ kwasu inozynowego i kwasu adenilowego.

Wyciąg fosforanowy VI jest nieczynny bez dodania kwasu adenilowego lub kwasu inozynowego. Ilustruje to tablica 4.

Stwierdzenie działania kwasu inozynowego jako aktywatora fosforalazy wyjaśnia sprzeczność, która wynika z wykazania przez C. F. Cori i G. T. Cori roli kwasu adenilowego a doświadczeniami na wyciągach mięśniowych, w których nie ma już kwasu adenilowego, a powstaje ester heksozo-jednofosforowy. Działanie kwasu inozynowego jest słabsze od działania kwasu adenilowego, ale ponieważ w mięśniu nie ma kwasu adenilowego a kwas inozynowy powstaje i gromadzi się, to należy raczej kwas inozynowy uważać za czynnik aktywujący fosforolizę glikogenu.

Z kolei nasunęło się pytanie, jakie działanie na fosforolizę glikogenu ma produkt fosforylacji kwasu adenilowego, kwas adenozyntrójfosforowy. Aktywacja wyciągów przez kwas adenozyntrójfosforowy podana jest w doświadczeniach w tablicy 3 i 4 (zacier „d”). Kwas adenozyntrójfosforowy aktywuje fosforolizę glikogenu prawie tak samo jak kwas adenilowy.

Tablica 3

Aktywacja wyciągu fosforanowego IV, przez kwas adenilowy, kwas inozynowy i kwas adenozyotrójfosforowy. (ATP)

Wyciąg fosforanowy IV.

Skład zacierów:

a.	15 ml wyciągu, 1 ml 10% MgCl ₂ , 2 ml wody,	1 ml M/3 modera- tora fosfo- ranowego	2 ml gli- kogenu 3,4%
b.	„ „	2 ml kwasu inozynowe- go (M/850)	„ „
c.	„ „	2 ml kwasu adenilowe- go (M/850)	„ „
d.	„ „	2 ml APT go (M/850)	„ „

W przesączach trójchlorooctowych oznaczono zawartość glikogenu nefelometrycznie, tak jak podano w tablicy 1 i oznaczono zawartość fosforu nieorganicznego.

Tab. a czas inkubacji w minutach	Mg fosforu w całości				Ubytek fosforu w mg		
	0	30	60	90	30	60	90
a.	15,48	12,00	9,90	10,00	3,48	5,58	5,48
b.	15,00	11,00	9,30	8,55	3,90	5,70	6,45
c.	15,48	8,82	8,06	7,55	6,66	7,42	7,93
d.	16,30	9,07	7,55	6,90	7,23	8,75	8,40

W tabelce b podane jest zestawienie ubytku glikogenu oznaczonego nefelometrycznie (Nef) i procent ufosforylowanego glikogenu (P), obliczony na podstawie znikania fosforu wolnego podanego w tabelce a.

Tab. b czas inkubacji	Ubytek glikogenu w procentach					
	30 minut		60 minut		90 minut	
oznaczenie	Nef	P	Nef	P	Nef	P
a.	34	25	50	42	56,5	42
b.	37	30	56,5	44	64,5	50
c.	60	50	73,5	56	78	60
d.	68	55	78	67	84	72

Tablica 4

Aktywacja wyciągu fosforanowego VI przez kwas adenilowy, kwas inozynowy i kwas adenozyotrójfosforowy

Wyciąg fosforowy VI.

Skład zacierów:

a.	15 ml wyciągu,	1 ml 10% MgCl ₂ ,	2 ml wody,	1 ml M/3 modera- ratora fosfo- ranowego	2 ml gli- kogenu 3,4%
b.	„	„	2 ml kwasu inozynowe- go (M/1000)	„	„
c.	„	„	2 ml kwasu adenilowe- go (M/1000)	„	„
d.	„	„	2 ml APT (M/1000)	„	„

Inkubacja w 20°, pH 7

Tab. A	Mg fosforu w całości			Ubytek fosforu w mg	
	0	90	150	90	150
Czas inkubacji w minutach					
a.	13,80	13,80	13,80	0	0
b.	14,60	12,30	11,75	2,30	2,85
c.	13,80	11,10	10,78	2,70	3,12
d.	14,80	12,40	11,42	2,40	3,38

Tab. B	Ubytek glikogenu w %				
	Czas inkubacji	90 minut		150 minut	
		oznaczenie	Nef.	P	Nef.
a.	0	0	0	0	
b.	23	17,8	37,5	22	
c.	38,5	21	47,5	24	
d.	39	18	50	25,8	

H. Lehmann i D. M. Needham (11) przypuszczają, że obok fosforolizy przez wolne fosforany istnieje także w mięśniu przenoszenie grup fosforanowych z kwasu adenozyotrójfosforowego wprost na glikogen. W doświadczeniach na wyciągach wodnych, dializowanych przez osiem godzin i przechowywanych w lodówce osiem dni, stwierdzali większą fosforolizę glikogenu po dodaniu kwasu adenozyotrójfosforowego, aniżeli po dodaniu fosforanów nieorganicznych.

Aktywacja wyciągów przez kwas adenozynotrójfosforowy po dodaniu fosforanów jest taka sama jak aktywacja przez kwas adenilowy. W wyciągach, które rozkładają w małym stopniu glikogen za pomocą (nieusuniętych przez dializę) fosforanów własnych, dodanie kwasu adenozynotrójfosforowego przyspiesza fosforolizę glikogenu; w takich warunkach kwas adenilowy nie aktywuje. Ale po dodaniu fosforanów rozkład glikogenu następuje jeszcze szybciej. Wykazuje to następujące doświadczenie (tablica 5):

Tablica 5

Działanie kwasu adenozynotrójfosforowego na fosforolizę glikogenu w wyciągu wodnym dializowanym, bez dodania fosforanów

Wyciąg mięśniowy wodny, autoliza: 6 godzin; dializa 35 godzin; zawartość fosforu nieorganicznego 6 mg ⁰ / _o			
Skład zacierów:			
a.	10 ml wyciągu,	5 ml M/10 modera- tora werona- lowego	4 ml wody, 2 ml glikogenu 1,75 ⁰ / _o
b.	"	"	4 ml ATP (M/334) *)
c.	"	"	4 ml kwasu adenilo- wego (M/200)
d.	"	"	4 ml fosfora- nów M/12
Inkubacja w 20°, pH7			
			Ubytek glikogenu w pro- centach oznaczony nefel- ometrycznie
Czas inkubacji		60 minut	120 minut
a		9	10
b		31	46
c		6	10
d		73	88

*) Zawiera 4 mg fosforu odszczepialnego.

Tłumaczyć aktywację przez kwas adenozynotrójfosforowy (tablica 5) jako mechanizm fosforylacji właściwy temu związkowi można by dopiero po wykluczeniu działania pyrofosfatazy, enzymu zawartego w mięśniach (13),

który rozkłada kwas adenylozotrójfosforowy na kwas adenilowy i fosforanowy. Bez takiego dowodu działania kwasu adenylozotrójfosforowego należałoby raczej sprowadzić do działania kwasu adenilowego i fosforanów.

Badania różnych wyciągów wodnych i fosforanowych na zawartość w nich pyrofosfatazy wykazały (tablice 6, 7 i 8), że pyrofosfataza nie ulega zniszczeniu przez autolizę, dializę ani przez przechowanie wyciągu przez kilka tygodni. Działanie pyrofosfatazy można stwierdzić i w wyciągach nieczynnych fosforolitycznie. Wyciągi takie zawierają również i dezaminazę kwasu adenilowego i dlatego wykazanie, że z kwasu adenylozotrójfosforowego powstaje w nich amoniak, stanowi dowód, że zawierają także pyrofosfatazę; nie rozłożony kwas adenylozotrójfosforowy bowiem dezaminacji nie ulega.

Działanie pyrofosfatazy można również stwierdzić badając zwiększenie wolnych fosforanów w wyciągach, po dodaniu kwasu adenylozotrójfosforowego.

Wyciąg użyty w doświadczeniu podanym w tablicy 5 zawiera pyrofosfatazę; w tablicy 6 widać, że po godzinnej inkubacji przyrost fosforu wolnego odpowiada połowie fosforu odszczepialnego w dodanym kwasie adenylozotrójfosforowym.

Tablica 6

Zawartość pyrofosfatazy w wyciągu użytym w doświadczeniu z tabl. 5

Wyciąg wodny — autoliza: 6 godzin; dializa: 5 godzin.				
Skład zacierów:				
a.	10 ml wyciągu,	2 ml M/10 moderatora,	1 ml wody	
		wenoralowego		
b.	10 ml wody	„	1 ml ATP, 2,762 mg P	
			odszczepialnego	
c.	10 ml wyciągu	„	„	
Inkubacja w 20°, pH 7				
	Czas inkubacji	mg P wolnego w całości zacieru	Różnica	Rozkład ATP
a.	0	0,606		
	60 min	0,610	0,004	
b.	0	0,620		
	60 min	0,620	0	0
c.	0	1,180		
	60 min	2,592	1,412	51%

Tablica 7

Oznaczenie pyrofosfatazy w wyciągu przechowanym przez dłuższy czas

Wodny wyciąg mięśniowy — autoliza: 5 godzin; dializa: 24 godzin; przechowywany w temperaturze 0°.

Skład zacierów:

a. 16 ml wyciągu, 4 ml moderatora 1 ml 10% MgCl₂ 1 ml ATP
weronalowego
M/10

b. „ „ „ 1 ml wody

c. 16 ml wody „ „ 1 ml ATP

Inkubacja 60 minut w 20°, pH 7

	Czas przechowania wyciągu	mg P odszczepialnego w ATP dodanym	Przyrost P w mg po inkubacji	Rozkład ATP w %
a.	16 godzin	2,775	2,016	73
	8 dni	2,775	0,931	33,5
	5 tygodni	2,544	0,635	25
	7 „	2,925	0,600	20,5

Próby kontrolne na wyciągu i kwasie adenozyntroójfosforowym inkubowanym w wodzie (b. i c.) wykonane równolegle nie wykazywały przybytku fosforu nieorganicznego.

Starzenie się wyciągów zmniejsza bardzo powoli szybkość rozkładania kwasu adenozyntroójfosforowego. W wyciągu przechowanym przez 7 tygodni (tablica 7), po godzinnej inkubacji w temperaturze 20°, 20% dodanego kwasu adenozyntroójfosforowego ulega rozkładowi. Wyciąg nieczynny fosforolitycznie zawiera również pyrofosfatazę (Tab. 8).

Trwałość pyrofosfatazy, której nie uwzględniali H. Lehmann i D. M. Needham, tłumaczy wyniki ich doświadczeń. Z kwasu adenozyntroójfosforowego powstają wolne fosforany i aktywujący kwas adenilowy albo z kolei kwas inozowy.

Ostatnio G. T. Cori, S. P. Colowick i C. F. Cori (5) otrzymali przez adsorpcję na węglu wyciągi wolne od pyrofosfatazy. Wyciąg nie zawierający pyrofosfatazy aktywuje się tylko kwasem adenilowym, kwas adenozyntroójfosforowy jest nieczynny.

Po wykryciu w r. 1936 przez J. K. Parnasa i I. Mochnącką roli kwasu inozynowego w fosforolizie glikogenu, Kendall i Stickland [7, 8] ogłosili prace, w których podali, że aktywatorem fosforolizy glikogenu

Tablica 8

Zawartość pyrofosfatazy w wyciągu fosforanowym VI

Skład zacierów:

- a. 10 ml wyciągu, 4 ml moderatora 1 ml 10% MgCl₂, 1 ml wody
weronalowego
M/10
- b. „ „ „ „ 1 ml ATP
(zawierający 2,48 mg
fosforu odszczepial-
nego i 0,51 mg P nie-
organicznego)

	Czas inkubacji	mg P w ca- łości	Różnica	Rozkład ATP w %
a	0	2,43	0	
	60 minut	2,43	0	
	120 minut	2,47	0,04	
b	0	2,896		
	60 minut	3,552	0,656	26,4
	120 minut	3,776	0,880	35,5

Inkubacja 60 minut w 20°, pH 7

jest jedynie tylko kwas adenzynotrójfosforowy, natomiast, że nie ma tego działania kwas adenilowy. Wymiana listów z tymi autorami wykazała, że stosowali oni zamiast kwasu adenilowego produkt siedmiominutowej hydrolizy kwaśnej kwasu adenzynotrójfosforowego, sądząc, że taka hydroliza daje kwas adenilowy. Tymczasem taka hydroliza kwaśna kwasu adenzynotrójfosforowego nie prowadzi do kwasu adenilowego, lecz daje adeninę i kwas rybozo-fosforowy, dwa ciała, które rzeczywiście nie mają wpływu na fosforolizę. Kendal i Stickland po otrzymaniu z pracowni lwowskiej kwasu adenilowego i inozynowego odwołali i sprostowali poprzednio ogłoszone wyniki (9). Niestety wyniki podane w ich pierwszej publikacji przeszły do publikacji referatowych i wynikło z nich dużo zamętu, gdyż ze względu na południk, pod którym prace ich powstały, przepisywano im wartość realną. W *Annual Review of Biochemistry* K. Lohmann (14) podaje kwas adenzynotrójfosforowy jako jedyny aktywator fosforolizy, a Lundsgaard (16) stara się, zupełnie niepotrzebnie, pogodzić sprzeczności wyników Kendala i Sticklanda z wynikami

Parnasa i Mochnackiej. Działanie kwasu inozynowego jest słabsze od działania kwasu adenilowego. W moich doświadczeniach aktywacja przez kwas inozynowy w stężeniu 1/650 molarnym do 1/1000 molarnym jest o 8 do 40% mniejsza, niż aktywacja przez kwas adenilowy w tym samym stężeniu. Kießling (10) stwierdza fosforolizę glikogenu o 40% mniejszą przy aktywacji przez kwas inozynowy od aktywacji przez kwas adenilowy w stężeniach 1/25000 molarnych.

G. T. Cori, S. P. Colowick i C. F. Cori (5) podają jako stężenia optymalne dla działania kwasu adenilowego M/1000, dla kwasu inozynowego M/400, przy czym porównując efekt w stężeniach najsilniej działających znajdują, że kwas inozynowy aktywuje o 70% słabiej.

Mechanizm działania kwasu adenilowego i inozynowego jako aktywatora fosforolizy nie jest jasny. Nie może jednak polegać na ufosforylowaniu tych ciał i następowemu przeniesieniu grup fosforanowych na glikogen, gdyż produkty fosforylacji kwasu adenilowego, kwas adenozyntrójfosforowy i kwas adenozyndwufosforowy (5) są bez wpływu na tę reakcję, a produktów fosforylacji kwasu inozynowego nie znamy. Aktywacja fosforolizy kwasem adenilowym i inozynowym raczej może polegać na przybliżeniu cząsteczek reagujących ze sobą i polegać na działaniu podobnym, jak działanie jonów magnezowych.

II

Czy w mięśni szkieletowym oprócz systemu rozkładającego glikogen na kwas mlekowy znajduje się także i system hydrolizujący, przeobrażający glikogen w jednocukrowce lub dwucukrowce, jest jeszcze kwestją sporną.

Jeszcze Claude Bernard wiedział, że glikogen w mięśni nie rozpada się na cukrowce proste. Później utarł się pogląd, że glikogenoliza zamienia glikogen na cukrowce proste, a te dopiero ulegają dalszemu rozkładowi. Poglądy te opierają się na stwierdzeniu, że z glikogenu pod działaniem enzymów mięśniowych powstają ciała redukujące. Dziś wiemy, że te ciała redukujące to przeważnie estry fosforowe jednocukrowców, to jest ester Embdena. Dziś rzecznikiem teorii hydrolitycznego rozkładu glikogenu jest R. Willstätter.

K. Lohmann (12) w r. 1926, a następnie A. D. Barbour (2) wyizolowali po inkubacji glikogenu z fosforanami w wyciągu mięśniowym małe ilości kilkucukrowca, prawdopodobnie trójcukrowca, który wtedy był uważany za produkt hydrolizy glikogenu, a który dziś możemy pojmować inaczej. W cząsteczce glikogenu, oprócz wiązań między węglami 1 a 4, łączących 12 do 18 glukozy w łańcuchy (fragment takiego łańcucha podany jest jako wzór IV), są jeszcze — według Hawthortha (17) — wiązania między węglami 1 a 6 niektórych, nielicznych reszt glukozy. Staudin-

ger (25) przyjmuje ponadto jeszcze wiązania między węglami 1 a 2, 1 a 3. Wiązania te łączą poszczególne łańcuchy w cząsteczkę zawierającą około 2000 jednostek glukozowych. Jeżeli fosforoliza przerywa tylko wiązania między węglami 1 a 4, a pozostawia inne wiązania, to w ten sposób mogą z glikogenu po fosforolizie powstać nieufosforylowane kilkucukrowce.

Willstätter (26) przyjmuje istnienie w mięśniu amylazy i podaje hipotezę, że glikogen nie ulega fosforylacji wprost; że amylaza hydrolizuje glikogen na specjalną formę cukru, który dopiero ulega fosforylacji i przeobrażeniu w kwas mlekowy.

Willstätter w doświadczeniach na mięśniu pokrajanym lub na miazdze mięśniowej, przypisuje działaniu amylazy przyrost redukcji. Niepowstawanie kwasu mlekowego z dodanego glikogenu po parogodzinnej autolizy lub w zatruciu jodoctowym z równoczesnym zwiększeniem się redukcji tłumaczy jako zahamowanie przez oba te czynniki systemu glikogenolizy a aktywacją amylazy.

Tablica 9

Rozkład glikogenu w wyciągach dializowanych, bez dodania fosforanów, w obecności chlorku potasowego

Wodny wyciąg mięśniowy; autoliza: 8 godzin; dializa: 12 godzin; przechowanie w lodówce: 5 dni; zawartość fosforu wolnego: 9 mg ^g /%.		
Skład zacierów:		
a. 20 ml wyciągu,	1 ml 1NKCl,	8 ml 2,5% glikogenu w moderatorze weronalowym
b. „ „ „	„ „ „	8 ml. 2,5% glikogenu w M/3 moderatorze fosforanowym
Inkubacja w 20°, pH7		
	Ubytek glikogenu w procentach oznaczony nefelometrycznie	
Czas inkubacji	60 minut	90 minut
a	0	0
b	65	76

Dowody Willstättera na istnienie amylazy w mięśniu nie są ścisłe. Redukcja przypisywana cukrowcowi prostemu jest redukcją przez ester heksozo-jednofosforowy. Wartość redukcyjna estru Embdena oznaczona metodą Hagedorna i Jensena odpowiada 67%, metodą Bertranda 80% redukcji zawartego w nim cukru. Autoliza powoduje rozkład kwasu adenozynotrójfosforowego, koenzymu przemiany estru

Tablica 10

Rozkład glikogenu w wyciągu dializowanym, bez dodania fosforanów, w obecności chlorku sodowego

Wyciąg mięśniowy wodny; autoliza: 5 godzin, dializa: 22 godzin; zawartość fosforu nieorganicznego: 5 mg%.

Skład zacierów:

a.	20 ml wyciągu,	1 ml 1N NaCl,	5 ml wody,	2 ml M/3 mod. fosforanowego	2 ml glikogenu 2,7%
b.	"	"	16 mg kwasu adenilowego (M/685)	"	"
c.	"	1 ml wody	7 ml moderatora we-ronalowego	"	"
d.	"	1 ml 1 N NaCl	"	"	"

Inkubacja w 20°, pH 7

Zawartość glikogenu oznaczono metodą Pflügera. Do gorącego 60% wodorotlenku potasowego dodano równą objętość zacieru i ogrzewano przez godzinę we wrzącej łaźni wodnej. Po ochłodzeniu strącano glikogen alkoholem i przemywano alkoholem i eterem. Po odparowaniu eteru, wyizolowany glikogen hydrolizowano w 2,25% kwasie solnym przez trzy godziny, we wrzącej łaźni wodnej. Po zobojętnieniu oznaczano redukcją metodą Hagedorna i Jensena.

Czas inkubacji	mg glukozy po hydrolizie wyizolowanego glikogenu (w całości)			
	0	3 godz.	Różnica	Ubytek w %
a.	54,00	38,25	15,75	29
b.	53,50	12,625	40,875	75,5
c.	54,00	49,50	4,50	8,3
d.	54,00	51,50	3,50	6,5

Embdena w ester Hardena-Younga, i następnie nagromadzenie się estru Embdena. Kwas jodoctowy jest jadem reakcji oksydo-redukcyjnych, z którymi związane jest ufosforylowanie kwasu adenilowego i ester Embdena nagromadza się tak, jak w autolizowanych wyciągach.

Dla stwierdzenia, czy w mięśniu szkieletowym znajduje się amylaza, używałam wodnych wyciągów mięśniowych, dializowanych, o małej zawartości fosforanów; w wyciągach takich, bez dodania fosforanów, glikogen nie znika zupełnie (tablica 9) lub znika w małym stopniu (tablica 10); dodanie jonu chlorowego, aktywatora amylazy, jest bez wpływu. Wyniki

moich doświadczeń nie zupełnie zgadzają się z wynikami, które podał M y s t k o w s k i (18). Stwierdza on w wyciągach dializowanych ubytek glikogenu; rozkład glikogenu aktywowany jest przez jon chlorowy; tworzenie się substancji redukującej przewyższa możliwą fosforylację przez zawarte w wyciągu fosforany.

W doświadczeniu podanym w tablicy 9 nie ma rozkładu glikogenu w obecności jonu chlorowego, jeżeli nie ma fosforanów. W doświadczeniu w tabeli 10, rozkład glikogenu w obecności fosforanów aktywowany jest kwasem adenilowym; bez dodania fosforanów mały ubytek glikogenu (c) nie jest zwiększony po dodaniu chlorku sodowego (d).

Wyciągi mięśniowe nawet po długotrwałej dializie zawierają jeszcze fosforany wolne w ilości od 5 do 10 mg⁰%. Małych ubytków glikogenu stwierdzanych w takich wyciągach — bez dodania fosforanów — nie zwiększa dodanie jonu chlorowego (tablica 10). Rozkład glikogenu w obecności nawet małej ilości fosforanów i brak aktywacji przez jon chlorowy, wskazuje

Tablica 11

Działanie floryzyny na rozkład glikogenu przez amylazę ślinową i amylazę trzustkową

Amylaza ślinowa: przesączona ślina rozcieńczona dziesięciokrotnie wodą destylowaną		
Amylaza trzustkowa: 0,5% roztwór wodny preparatu Mercka.		
Skład zacierów:		
a.	4,8 ml amylazy, ślinowej	0,3 ml M/5, 0,4 ml wody, 1,5 ml 3,4% glikogenu w moderatorze weryonalowym
b.	„	0,4 ml floryzyny (M/87)
c.	4,8 ml amylazy, trzustkowej	0,4 ml wody
d.	„	0,4 ml floryzyny (M/87)
Inkubacja 90 minut w temperaturze 38°. Zawartość glikogenu oznaczona nefelometrycznie w przesączach trójchlorooctowych .		
		Ubytek glikogenu w %
Amylaza ślinowa	a.	81,5
	b.	80,0
Amylaza trzustkowa	c.	92,0
	d.	90,0

raczej na fosforolizę niż na hydrolizę. Aby uwolnić lub wykluczyć działania amylazy w wyciągach z mięśni szkieletowych, należało zupełnie zahamować działanie fosforolazy czynnikiem, który nie ma wpływu na amylazę.

Jadem specyficznym fosforolizy glikogenu jest floryzyna. Lundsgaard (15) zauważył wpływ floryzyny na powstawanie kwasu mlekowego w miazdze mięśniowej i wykazał, że działanie to polega na zahamowaniu fosforycji. Ostern, Guthke i Terszakowec (19) stwierdzili, że floryzyna w stężeniu 1/100 molarnym hamuje rozkład glikogenu na ester heksozo-jednofosforowy, a nie ma wpływu na powstawanie estru heksozo-dwufosforowego z estru jednofosforowego i kwasu adenozyotrójfosforowego.

Floryzyna nie działa na hydrolizę glikogenu przez amylazę. W zacierach, zawierających amylazę ślinową lub trzustkową chlorek sodowy i glikogen rozpuszczony w moderatorze weronalowym lub fosforanowym, stwierdzałam rozkład glikogenu równie szybki po dodaniu floryzyny, jak w próbach kontrolnych bez floryzyny. W tablicy 11 podane są wyniki takiego doświadczenia

Tablica 12

Rozkład glikogenu w wyciągu z mięśnia sercowego w zatruciu floryzynowym

Wyciąg wodny z mięśnia sercowego wołu; autoliza: 6 godzin; dializa: 16 godzin; zawartość fosforu nieorganicznego: 5 mg‰

Skład zacierów:

a.	20 ml wyciągu,	2,5 ml wody,	2 ml 3,84‰ glikogenu
b.	„	1 ml wody 1,5 ml floryzyny (M/120)	„
c.	„	1, ml 1N NaCl 1,5 ml floryzyny (M/120)	„

Inkubacja w 20°, pH 7

Czas inkubacji	Ubytek glikogenu w % oznaczony nefelometrycznie	
	2 godz.	5 godz.
a.	0	0
b.	0	0
c.	33	63

Wyciągi z mięśnia sercowego zawierają obok fosforolazy także i amylazę (1), która aktywuje się przez jon chlorowy i w nieobecności fosforanów hydrolizuje glikogen. W wyciągach z mięśnia sercowego floryzyna w obecności chlorku sodowego nie ma wpływu na rozkład hydrolityczny glikogenu (tablica 12)

Inaczej zachowują się wyciągi z mięśnia szkieletowego. Jeżeli w dializowanych wyciągach, bez dodania fosforanów, zahamuje się floryzyną i tak już słaby rozkład glikogenu, to dodanie jonu chlorowego jest bez wpływu, glikogen nie znika. Wyciągi takie, które po uzupełnieniu fosforanami rozkładają gładko glikogen, nie były poddawane żadnej inaktywacji, która mogłaby ewentualnie wpłynąć i na amylazę (tablica 13)

Tablica 13

Rozkład glikogenu w wyciągu z mięśnia szkieletowego w zatruciu floryzynowym

Wyciąg wodny z mięśnia szkieletowego; autoliza: 3 godziny; dializa: 17 godzin; zawartość fosforu nieorganicznego: 8 mg^{0/0}

Skład zacierów:

a.	10 ml wyciągu,	1,5 ml M/3 moderatora fosforanowego	1 ml 3,82% glikogenu
b.	"	1,5 ml wody	"
c.	"	1 ml wody	"
		0,5 ml floryzyny (M/125)	"
d.	"	1, ml 1 N NaCl	"
		0,5 ml floryzyny (M/125)	"

Inkubacja w 20°, pH 7

Tab. a	mg fosforu w całości			
	Czas inkubacji	0	90 minut	Ubytek fosforu w mg
a.		16,83	12,00	4,83
b.		0,815	0,575	0,24
c.		0,82	0,82	0
d.		0,81	0,82	0

Tab. b	Ubytek glikogenu w % po 90 minutowej inkubacji		
	Oznaczenie	Nef.	P
a.		85	66
b.		10	3,3
c.		0	0
d.		0	0

Floryzyna, która nie ma działania na amylazę ślinową trzustkową, i na amylazę zawartą obok fosforolazy w wyciągu z mięśnia sercowego, hamuje zupełnie rozkład glikogenu w wyciągach z mięśni szkieletowych i zahamowania tego nie można usunąć przez jon chlorowy, który aktywuje amylazę w wyciągu z mięśnia sercowego.

W doświadczeniach powyżej podanych nie stwierdziłam w wyciągach z mięśni szkieletowych królika, działania na glikogen, które można by przypisać amylazie. Glikogen ulega rozkładowi tylko w obecności fosforanów, rozkład ten hamuje floryzyna, na zahamowanie to nie wpływa jon chlorowy. Wynika z tego, że rozkład glikogenu w przemianach wstępnych polega tylko na fosforolizie.

Streszczenie

1. Aktywatorem fosforolizy obok kwasu adenilowego jest także i kwas inozynowy.

2. Aktywacja fosforolizy kwasem adenozyotrójfosforowym sprowadza się do aktywacji przez powstały w wyciągu z kwasu adenozyotrójfosforowego kwas adenilowy lub z kolei kwas inozynowy.

3. Pyrofosfataza rozkładająca kwas adenozyotrójfosforowy i znajdująca się w wyciągach nie ulega zniszczeniu przez autolizę, dializę i przez przechowanie wyciągu parę tygodni. Wyciągi nieczynne fosforolitycznie zawierają pyrofosfatazę.

4. Floryzyna nie hamuje działania hydrolizującego amylaz.

5. Rozkład glikogenu w procesach wstępnych polega tylko na fosforolizie.

LITERATURA

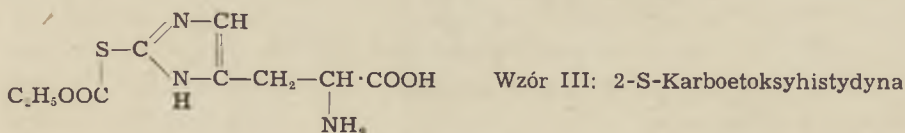
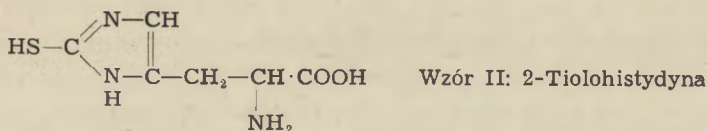
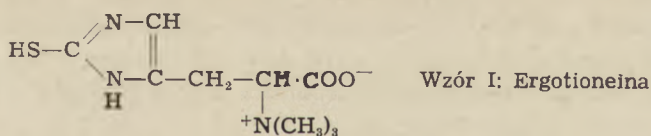
1. Augustin Z., *Z. physiol. Chem.* **255**, 61, 1938.
2. Barbour A. D., *J. Biol. Chem.* **85**, 29, 1926.
3. Cori C. F., Cori G. T., *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.* **34**, 702, 1936.
4. Cori G. T., Cori C. F., *Proc. Soc. Exper. Biol. Med.* **36**, 119, 1937.
5. Cori G. T., Colowick S. P. i Cori C. F., *J. Biol. Chem.* **123**, 381, 1938.
6. Fiske G. H., Subbarow Y., *J. Biol. Chem.* **66**, 375, 1925.
7. Kendal L. P., Stickland L. H., *Biochem. J.* **31**, 1758, 1937.
8. Kendal L. P., Stickland L. H., *Nature* **140**, 360, 1937.
9. Kendal L. P., Stickland L. H., *Biochem. J.* **32**, 572, 1938.
10. Kiessling W., *Biochem. Z.* **298**, 421, 1938.
11. Lehmann H., Needham D. M., *Biochem. J.* **31**, 329, 1937.
12. Lohmann K., *Biochem. Z.* **178**, 444, 1926.
13. Lohmann K., *Naturwiss.* **17**, 624, 1929.

14. Lohmann K., Annual Review of Biochemistry 7, 125, 1938, „*The chemistry and metabolism of the compounds of phosphorus*”.
15. Lundsgaard E., Biochem. Z. 264, 209, 1933.
16. Lundsgaard E., Annual Review of Biochemistry 7, 377, 1938. „*The biochemistry of muscle*”
17. Micheel F., Chemie der Zucker und Polysaccharide, 1939.
18. Mystkowski E. M. Acta Biol. Exp. 11, 197, 1937, Enzymologia 2, 152, 1937.
19. Ostern P., Guthke J. A., Terszakowec J., Z. physiol. Chem. 243, 9, 1936.
20. Ostern P., Hubl St., Acta Biol. Exp. 13, 89, 1939.
21. Parnas J. K., Baranowski T. C. R. Soc. Biol. 120, 307, 1935.
22. Parnas J. K., Mochnacka I. C. R. Soc. Biol. 123, 1173, 1936.
23. Pflueger E., Das Glykogen, 1905.
24. Reis J. L., Bull. Soc. Chim. Biol. 16, 385, 1934.
25. Staudinger H. Naturwiss. 25, 674, 1937.
26. Willstätter R., Rohdewald M., C. R. du Lab. Carlsberg, Sér. Chim. 22, 553, 1937.

TADEUSZ MANN

Ergotioneina, jej występowanie i rola w przyrodzie

Odkrywcą ergotioneiny w przyrodzie był badacz francuski Tanret (41), który wyosobnił tę substancję w roku 1909 ze sporyszu (ergot, *Claviceps purpurea*) i wykazał, że jej skład chemiczny odpowiada wzorowi: $C_9H_{15}N_3O_2S$. W dwa lata później Barger i Ewins (2) wykazali, że ergotioneina jest betainą tiolohistydyny (wzór I) i zawiera siarkę w formie łatwo odszczepialnej, która przechodzi pod wpływem odczynników utleniających, jak np. woda bromowa lub chlorek żelazowy, w wolny kwas siarkowy. Łatwość, z jaką można odszczepić siarkę, odróżnia ergotioneinę od dwóch innych związków siarkowych występujących w przyrodzie, a mianowicie cysteiny i glutanonu, i stanowi ona podstawę jednej z metod używanych do różnicowego i ilościowego oznaczania ergotioneiny (5, 42). Ostateczny dowód na strukturę chemiczną ergotioneiny przeprowadzili dopiero kilka lat temu Heath, Lewson i Rimington (11, 12), którym to badaczom udało się sporządzić ergotioneinę syntetyczną z tiolohistydyny.



Zasadnicze kroki w tej syntezie były (i) przekształcenie tiolohistydyny (wzór II) w 2-S-karboetoksyhistydynę (wzór III); (ii) metylowanie za pomocą jodku metylowego, w obecności tlenku srebra, na związek srebrowy betainy 2-S-karboetoksyhistydyny; (iii) hydroliza i dekarboksylacja tegoż związku, w obecności 3 N kwasu solnego; (iv) usunięcie srebra z roztworu za pomocą siarkowodoru, i strącenie wolnej ergotioneiny w formie związku z kwasem fosforowolframowym; i (v) przemiana w związek barowy, z następowym usunięciem baru i strąceniem wolnej ergotioneiny w formie krystalicznej za pomocą etanolu.

Tiolohistydyna jako taka nie została dotychczas nigdy odnaleziona w przyrodzie, a otrzymać ją można wyłącznie drogą syntezy chemicznej (1, 10). Co więcej, tiolohistydyna nie działa w ustroju zwierzęcym jako czynnik wzrostowy i nie można jej użyć do zastąpienia histydyny (37). Podana zwierzęciu w pokarmie wydziela się przeważnie w moczu, w formie niezmienionej (13).

Sporysz, z którego można otrzymać ergotioneinę w ilościach od 65 do 260 mg/100 g (6, 23, 39), uchodził aż do roku 1925 za jedyne źródło ergotioneiny w przyrodzie. W tym to roku jednak *Hunter i Eagles* (21) izolowali z krwinek świni substancję krystaliczną, którą nazwali „sympectothion” (22) i która, choć nie identyczna z kwasem moczowym, wykazała właściwości podobne do kwasu moczowego, dając identyczne reakcje barwne z kwasem fosforowolframowym i arsenofosforowolframowym. Niezależnie od tych autorów inna grupa badaczy amerykańskich, a mianowicie *Benedict, Newton i Behre* (3), uzyskała z krwi substancję o własnościach podobnych. Ta druga substancja, nazwana „thiasin”, okazała się wkrótce nie tylko identyczna ze sympectothionem, ale jednocześnie także z dawną już znaną ergotioneiną (7, 38). Badania dalsze wykazały, że ergotioneina krwi (niekiedy nazywana też w literaturze amerykańskiej „thioneine”) znajduje się tylko wewnątrz ciałek czerwonych, a brak jej zupełnie w osoczu lub surowicy. Do ilościowego oznaczania ergotioneiny we krwi używa się obecnie najczęściej metody kolorymetrycznej *Huntera* (18, 19, 24), opartej na reakcji dwuazowej. Zawartość ergotioneiny we krwi jest znacznie niższa niż w sporyszu; waha się ona od 1,8 do 1,95 mg/100 ml u człowieka; od 1,3 do 3,1 mg/100 ml u szczura; i od 2,0 do 26,5 mg/100 ml u świni (20).

Przed kilku laty udało się nam stwierdzić w współpracy z badaczem włoskim *Enzo Leone*, że w ustroju zwierzęcym istnieje oprócz krwi drugie jeszcze, i to znacznie bogatsze źródło ergotioneiny, a mianowicie w osoczu nasienia świni (25, 32). Przez szereg lat poprzedzających odkrycie ergotioneiny w nasieniu męskim wiadome było, że osocze nasienia zarówno człowieka jak i różnych zwierząt zawiera składnik niebiałkowy, który ma zdolność do redukowania na zimno zarówno azotanu srebra jak i 2 : 6-dwuchlorofenolindofenolu. W braku jednak dokładniejszych danych o istocie che-

micznej tegoż składnika uważano go powszechnie za kwas askorbinowy, który jak to wiadomo, posiada podobne właściwości redukujące (4). Celem stwierdzenia identyczności redukującej substancji w nasieniu podjęliśmy próbę izolacji z nasienia knura. Do wyboru tego zwierzęcia skłonił nas fakt, że ejakulatory knura cechuje wyjątkowo duża objętość, a mianowicie od 150 do 500 ml. W trakcie oczyszczania zauważyliśmy, że równoległe ze zdolnością do redukcji azotanu srebra i dwuchlorofenoloindofenolu wzrasta proporcjonalnie zawartość siarki związanej w formie organicznej. Przekonaliśmy się jednak natychmiast, że siarka ta nie pochodzi ani od cysteiny, ani od glutationu, gdyż obecna jest w formie bardzo labilnej, przechodzącej łatwo w kwas siarkowy. Kiedy wykonaliśmy reakcję dwuazową, wypadła ona dodatnio, a w miarę dalszego oczyszczania substancji, otrzymaliśmy preparaty, w których zawartość siarki była proporcjonalna do intensywności odczynu dwuazowego. Wszystkie te dane przemawiały za tym, że substancja redukująca zawarta w nasieniu knura nie jest kwasem askorbinowym, tak jak to mylnie przypuszczali dawni badacze, lecz jest identyczna z ergotioneiną. Przypuszczenie to okazało się słuszne i dalsze oczyszczanie doprowadziło w końcu do wyosobnienia krystalicznej substancji o składzie identycznym z ergotioneiną, a więc $C_9H_{15}N_3O_2S$. Czystość preparatu przekryształizowanego kilkakrotnie (z etanolu) potwierdzona została przez porównanie z ergotioneiną syntetyczną, a analiza chromatograficzna nie wykazała obecności jakichkolwiek aminokwasów dających odczyn ninhydrynowy, a także nie ujawniła jakichkolwiek innych związków siarkowych. Nadmienić należy, że ergotioneina, choć spokrewniona chemicznie z aminokwasami, nie daje odczynu z ninhydryną, gdyż jej grupa aminowa nie jest wolna. Z tej to przyczyny zapewne obecność ergotioneiny w nasieniu uchodziła przez tak długi czas uwadze różnych badaczy, którzy posługiwali się przy chromatografii nasienia odczynem ninhydrynowym.

Przy dokładniejszym badaniu (32) okazało się, że ergotioneina nasienia, w odróżnieniu od ergotioneiny krwi, ma charakter składnika zewnątrzkomórkowego, a komórki plemnikowe nie zawierają jej zupełnie. Źródłem ergotioneiny w ustroju knura okazały się pęcherzyki nasienne (*vesicae seminales*). Są to duże narządy wypełnione zwykle obfitą, kleistą wydzieliną o objętości stu lub kilkuset mililitrów. Wydzielina ta zawiera oprócz ergotioneiny także fruktozę (27), kwas cytrynowy (17) i inozytol (28, 29). Cechuje się ona tym, że podczas ejakulacji wypływa nieco później niż plemniki i stanowi tzw. poplemnikową frakcję nasienia (8, 31). W próbkach wydzieliny pęcherzyków nasiennych pobranych od dwudziestu różnych knurów znaleźliśmy od 29 do 256 mg/100 ml; przeciętna wartość wynosiła 79 mg/100 ml.

Knur nie jest bynajmniej jedynym zwierzęciem, u którego ergotioneina występuje w nasieniu. Szczególnie wysokie stężenie ergotioneiny cechuje również nasienie ogiera (33), a ostatnio udało się nam także stwierdzić obe-

ność pokąźnych ilości ergotioneiny w wydzielinach z męskich gruczołów dodatkowych dwóch zwierząt owadożernych, a mianowicie kreta i jeża (30). Nasienie człowieka zawiera ergotioneiny bardzo niewiele, a nasienie byka zaledwie ślady. Wysoka zdolność redukująca osocza nasiennego byka względem azotanu srebra i dwuchlorofenolindofenolu pochodzi głównie od kwasu askorbinowego, o czym można się przekonać używając metody dwunitrofenilohydrazynowej (32, 40).

Biosynteza ergotioneiny w ustroju zwierzęcym. Jak dotąd, brak jest dowodu na to, że ustrój zwierzęcy ma zdolność do biosyntezy ergotioneiny, a wszystkie ostatnio wykonane doświadczenia wskazują raczej, że ergotioneina krwinek i osocza nasiennego jest pochodzenia egzogenego. Przemawiają za tym przede wszystkim doświadczenia wykonane nad wpływem pokarmu na poziom ergotioneiny we krwi i w nasieniu. Z naszych doświadczeń wynika, że ergotioneina syntetyczna, zawierająca siarkę radioaktywną, wydziela się w stanie niezmienionym w osoczu nasionnym knura (13). Po podaniu metioniny opatrzonej grupą sulfhydrylową radioaktywną zjawia się wprawdzie w nasieniu związek siarkowy, zawierający siarkę w formie łatwo odszczepialnej, i zachowujący się chemicznie bardzo podobnie do ergotioneiny, ale nie jest on identyczny z ergotioneiną; krystaliczna ergotioneina sporządzona z nasienia knura żywnego pokarmem z domieszką radioaktywnej metioniny jest pozbawiona radioaktywności (14, 36).

Choć ustrój zwierzęcy, jak się wydaje, jest pozbawiony zdolności do tworzenia własnej ergotioneiny, ma on dużą zdolność do przyswajania ergotioneiny podanej w pokarmie, a także do przetwarzania pewnych substancji pokarmowych na ergotioneinę. Na razie brak jednak dokładniejszych danych dotyczących istoty chemicznej „prekursora” ergotioneiny. W roku ostatnim pojawiło się natomiast kilka prac nad mechanizmem tworzenia się ergotioneiny w sporyszu. Prace te wykazały, że biosynteza ergotioneiny przebiega gładko w kulturach *Claviceps purpurea*. Heath i Wildy (15, 16) wykazali, że octan zawierający węgiel radioaktywny zużyty zostaje przez kulturę *C. purpurea* na syntezę histydyny i ergotioneiny. Według tych autorów ergotioneina tworzy się prawdopodobnie drogą metylacji histydynolu (alkoholu wywodzącego się od histydyny) i następowego utlenienia betainy. Tym samym autorom udało się również wykazać, że *C. purpurea* ma zdolność do przetwarzania grupy sulfhydrylowej zawartej w metioninie na grupę sulfhydrylową ergotioneiny. Nie oznacza to naturalnie, że metionina jest bezpośrednim dawcą siarki ergotioneiny, a istnienie związku pośredniego między metioniną i ergotioneiną jest wysoce prawdopodobne. Z ostatnich prac Melville' a i jego współpracowników (34, 35), wynika, że zdolność do biosyntezy ergotioneiny nie jest ograniczona do *C. purpurea*, lecz że posiadają ją również inne grzybki, a w szczególności *Neurospora crassa*. Auto-

rowie ci wykazali, że w odróżnieniu od (2- ^{14}C)-L-histydyny, która zamienia się w pleśni na (^{14}C)-ergotioneinę, tiolohistydyna zawierająca radioaktywny węgiel nie może służyć jako podłoże do syntezy ergotioneiny. Ci sami badacze wykazali również, że z metioniny zawierającej ^{14}C w grupach metylo- wych tworzy się w kulturach pleśni (^{14}C)-ergotioneina, zawierająca węgiel radioaktywny całkowicie w postaci grup metylo- wych.

Czynność fizjologiczna. Nasze doświadczenia dotyczące funkcji ergotioneiny w nasieniu zwierzęcym wskazują, że grupy SH ergo- tioneiny, dzięki swojej zdolności redukującej, są w stanie działać redukująco na grupy SH zawarte w białku wewnątrzkomórkowym plemników. Z dru- giej strony wiadomo dobrze, że ruchliwość plemników zależna jest ściśle od tego, czy ich białka wewnątrzkomórkowe znajdują się w stanie zreduko- wanym tzn. w formie sulfhydrylowej. Wszelkie odczynniki, które łączą się z grupami SH, lub które utleniają te grupy na S-S, działają na plemniki zabójczo, pozbawiając je ruchliwości. Tłumaczy, to dlaczego substancje tego rodzaju, jak niektóre związki organiczne rtęci, posiadają zdolność inakty- wowania plemników. Podobnie działają również kwas jodooctowy, kwas jodosobenzoesowy i woda utleniona. Z naszych doświadczeń wynika, że ergotioneina ma zdolność „chroniącą” względem plemników, tj. dodana do nasienia chroni ona plemniki przed działaniem substancji inaktywujących grupy sulfhydrylowe (32). Inną ciekawą czynność ergotioneiny zaobserwo- wali niedawno G r o s m a n i K a p l a n (9). Przekonali się oni, że czyn- ność oczyszczonej „DPN-azy” czyli enzymu sporządzonego z krwinek, który cechuje się zdolnością odszczepiania amidu kwasu nikotynowego z nukleo- tydu dwufosfopirydynowego (kozymazy), daje się zahamować za pomocą amidu kwasu nikotynowego tylko wtedy, gdy dodano ergotioneiny. Stąd też preparaty „DPN-azy” krwinkowej, z których usunięto ergotioneinę przez oczyszczenie, nie są wrażliwe na hamujący wpływ amidu kwasu niko- tynowego.

Do całkowitego wyjaśnienia roli ergotioneiny w ustroju droga jest praw- dopodobnie daleka i brak również jeszcze danych dotyczących mechanizmu przemian enzymatycznych, którym ergotioneina podlega w wątrobie i w in- nych tkankach. Wydaje się jednak prawdopodobne, że pierwszy krok w przemianie ergotioneiny stanowi utlenienie grup sulfhydrylowych, za- tem przemiana związku zredukowanego, cechującego się obecnością grup SH, na związek utleniony zawierający grupy -S-S.

Zdolność ustroju męskiego do wydzielania ergotioneiny w nasieniu za- leżna jest od obecności hormonu płciowego męskiego. Znika ona zupełnie po usunięciu jąder, a powraca szybko po wstrzyknięciu testosteronu. Nie jest rzeczą wykluczoną, że zdolność tworzenia się ergotioneiny szpiku kost- nego i krwinek zależna jest również w pewnej mierze od obecności hormo- nów płciowych. Wskazują na to ostatnie doświadczenia nad zachowaniem

się ergotioneiny we krwi szczura (26), które wykazały, że samce posiadają dużo wyższy poziom ergotioneiny we krwi aniżeli samice, i że poziom we krwi samic można znacznie podwyższyć przez zastrzyki testosteronu.

LITERATURA

1. Ashley J. N., Harington C. R., *J. Chem. Soc.* 2586, 1930.
2. Berger G., Ewins A. J., *J. Chem. Soc.*, 99, 2336, 1911.
3. Benedict S. R., Newton E. B., Behre J. A., *J. Biol. Chem.*, 67, 267, 1926.
4. Berg O. C., Huggins C., Hodges C. V., *Amer. J. Physiol.*, 136, 467, 1941.
5. Blumenthal D., Clarke H. T., *J. Biol. Chem.*, 110, 343, 1953.
6. Eagles B. A., *J. Amer. Chem. Soc.*, 50, 1386, 1928.
7. Eagles B. A., Johnson T. B., *J. Amer. Chem. Soc.*, 49, 575, 1927.
8. Glover T., Mann T., *J. Agric. Sci.*, 44, 355, 1954.
9. Grossman L., Kaplan N. O., *J. Amer. Chem. Soc.*, 78, 4175, 1956.
10. Harington C. R., Overhoff J., *Biochem. J.*, 27, 338, 1933.
11. Heath H., Lawson A., Rimington C., *Nature, Lond.*, 166, 106, 1950.
12. Heath H., Lawson A., Rimington C., *J. Chem. Soc.*, 2215, 1951.
13. Heath H., Rimington C., Glover T., Mann T., Leone E., *Biochem. J.*, 54, 606, 1953.
14. Heath H., Rimington C., Mann T., *Biochem. J.*, 65, 369, 1957.
15. Heath H., Wildy J., *Biochem. J.*, 63, IP, 1956.
16. Wildy J., Heath H., *Biochem. J.*, 64, 612, 1956.
17. Humphrey G. F., Mann T., *Biochem. J.*, 44, 97, 1949.
18. Hunter G., *Biochem. J.*, 22, 4, 1928.
19. Hunter G., *Canad. J. Res. E.* 27, 230, 1949.
20. Hunter G., *Biochem. J.* 48, 265, 1951.
21. Hunter G., Eagles B. A., *J. Biol. Chem.* 65, 623, 1925.
22. Hunter G., Eagles B. A., *J. Biol. Chem.*, 72, 123, 1927.
23. Hunter G., Molnar G. D., Wright N. J., *Canad. J. Res. E.* 27, 226, 1949.
24. Lawson A., Morley H. V., Woolf L. I., *Nature, Lond.*, 167, 82, 1951.
25. Leone E., Mann T., *Nature, Lond.*, 168, 205, 1951.
26. Mackenzie J. B., Mackenzie C. G., *J. Biol. Chem.*, 225, 651, 1957.
27. Mann T., *Biochem. J.*, 40, 481, 1946.
28. Mann T., *Nature, Lond.*, 168, 1043, 1951.
29. Mann T., *Proc. Roy. Soc. B.* 142, 21, 1954.
30. Mann T., *Rec. Progr. Horm. Res.*, 12, 353, 1956.
31. Mann T., Glover T., *J. Endocrinol.*, 10, iv, 1954.
32. Mann T., Leone E., *Biochem. J.*, 53, 140, 1953.
33. Mann T., Leone E., Polge C., *J. Endocrinol.*, 13, 279, 1956.
34. Melville D. B., Eich S., Ludwig M., *J. Biol. Chem.*, 224, 871, 1957.
35. Melville D. B., Genghof D. S., Inamine E., Kovalenko V., *J. Biol. Chem.* 223, 9, 1956.
36. Melville D. B., Otken C. C., Kovalenko V., *J. Biol. Chem.*, 216, 325, 1955.
37. Neuberger A., Webster T. A., *Biochem. J.*, 40, 576, 1946.
38. Newton E. B., Benedict S. R., Dakin H. D., *Science*, 64, 602, 1926.
39. Pirie N. W., *Biochem. J.*, 27, 202, 1933.
40. Roe J. H., Kuether C. A., *J. Biol. Chem.*, 147, 339, 1943.
41. Tenret C., *J. Pharm. Chim. Paris*, 30, 145, 1909.
42. Touster O., *J. Biol. Chem.*, 188, 371, 1951.

warunkiem wybiórczości jest tu swoista struktura estrów (nukleotydów) nukleozydo-5-fosforowych, a mianowicie związanie fosforu z piątym węglem pentozy. Stąd powstała nazwa zaproponowana przez profesora *Parناسа*: 5-nukleotydaza (*Reis* 18, 19).

W ostatnich czasach zagadnienie wybiórczości 5-nukleotydazy zostało opracowane przez *Heppela* i *Hilmoe*'go (6). Przebadałi oni kilka dotychczas nie badanych pod tym względem nukleotydów „5-fosforowych”, potwierdzając dotychczasowe wyniki wskazujące na wybitną wybiórczość tego enzymu. Nawet wywodzące się z kwasu adenilowego estry adenozyino-5-trójfosforowy lub adenozyino-5-dwufosforowy już nie podlegają działaniu 5-nukleotydazy (tabl. 1); to samo tyczy się estru rybozo-5-fosforowego.

Tablica 1

Wybiórczość 5-nukleotydazy

Ester	Reis (23) (pH 7.5)		Heppel i Hilmoe (6) (pH 8.5)	
	biała substancja mózgu bydlęcego	część korowarnerki bydlęcej	osocze płynu nasiennego bydlęcego	
			surowe	preparat oczyszczony
cytydino-5-fosforowy	—	—	250	268
urydino-5-fosforowy	—	—	227	220
inozyno-5-fosforowy	120	100	115	113
adenozyino-5-fosforowy	100	100	100	100
nikotamidorybozo-5-fosforowy	—	—	70	67
adenozyino-3-fosforowy	2.0	—	0.2	0.004
gwanozyno-3-fosforowy	—	—	0.4	0.01
adenozyino-5-trójfosforowy	16	—	2.8	0.39
adenozyino-5-dwufosforowy	—	—	7.6	0.9
rybozo-5-fosforowy	—	—	1.3	0.8
glukoza-6-fosforowy	2.0	—	0.7	0.01
fruktozo-1,6-dwufosforowy	14	—	0.3	0.01
α glicerofosforowy	1.1	145	—	—
β glicerofosforowy	2.9	172	0.7	0.004
kwas pyrofosforowy	1.7	—	0.2	0.004

Wyniki powyższe podano w skali porównawczej, przyjmując dla kwasu adenilowego „mięśniowego” (adenozyino-5-fosforowego) wartość 100.

Wyciąg substancji białej mózgu zawiera pewną ilość fosfatazy niewybiórczej; osocze płynu nasiennego bydlęcego ma tylko bardzo nieznaczną ilość tego enzymu. Wyciąg z korowej części merki bydlęcej podano tu jako przykład działania fosfatazy niewybiórczej (alkalicznej), wolnej od 5-nukleotydazy.

Metodyka oznaczeń

Niestety nie jesteśmy w stanie oznaczyć aktywności 5-nukleotyduzy bezpośrednio, a to z tego powodu, że jej podłoże: nukleotydy „5-fosforowe” są także rozkładane przez niewybiórczą fosfatazę. Wobec tego musimy zawsze porównywać wyniki otrzymane przy użyciu jakiegoś nukleotydu „5-fosforowego”, np. kwasu adenilowego lub inozynowego, z wynikami otrzymanymi dla jakiegoś innego estru fosforowego, np. fenylofosforanu lub glicerofosforanu. Różnica między tymi dwiema wartościami odpowiada w przybliżeniu działaniu 5-nukleotyduzy. Oczywiście metoda ta nie jest dokładną; wiadomo, że fosfataza niewybiórcza działa w różnym stopniu na różne estry fosforowe, więc też otrzymane wyniki możemy uważać tylko jako przybliżone.

W moich doświadczeniach porównując aktywności rozmaitych tkanek, wykonywałem oznaczenia w pH 7,5. Optymalne pH 5-nukleotyduzy nie odbiega daleko od tego oddziaływania. Fosfataza niewybiórcza ma w tym oddziaływaniu bardzo niską aktywność, dzięki czemu nie przysłania aktywności 5-nukleotyduzy. Porównanie aktywności obydwóch tych enzymów w fizjologicznym oddziaływaniu wydaje się bardzo ważne jeśli chodzi o ich znaczenie w organizmie.

5-Nukleotyduza zarówno jak i fosfataza działają w pewnych granicach prawie niezależnie od stężenia podłoża i proporcjonalnie do czasu reakcji i do ilości enzymu. Dzięki temu też można przeliczać wyniki różnych doświadczeń celem otrzymania czegoś w rodzaju jednostek działania enzymu. Wygodnie jest obliczać ilość μgP fosforanu odszczepionego przez działanie wyciągu z jednego mg tkanki w ciągu 1 godziny, pH 7,5, t. 38°. W ten sposób doświadczenia wykonane z różną ilością wyciągu tkankowego i w różnych czasach inkubacji można ze sobą porównywać. Oczywiście unikać należy zbyt dużej hydrolizy podłoża nie przekraczając 50%.

Wyciągi tkankowe sporządzano pozostawiając drobno zmieloną („homogenised”) tkankę z 10- lub 20-krotną ilością wody i kilkoma kroplami chloroformu przez 2 doby w temperaturze pokojowej. Po odwirowaniu części nierozpuszczalnych otrzymany wyciąg używano do oznaczeń aktywności enzymów.

Szczegóły moich oznaczeń są następujące:

Do próbówki zawierającej 1.6 ml 0.05 M moderatora weronałowego o pH 7,5, i 0.2 ml 0.01 M roztworu podłoża (pH 7.5) tj. kwasu adenilowego lub fenylofosforanu sodowego, umieszczonej w termostacie wodnym o t. 38°, dodawano 0,2 ml wyciągu tkankowego. Po upływie czasu inkubacji (zwykle 15 do 60 min.) dodawano 4 ml 5% kwasu trójchlorooctowego i powstały osad odwirowywano. Płyn przelewano do innej próbówki i oznaczano w nim wolny fosforan metodą kolorymetryczną Fiske i Subbrowa.

Tablica 2
Występowanie 5-nukleotyduzy Reis (20,21,22)

	Człowiek		Koń		Cieleń		Pies		Królik		Szczur		Kura		Gołąb		Żaba	
	I	G	I	G	I	G	I	G	I	G	I	G	I	G	I	G	I	G
Nerw obwodowy	2.4	0.02	1.2	0.04	8.1	0.07	—	—	1.5	0.01	—	—	—	—	—	—	—	—
Mózg: biała subst.	—	—	0.05	0.0	10.4	0.9	1.3	0.16	0.9	0.04	—	—	—	—	—	—	—	—
Mózg: szara subst.	3.4	0.15	0.2	0.1	2.1	0.1	2.2	0.1	0.7	0.1	1.8	0.06	0.4	0.3	0.2	0.1	1.2	0.04
Płuca	—	—	1.2	0.04	2.9	0.03	2.1	0.17	1.9	0.5	5.4	0.2	0.6	0.2	3.1	0.0	0.5	0.2
Wątroba	0.5	0.6	—	—	2.2	0.3	0.5	0.6	0.3	0.2	3.9	1.2	—	—	—	—	2.0	1.9
Nerka: część korowa	0.6	0.14	5.9	1.9	0.5	0.6	0.8	1.0	0.5	0.9	4.2	0.9	0.6	0.6	0.6	1.1	1.8	2.0
Jelito cienkie	—	—	—	—	1.5	0.5	2.9	2.0	2.8	2.0	3.4	0.3	—	—	—	—	—	—
Mięsień sercowy	1.2	0.08	1.8	0.005	0.1	0.1	0.2	0.006	0.1	0.005	6.4	0.2	2.5	0.1	0.1	0.1	3.2	1.8
Mięsień szkieletowy	0.2	0.0	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.01	0.1	0.001	1.3	0.1	0.16	0.13	0.04	0.0	0.01	0.0
Jądro	7.7	0.2	—	—	109.0	0.5	—	—	20.7	0.3	—	—	—	—	—	—	—	—
Łożysko	7.9	1.6	—	—	—	—	—	—	2.7	2.2	—	—	—	—	—	—	—	—
Siałkówka	—	—	1.5	0.1	6.2	0.2	—	—	1.4	0.1	—	—	—	—	0.16	0.15	—	—
Naczyniówka	—	—	1.7	0.05	3.4	0.1	—	—	7.6	0.3	—	—	—	—	0.40	0.36	—	—
Surowica	0,0039	0,0008	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

W powyższej tablicy podano działanie zawiesin tkankowych na kwas inozynowy (I) tj. inozyno-5-fosforowy i ma kwas 6 glicerofosforowy (G). Różnica pomiędzy tymi wartościami (I—G) odpowiada działaniu 5-nukleotyduzy.

Wymiki zostały podane (po przelozeniu) pod postacią ilości μgP forsforanu odzszepionego w ciągu 1 godziny (t. 38°, pH 7-5) przez działanie 1 mg tkanki.

Dla otrzymania barwy dodawano 0.2 ml 10% molibdenianu amonowego w 30% (obj.) kwasie siarkowym i 0.1 ml 0.2% kwasu aminonaftolosulfonowego w 12% kwaśnym siarczynie sodowym i 2.4% siarczynie sodowym (kryst.). Probówkę wstawiano na 10 min. do termostatu wodnego o t. 38°, poczem oznaczano intensywność barwy fotometrem.

Występowanie

Działanie 5-nukleotydyazy najpierw było opisane w mięśniach sercowych. Za sugestią Ostera przeprowadzono dalsze badania na tkance mózgowej, rozszerzając je później i na inne tkanki zwierzęce. Jak widać z tablicy 2 i 3 (Reis 20, 21, 22, 24), występowanie 5-nukleotydyazy jest bardzo nierównomierne. Dotychczas nie udało się ustalić żadnych reguł. Różnice między zwierzętami są bardzo wielkie. Zwraca uwagę fakt, że w tkankach, które dotychczas uważano za typowe dla niewybiórczej fosfatazy, 5-nukleotydyaza często także występuje, mając w fizjologicznym oddziaływaniu aktywność często dużo większą od fosfatazy. Dla przykładu można wymienić z tkanek ludzkich część korową nerki, chrząstkę kostniejącą (rys. 2) albo splety naczyńniaste mózgu. Wydaje się, że istnieją pewne gatunki zwierząt, ogólnie biorąc, obfitujące w 5-nukleotydyazę, jak np. szczur, u którego

Tablica 3

Występowanie 5-nukleotydyazy w tkankach ludzkich Reis (24)

	A	F		A	F
Nerw obwodowy	2.6	<0.1	Naczyniówka	1.8	0.3
Mózg (kora)	1.3	0.2	Splety naczyńniaste	3.2	0.6
Siatkówka	2.2	<0.1	Ściana aorty	2.5	<0.03
Wątroba	0.9	0.1	Jądro	3.8	0.1
Nerka (cz. korowa)	1.2	0.5	Tarczycza	4.9	0.05
Płuca	1.2	0.2	Przysadka		
Jelito czcze	0.6	0.4	(cz. przednia)	4.2	0.2
Łożysko	3.9	1.3	Przysadka		
			(cz. tylna)	21.2	0.6
			Chrząstka kostniejąca	3.7	1.2

W powyższej tablicy podano działanie wyciągów tkankowych na kwas adenilowy (A), tj. adenozylo-5-fosforowy, i na kwas fenylo-fosforowy (F). Różnica pomiędzy tymi wartościami (A — F) odpowiada działaniu 5-nukleotydyazy.

Wyniki zostały podane (po przeliczeniu) pod postacią ilości μgP fosforanu od-szczepionego w ciągu jednej godziny (t. 38°, pH 7.5) przez działanie wyciągu odpowiadającego 1 mg tkanki.

enzym ten jest wysoce aktywny we wszystkich tkankach. Ze zwierząt posiadających raczej niewiele tego enzymu wymienić można gołębia, u którego 5-nukleotydazę stwierdzono tylko w tkance płucnej. Nie ma tu jednak pod tym względem wyraźnego podziału i poza podanymi skrajnymi przypadkami można znaleźć wszelkie formy przejściowe.

Gulland i Jackson (5) stwierdzili wysoce aktywną 5-nukleotydazę w jadzie niektórych węzłów. Mann (9) znalazł dużo 5-nukleotydaży w osoczu bydłęcego płynu nasiennego. Reis (24) przebadał dokładniej tkanki ludzkie, znajdując 5-nukleotydazę prawie wolną od fosfatazy w ścianie aorty (rys. 1) i w gruczole tarczowym (tab. 2). Najmocniejsza 5-nukleotydaza w tkankach ludzkich występuje w tylnej części przysadki mózgowej. Ta wysoka aktywność tylnej części przysadki ma miejsce tylko u człowieka. Jak wynika z dotychczasowych badań, nie można tego samego stwierdzić u zwierząt. Dixon i Purdom (3) badali obecność 5-nukleotydaży w surowicy ludzkiej, porównując ją z fosfatazą niewybiórczą. Aktywność obydwóch enzymów narasta w żółtacze zastoinowej. W chorobach kości, jak w krzywicy lub chorobie Pageta, narasta tylko aktywność fosfatazy.

Własności

Wpływ oddziaływania

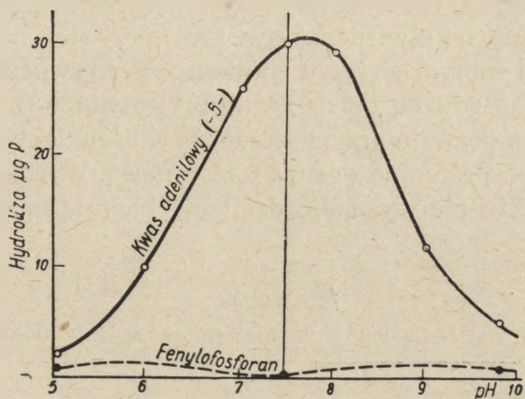
Już pierwsze badania nad 5-nukleotydażą wskazały na jej odmienne od fosfatazy zachowanie się wobec tężenia jonów wodorowych. Jej działanie jest optymalne w bliskości pH 8.0 (rys. 1). Optimum pH waha się nieco zależnie od gatunku zwierzęcia. Dla tkanek ludzkich wynosi pH 7.8. Charakterystycznym jest dla 5-nukleotydaży, że enzym ten jest zawsze wysoce aktywny w bliskości pH 7.5, tj. w fizjologicznym oddziaływaniu, w przeciwieństwie do fosfatazy, zarówno alkalicznej jak i kwaśnej, które mają bardzo słabe działanie w tym pH. Tyczy się to w szczególności fosfatazy alkalicznej, której działanie przy pH 7.5 wynosi czasami tylko 5% jej aktywności w jej optimum przy pH 9.5 (rys. 2).

Działanie jonów i mechanizm reakcji

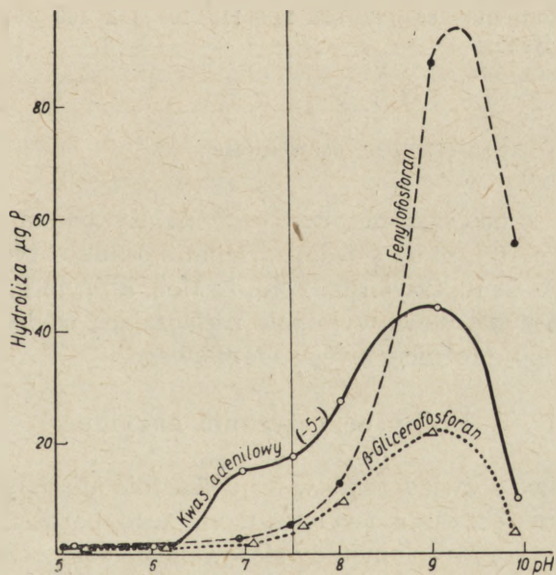
Magnez, który jak wiadomo jest aktywatorem fosfatazy alkalicznej, aktywuje tylko nieznacznie 5-nukleotydażę, a czasami nawet nie działa na nią zupełnie. Ciekawym jest natomiast, że mangan aktywuje 5-nukleotydażę w dużym stopniu. Stężenie manganu 0.001 M daje podwyższenie aktywności od 130% do 160% (tabl. 3).

Z jonów hamujących bardzo wyraźne działanie mają cynk i nikiel (tabl. 4). Jony te nie działają hamująco na fosfatażę niewybiórczą, a nikiel

nawet aktywuje ją w słabym stopniu w mocniejszych stężeniach (A h m e d i R e i s 1957, dane dotychczas nie ogłoszone).



Rys. 1. Wpływ oddziaływania na 5-nukleoty-
dazę
Dializowany wyciąg ze ściany aorty człowieka:
25 mg tkanki, 30 minut, 38°, (Biochem. J. 48, 550,
1951).



Rys. 2. Działanie hydrolytyczne chrząstki kostnej
człowieka

Wyciąg odpowiadający 8 mg tkanki, 30 minut, 38°
(Biochem. J. 48, 550, 1951).

Sprawa hamowania 5-nukleotydyazy fosforanami może rzucić pewne światło na mechanizm działania tego enzymu. Jak wiadomo, fosforany dzia-

łają wybitnie hamująco na fosfatazę alkaliczną („competitive inhibition”). Jest to zapewne spowodowane tym, że łączą się one z grupą czynną fosfatazy. Otóż w przypadku 5-nukleotydyazy to zjawisko nie występuje. W warunkach wykonanych doświadczeń (jw. 1957) przy stężeniu podłoża 0.001 M fosforany w tym samym stężeniu zmniejszają aktywność fosfatazy o prawie 50%, podczas gdy na działanie 5-nukleotydyazy nie mają żadnego wpływu. Fakt ten pozwala przypuszczać, że w 5-nukleotydyazie grupa czynna nie łączy się bezpośrednio z grupą fosforanową. Warto jednak zaznaczyć, że adenozyzna także nie wykazuje działania hamującego wobec 5-nukleotydyazy.

Tablica 4

Działanie jonów na 5-nukleotydzę (Reis 1957)

Jony dodane w stężeniu 0.001 M:	—													
pH 7.5	Mg	Ca	Ba	Mn	Zn	Co	Ni	Cu	CN	F1	Po			
5-Nukleotydyaza	100	112	93	116	159	11	24	3	41	104	101	95		
Wyciąg ze ściany aorty														
Kwas adenilowy(-5-)														
Fosfataza alkaliczna	100	107	107	113	113	100	113	100	102	100	111	53		
Wyciąg z łożyska														
Fenylofosforan sodowy														

Wyniki powyższe podane są w skali porównawczej.

W związku z powyższym przytoczyć należy badania Koshland i Sprin horn (7), którzy badali działanie 5-nukleotydyazy przy użyciu wody z izotopem tlenu. Stwierdzili oni, że tlen, którym grupa fosforanowa łączy się z adenozyzną, ulega wymianie z otaczającą wodą. Wskazuje to, że tu właśnie następuje rozbitcie kwasu adenilowego.

Próby oczyszczania enzymu

Dotychczasowe doświadczenia w tej dziedzinie nie dały zadowalających rezultatów. 5-nukleotydyaza jest enzymem dużo bardziej wrażliwym od alkalicznej fosfatazy i różne metody stosowane do oczyszczenia tej ostatniej zawodzą, jeśli chodzi o 5-nukleotydzę, gdyż ulega ona zniszczeniu. Reis w 1937 zastosował dla 5-nukleotydyazy metodę stręczenia alkoholem i eterem (podana przez Robinson'a dla oczyszczenia fosfatazy alkalicznej), ale rezultaty nie były bardzo zachęcające. Heppel i Hilmoe w 1951 starali się oczyścić 5-nukleotydzę z osocza bydłeciego płynu nasiennego, w którym posiada ona wielokrotnie większą aktywność w porównaniu z in-

nyimi tkankami. Zastosowali oni wytrącanie siarczanem protaminowym dla oczyszczenia roztworu, poczem wytrącali enzym dwukrotnie siarczanem amonowym i dwukrotnie alkoholem, oczyszczając płyn otrzymany przez rozpuszczenie osadu, absorbcją składników nieaktywnych wodorotlenkiem glinu. W rezultacie otrzymali płyn, w którym stosunek aktywności 5-nukleotyduzy do azotu białkowego był pięćdziesięciokrotnie wyższy niż w płynie wyjściowym. Należy jednak zaznaczyć, że ich końcowa wydajność wynosiła tylko 4%, przy czym objętość roztworu nie wiele się różniła od objętości wyjściowej. Lenti i Cafiero (8) wzorując się na powyższych autorach zastosowali z częściowo zadawalającym wynikiem metodę strącania siarczanem amonowym do oczyszczenia 5-nukleotyduzy z siatkówki bydłcej.

Badania histochemiczne

Histochemiczne oznaczanie fosfatazy według Gomori i Takamatsu polega na jej działaniu w alkalicznym (około pH 9.5) roztworze soli wapniowych i estru fosforowego. Powstający przez hydrolizę estru wolny fosforan w obecności soli wapniowych wypada z roztworu jako nierozpuszczalny fosforan wapnia i osadza się w miejscu działania fosfatazy. Po ukończeniu inkubacji działaniem roztworu siarczanu kobaltowego zamienia się fosforan wapniowy na kobaltowy. Ten ostatni przez zanurzenie w bardzo rozcieńczonym roztworze żółtego siarczku amonowego zostaje zamieniony na siarczek kobaltu, związek czarny i nierozpuszczalny, wyraźnie widoczny pod mikroskopem. Oczywiście obecność jego wskazuje na umiejscowienie fosfatazy. Inkubacje dłuższe, ponad 4 godziny, nie okazały się celowe, gdyż na ogół nie dawały lepszych wyników, prawdopodobnie ze względu na chociaż znikomą jednak zaznaczającą się rozpuszczalność fosforanu wapniowego. W tych przypadkach oczywiście zwiększa się możliwość powstawania artefaktów.

Gomori (4), stosując różne estry fosforowe stwierdził, że kwas adenilowy daje odmienne obrazy histologiczne od innych estrów i słusznie przypisał to działaniu 5-nukleotyduzy. Równocześnie, Newman, Feidin, Wolf i Kabat (15) zrobili podobne spostrzeżenia, a Pearce i Reis (17) opisali metodę histochemicznego wykazywania 5-nukleotyduzy opierając się na metodzie Gomoriego dla fosfatazy, ale używając kwasu adenilowego jako podłoża i oddziaływania pH 7.5. Zaletą tego oddziaływania jest to, że alkaliczna fosfataza prawie nie działa w tym pH. Niestety w tym oddziaływaniu fosforan wapniowy strąca się nie tak łatwo jak w alkalicznym, mając tu większą rozpuszczalność. Wobec tego metoda ta może być tylko stosowana przy wysokich aktywnościach 5-nukleotyduzy. Pracując w bardziej alkalicznym oddziaływaniu mamy wprawdzie łatwiejsze

strącenie fosforanów, ale i alkaliczna fosfataza zaznacza tu bardziej swoje działanie, więc oprócz skrawków inkubowanych z kwasem adenilowym, kontrolne skrawki z jakimś innym estrem fosforowym stają się konieczne.

Podaję tu metodę stosowaną przez nas. Skrawki tkanek na szkiełku podstawowym, przygotowane jak w metodzie G o m o r i e g o dla fosfatazy, uwalniano od parafiny przez zanurzenie w lekkiej benzynie. Następnie skrawki otaczano cienkim pasmem wazeliny dla utrzymania na miejscu płynu inkubacyjnego, po czym dodawano 5 kropli 0.05 M moderatora weronalowego o pH 7.5 lub 0.05 M weronalanu sodowego (pH około 9.0) dla fosfatazy alkalicznej, 1 kroplę 0.5 M azotanu wapniowego, 1 kroplę 0.1 M chloru magnezowego i 1 kroplę 0.04 M podłoża (pH 7.5), tj. kwasu adenilowego, lub dla oznaczeń kontrolnych fenylofosforanu sodowego. Preparat wstawiano do termostatu o t. 38°. Po ukończeniu inkubacji zlewano płyn, płukano preparat 0.1 M azotanem wapniowym (pH 8.0) i zanurzano go na 30 sek. do 2% siarczanu kobaltowego. Po opłukaniu wodą zanurzano preparat w rozcieńczonym roztworze żółtego siarczku amonowego (kropla na 50 ml wody).

Typowym artefaktem przy wykazywaniu histochemicznym alkalicznej fosfatazy jest barwienie się jąder komórkowych. Zjawisko to powstaje na tle tendencji fosforanu wapniowego do osadzania się w substancji jądrowej, a także na tle bezpośredniego osadzania się soli kobaltowych w jądrze, co ma miejsce w nieznacznym stopniu. Czy w przypadku 5-nukleotydyazy, która występuje przeważnie w jądrach komórkowych, zachodzi to samo zjawisko, nie jesteśmy w stanie stwierdzić. Wachstein i Meisel (26) twierdzą, że wyniki te odpowiadają istotnemu rozmieszczeniu 5-nukleotydyazy, która, przynajmniej w niektórych tkankach, jest przeważnie umiejscowiona w jądrach komórkowych.

Posługując się tą metodą Antonini i Weber (1) badali aktywność 5-nukleotydyazy w ścianach tętniczych, stwierdzając jej zmniejszenie w zmianach sterosklerotycznych. Negri i Weber (13, 14) przeprowadzili badania na jądrze i nadnerczu szczura.

Ciekawe są wyniki Mc Manus i Lupton'a (10, 11), którzy znaleźli, że po ciężkich degeneracyjnych i długotrwałych zapaleniach nerek, gdzie przychodziło do amyloidozy, 5-nukleotydyaza dawała się stwierdzić histochemicznie w kłębuszkach nerkowych. W nerce zdrowej i przy innych schorzeniach nerkowych ten enzym w kłębuszkach nie występował.

Thomsen i Panka (25) badali łożysko kobiece, znajdując 5-nukleotydyzę głównie w nabłonku łożyska i w śródbłonkach naczyńiowych.

Naidoo i Pratt (12) podeszli zupełnie inaczej do wykazania 5-nukleotydyazy, od „kwaśnej strony”, można by powiedzieć. Badali oni kwaśną fosfatazę w tkance mózgowej, działającą przy pH 5.5. Ich metoda również podana poprzednio przez G o m o r i e g o, polegała na użyciu soli ołowio-

wych dla strącenia fosforanów powstających w kwaśnym oddziaływaniu. Kąpiel w siarczku amonowym przemienia bezbarwne osady w czarny siarczek ołowiu. Jako podłoże stosowali oni glicerofosforan, jednak przy użyciu kwasu adenilowego otrzymali wyniki typowe dla 5-nukleotydyazy, pomimo oddziaływania tak dalekiego od jej optimum. 5-Nukleotydyaza działa wprawdzie optymalnie ok. pH 8.0, ale jeszcze i w pH 5.5 wykazuje pewną aktywność. Wspomniani autorzy badając mózgi szczurów stwierdzili, że 5-nukleotydyaza zaraz po urodzeniu nie występuje i że aktywność jej dopiero narasta (wraz z innymi enzymami) w ciągu pierwszych 80 dni rozwoju zwierzęcia.

Znaczenie

Niestety nie możemy dzisiaj niczego pewnego powiedzieć o znaczeniu 5-nukleotydyazy w ustroju. Fakt, że występuje często z alkaliczną fosfatazą i że w fizjologicznym oddziaływaniu ma często większą od niej aktywność, pozwala przypuszczać, że może czasami ma podobne do fosfatazy znaczenie. Mogłoby się to tyczyć zwłaszcza chrząstki kostniejącej, gdzie u człowieka, jest ona od fosfatazy 2 do 4 razy bardziej aktywna w pH 7.5, i gdzie wobec tego mogłaby się przyczyniać do procesu odkładania fosforanu wapniowego. Jakie może być jej znaczenie w innych tkankach, nie jesteśmy w stanie powiedzieć. Ostatnio stwierdzony udział kwasu adenilowego w syntezie białek pozwala przypuszczać, że 5-nukleotydyaza może mieć tu jakieś znaczenie, być może regulując stężenia kwasu adenilowego.

LITERATURA

1. Antonini F. M., Weber G., *Fosfatasi specifiche (5-nucleotidasi, ATP-pirofosfatasi) e fosfatasi aspecifica nella parete arteriosa normale, nella arteriosclerosi umana, ecc.*, Arch. de Vecchi, **16**, 985, 1951.
2. Bragdon D. E., McManus J. F. A., *Histochemical distribution of 5-nucleotidase in snake tissues*. Quart. J. Micro. Sci. **93**, 391, 1952.
3. Dixon T. F., Purdom M., *Serum 5-nucleotidase*. J. Clin. Path. **7**, 341, 1954.
4. Gomori G., *Further studies on the histochemical specificity of phosphatases* Proc. Soc. exp. Biol., N. Y., **72**, 449, 1949.
5. Gulland J. M., Jackson E. M., *5-nucleotidase*. Biochem. J. **32**, 597, 1938.
6. Heppel L. A., Hilmo R. J., *Purification and properties of 5-nucleotidase*, J. Biol. Chem. **188**, 665, 1951.
7. Koshland D. E., Sprinhorn S. S. *Mechanism of 5-nucleotidase*. J. Biol. Chem. **221**, 469, 1956.
8. Lenti C., Cafiero M., *Sulla nucleoside-5-fosfatasi della retina*. Arch. Sci. Biol. **37**, 55, 1953.
9. Mann T., *Metabolism of semen*. Biochem. J. **39**, 451, 1945.
10. McManus J. F. A., Lupton C. H., Harden G., *Histochemical studies of 5-nucleotidase: I. Method and specificity*. Lab. Investigation **1**, 19 1952.

11. McManus J. F. A., Lupton C. H.; *II. 5-Nucleotidase in glomerular obsolescence*. Lab. Investigation, **2**, 76, 1953.
12. Naidoo D., Pratt O. E., *The development of adenosine 5'-phosphatase activity with the maturation of the rat cerebral cortex.*, Enzymologia **16**, 5, 1954.
13. Negri L., Weber G., *La 5-nucleotidasi nel testicolo di ratto dopo trattamento con androgeni.*, Arch. de Vecchi, **19**, 379, 1953.
14. Negi L., Weber G., *Compartamento dissociato della attività 5-nucleotidasica e fosfatasica aspecifica alkalina nella surrenale di ratto trattato con androgeni.*, Arch. de Vecchi, **19**, 397, 1953.
15. Newman W., Feigin I., Wolf A., Kabat E. A., *Histochemical studies on tissue enzymes, IV*, Am. J. Path., **26**, 257, 1950.
16. Ostern P., Mann T., *Der Mechanismus der Desaminierungen in Herzen und in Skelettmuskel.*, Biochem. Ztsch. **260**, 326, 1933.
17. Pearce A. G. E., Reis J. L., *The histochemical demonstration of a specific phosphatase (5-nucleotidase)*. Biochem. J. **50**, 534, 1952.
18. Reis J. L., *La nucléotidase et sa relation avec la desamination des nucléotides dans le coeur et dans le muscle.*, Bull. Soc. Chim. Biol. **16**, 385, 1934.
19. Reis J. L., *Badania nad swoistością fosfataz*. Arch. Tow. Nauk. C **8**, 1, 1937.
20. Reis J. L., *Über die spezifische Phosphatase der Nervengewebe*, Enzymologia **2**, 110, 1937.
21. Reis J. L., *Über die Aktivität der 5-Nucleotidase in tierischen und menschlichen Geweben*, Enzymologia **2**, 183, 1937.
22. Reis J. L., *Sur la présence de la 5-nucleotodase dans le tissus anieaux*, Bull. Soc. Chim. Biol. **22**, 36, 1939.
23. Reis J. L., *The specificity of phosphomonoesterases in human tissues*, Biochem. J. **48**, 548, 1950.
24. Reis J. L., *Phosphatase activity in the ocular tissues*, Brit. J. Ophthalm. **38**, 35, 1951.
25. Thomsen K., Panka R., *Über die Aktivität der Nucleotidase in der menschlichen Placenta.*, Arch. für Gynekol. **188**, 95, 1956.
26. Wachstein M., Meisel E., *Histochemical demonstration of 5-nucleotidase activity in cell nuclei.*, Science **115**, 652, 1952.

wyjściową jest chlorek gwanidyny, podczas gdy my otrzymaliśmy przy syntezie gwanidyny jej sól azotanową, która jest dużo gorzej od chlorku rozpuszczalna w absolutnym alkoholu. Opracowana synteza miała następujący przebieg: do 2-litrowej kolby, w której odważono 30 g azotanu gwanidyny oddestylowano 2 l alkoholu absolutnego z nad alkoholanu sodowego. Po podgrzaniu roztworu do wrzenia dodano 100 ml roztworu metalicznego sodu (6,3 g) w absolutnym alkoholu. Po ochłodzeniu wypadał krystaliczny osad azotanu sodowego. Odlany roztwór zagęszczano do zupełnie małej objętości przy zmniejszonym ciśnieniu (100 mm Hg) na łaźni wodnej przy temperaturze 40°. Gdy roztwór miał około 100 ml objętości, wlewano doń 26 ml estru etylowego kwasu cyjanooctowego i roztwór 6,3 g metalicznego sodu z 100 ml alkoholu absolutnego. Mieszaninę gotowano 30 min pod zwrotną chłodnicą, używając tu jak i poprzednio dla zabezpieczenia od wilgoci rurki z suchym chlorkiem wapnia. Przy gotowaniu wypada osad, który łączono z poprzednim. Osady rozpuszczano w niewielkiej ilości wody i chłodząc w bieżącej wodzie dodawano 30 g azotynu sodowego i tyle 2 n kwasu siarkowego, jak długo wypadał różowo-czerwony osad. Była to izonitrozo pochodna pirymidyny. Związek ten bardzo słabo rozpuszczalny w wodzie, daje się dobrze oczyścić dekantowaniem wodą od siarczanów, następnie wirowano i suszono. Wydajność wynosi około 21 g. Redukcja tego związku do 2,4,5-trójamino-6-okspipirymidyny przechodzi łatwo metodą podaną przez Traubego (11).

Kwas glioksalowy potrzebny w syntezie Koschary otrzymywaliśmy redukując kwas szczawiowy amalgamatem sodowym w obecności cynku w kwasie solnym sposobem Mohrschulza (12). Nierozpuszczalną sól wapniową przeprowadzaliśmy w roztwór przepuszczaniem SO_2 .

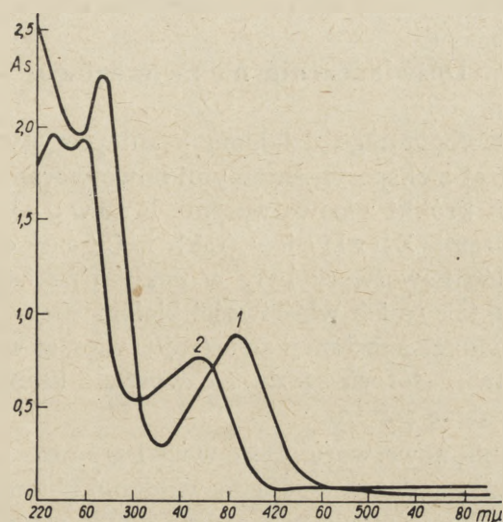
Ksantopterynę otrzymywaliśmy więc sposobem Koschary (13) z syntetyzowanych przez nas składników. Jak wspomniano wyżej, zależnie od oczyszczenia miała ona różne biologiczne właściwości, co nas naprowadziło na myśl, że przy syntezie mogą powstawać związki, mające też pewne działanie biologiczne.

Po kilku próbach stwierdziliśmy, że podwyższenie stężenia kwasu siarkowego, w którym zachodzi reakcja, powoduje utworzenie większej ilości czerwonych barwników, zmniejszając wydajność ksantopteryny. Zmieniliśmy więc nieco dla naszych celów sposób Koschary używając 92% kwasu siarkowego i stosując nowy sposób wyodrębnienia ksantopteryny i innych barwników.

Otrzymanie nowych barwników i ksantopteryny w zmienionej syntezie Koschary przechodziło w sposób następujący: otrzymaną mieszaninę po podgrzaniu na łaźni wodnej w 92% kwasie siarkowym, po ochłodzeniu i oddzieleniu od osadu siarczanu wapnia zubożętniano stopniowo węglanem amonowym. Początkowo powstawał osad barwników czerwonych a stopniowo wypadała i ksantopteryna. Otrzymany czerwony barwnik nazwaliśmy porfiropteryną. Porfiropteryna ma tę charakterystyczną właściwość, że przy przemywaniu destylowaną wodą na wirówce przechodzi w zawiesinę, z której wypada po dodaniu minimalnej ilości kwasu (jedna kropla 2 n kwasu siarkowego na 1 litr zawiesiny). To dało nam możliwość oczyszczenia porfiropteryny i oddzielenie jej od ksantopteryny i innych zanieczyszczeń.

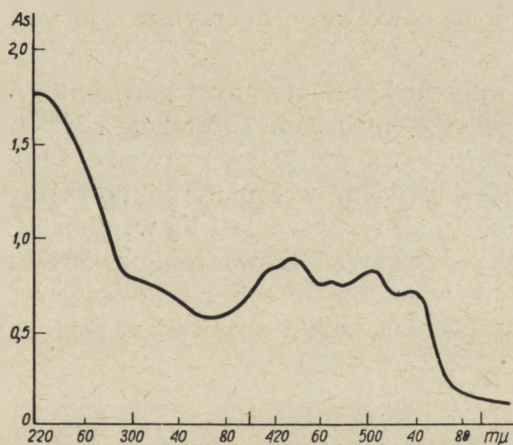
Otrzymaną w opisany sposób ksantopterynę badaliśmy spektrofotometrycznie. Otrzymana przy tym krzywa absorpcji światła (rys. 1) wykazała, że otrzymany przez nas związek jest rzeczywiście ksantopteryną, ponieważ ma widmo identyczne z opisany (14). Otrzymana porfiropteryna badana spektrofotometrycznie dała widmo (rys. 2), z którego można sądzić, że jest wolna od ksantopteryny. Na podstawie tego widma można

też wypowiedzieć pewne przypuszczenia o budowie porfiropteryny, a mianowicie, że posiada ona budowę podobną do pirymidopterydynów, znale-



Rys. 1. Krzywa absorpcji światła ksantopteryny (1) w ługu, (2) w kwasie

zionych przez T a y l o r a i współpr. (15). Ale ich związki otrzymane były w środowisku alkalicznym, zaś nasze w kwaśnym, poza tym nie mamy pewności, czy nasza porfiropteryna nie jest mieszaniną związków o podobnych



Rys. 2. Krzywa absorpcji światła porfiropteryny

chemicznych i fizycznych właściwościach. Przy stałym sposobie otrzymywania porfiropteryny można sądzić, że używana przez nas substancja ma stały skład. Celem jednak naszego badania nie było znalezienie chemicznej

budowy tych związków, ale ich właściwości biologicznych. Obecnie gdy udało się nam ustalić, że istotnie one posiadają je, zbadanie ich może mieć pewne znaczenie.

Doświadczenia na zwierzętach

Dla badania biologicznego działania ksantopteryny i porfiropteryny używaliśmy zwierząt z eksperymentalnymi nowotworami. Mieliliśmy w naszym laboratorium króliki z nowotworem *Brown-Pearce'a* (rak), myszki z nowotworami *Ehrlicha* (rak) i *Crockera 180* (mięsak). Te eksperymentalne nowotwory były w naszym zakładzie obserwowane przez dłuższy czas, tak że ich właściwości biologiczne są dokładnie znane. Wprowadzenie badanych substancji do ustroju zwierząt wywoływało pewne zmiany, na podstawie których sądzimy o wpływie ksantopteryny i porfiropteryny na przemianę materii.

Dla podtrzymania nowotworu *Brown-Pearce* przeszczepialiśmy go królikom w jądro lub dożylnie, dla doświadczeń natomiast przeszczepialiśmy go królikom domięśniowo w przednią głowę czterogłowego mięśnia uda. W ten sposób mieliśmy nowotwór dostępny dla pomiaru i znacznie mniej złośliwy. Nowotwór w ten sposób przeszczepiany często resorbował się samoistnie, w znacznej jednak większości przypadków prowadził do przerzutów i śmierci królików. Nowotwory *Crockera* i *Ehrlicha* szczepiliśmy myszkom na grzbiecie podskronie. Aby poznać wpływ badanych substancji na te nowotwory, mierzyliśmy je tak jak i nowotwory królików.

Dla zbadania wpływu ksantopteryny i porfiropteryny na nowotwory wprowadzaliśmy zwierzętom badane substancje codziennie od dnia przeszczepienia nowotworu, ksantopterynę w roztworze: 1 mg w ml, porfiropterynę w postaci zawiesiny: 0,3 ml w 1 ml. Króliki otrzymywały w przeciągu miesiąca dożylnie po 10 ml roztworu na 1 kg wagi ciała, myszki przez trzy tygodnie po 0,3 ml podskórnie. Wprowadzenie zwierzętom badanych substancji wpływało w widoczny sposób na nowotwory. Mówiąc ogólnie ksantopteryna przyspieszała wzrost nowotworu, porfiropteryna natomiast hamowała go.

Nowotwór *Brown-Pearce'a* (rak)

Badanie pteryń przeprowadzono na 138 królikach z nowotworem *Brown-Pearce'a* przeszczepionym w udo. Zwierzęta poddawano przez czas doświadczenia dokładnemu badaniu klinicznemu, a szczególnie mierzono wielkość nowotworu. Pomiar nowotworu wykonywano w trzech

wymiarach, przy czym mierzący nie wiedział, czy mierzy kontrolne zwierzę, czy doświadczalne. Większość zwierząt ginęła przy doświadczeniach, wszystkie sekcjonowano dla potwierdzenia danych klinicznych. Kontrolne zwierzęta często zabijano dla badania nowotworu na zużywanie tlenu w aparacie Warburga, nie mieliśmy więc danych o tym, jak długo żyły one po przeszczepieniu nowotworu. Zwierzęta zabijano tylko wtedy, gdy nie było żadnych wątpliwości, że musiały one wkrótce zginąć od raka. Na sekcji w każdym bez wyjątku przypadku znajdowaliśmy liczne przerzuty, stwierdzone za życia klinicznie. Z 138 królików 53 było kontrolnych, jednak w dwóch przypadkach nowotwór nie przyjął się, tak więc kontrolnych było 51. Z nich u 11 nowotwór zresorbował się, średnio na 46 dzień, a 40 zwierząt zginęło albo zabito je, gdy nie było żadnych wątpliwości, że nowotwór zajął swymi przerzutami większość narządów. 67 królików otrzymywało ksantopterynę, u wszystkich nowotwór przyjął się, lecz u 7 zresorbował się średnio na 67 dzień, co znaczy, że resorpcja nastąpiła długo po zakończeniu podawania ksantopteryny (podawaliśmy ją zwykle 1 miesiąc). 18 królików otrzymywało porfiropterynę, resorbację zaobserwowaliśmy u 6 zwierząt, średnio na 37 dzień.

Tablica 1
Wpływ pteryń na resorbację nowotworów u królików

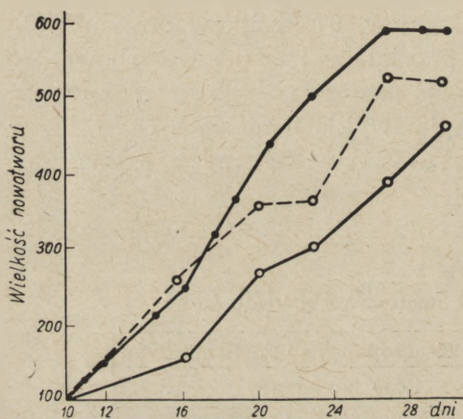
	Kontrola	Ksantopteryna	Porfiropteryna
	ilość zwierząt		
Do doświadczenia wzięto królików	51	67	18
Nowotwory zresorbo- wały się u	11	7	6
	Dni		
Resorbacja nowotworów nastąpiła średnio w dniu	46	67	37

Pomiary wielkości nowotworów wykazywały, że nowotwory u królików, którym wprowadzano ksantopterynę, rosły szybciej niż u kontrolnych, nowotwory zaś u zwierząt otrzymujących porfiropterynę rosły wolniej od kontrolnych. Dla ilustracji podajemy rezultaty dwóch doświadczeń w formie graficznej.

Na rys. 3 przedstawiono rezultaty doświadczenia, w którym nowotwór był zaszczepiony 20 maja 1953 r. Dla doświadczenia wzięliśmy 21 królików, które podzieliliśmy na trzy grupy po 7 zwierząt. Jedna z grup była

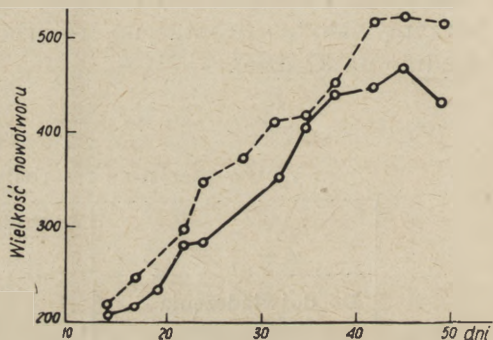
kontrolną, zwierzęta drugiej otrzymały ksantopterynę, trzeciej porfiropterynę. Wskutek iniekcji porfiropteryny w czasie zastrzyku albo bezpośrednio po nim zginęły 4 króliki, w grupie tej pozostały więc 3 zwierzęta. Mierząc co kilka dni wielkość nowotworu otrzymaliśmy cyfry, których średnie są przedstawione na rys. 3. Każdy punkt przedstawia więc średnią dla zwierząt danej grupy. Najniżej leży krzywa zwierząt otrzymujących porfiropterynę, linia środkowa to krzywa zwierząt kontrolnych, najwyżej leży krzywa zwierząt, które otrzymywały ksantopterynę. Ostateczne rezultaty tego doświadczenia były następujące: z 7 kontrolnych królików nowotwór zresorbował się u 3, z 7 zwierząt, którym wprowadzano ksantopterynę, — u dwóch, z 3 zwierząt otrzymujących porfiropterynę — u jednego zwierzęcia.

Na rys. 4 przedstawiono rezultaty doświadczenia, w którym no-



Rys. 3. Wpływ ksantopteryny i porfiropteryny na wielkość nowotworu Brown-Pearce'a

●—●—●— zwierzęta, które otrzymały ksantopterynę
 - - - - - zwierzęta kontrolne
 ———— zwierzęta, które otrzymały porfiropterynę



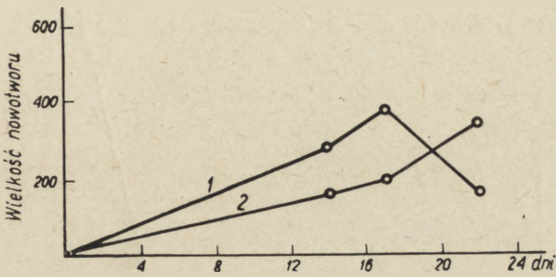
Rys. 4. Wpływ porfiropteryny na wielkość nowotworu Brown-Pearce'a

——— wielkość nowotworu zwierząt, które otrzymały porfiropterynę
 - - - - - wielkość nowotworu zwierząt kontrolnych

wotwór był przyszczepiony dn. 16 września 1953 r. Do doświadczenia wzięto 30 królików, z których 10 było kontrolnych, 20 zaś wprowadzaliśmy porfiropterynę. Średnie z pomiarów wielkości nowotworów podane są w postaci krzywych na rys. 4. Krzywa zwierząt otrzymujących porfiropterynę przedstawia rezultaty dla 15 zwierząt (5 zginęło wskutek zastrzyków porfiropteryny), krzywa kontrolnych zwierząt — średnio dla 9 królików (jeden królik zginął z początku doświadczenia z nieznanego przyczyny.) Z krzywych widać, że nowotwory zwierząt otrzymujących porfiropterynę rosną wolniej. Ostateczne rezultaty doświadczenia były następujące: z 15 doświadczalnych zwierząt nowotwory zresorbowały się u 5, z 9 kontrolnych — u 2.

Nowotwór Crockera (mięsak 180)

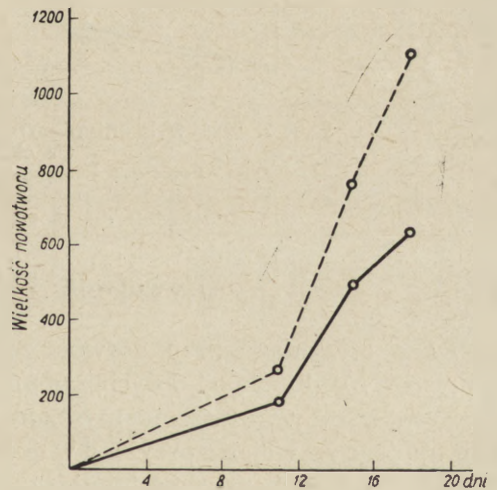
Badania na nowotworze Crockera wykonane w naszej pracowni z J. Kwiatkowską dały wyniki podobne do otrzymanych na królikach. Doświadczenia wykonano na 66 białych laboratoryjnych myszkach



Rys. 5. Wpływ porfiropteryny na wielkość nowotworu Crockera

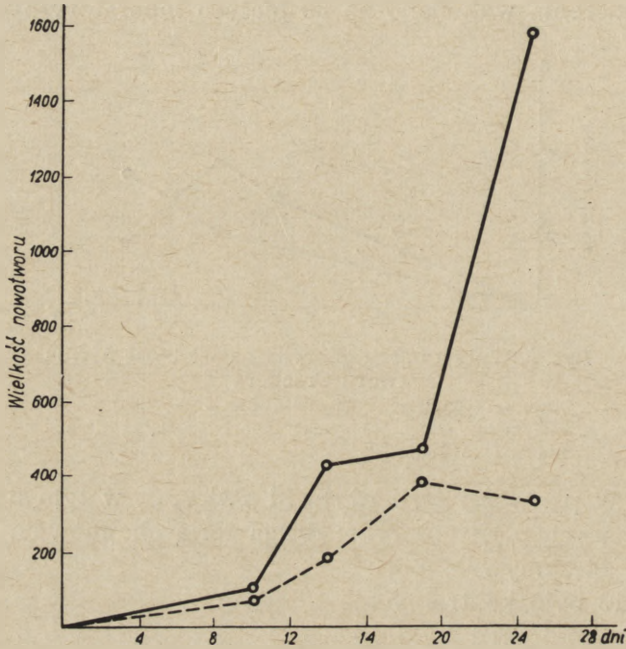
1. zwierzęta kontrolne (średnie dla 6 myszek)
2. zwierzęta, które otrzymały porfiropterynę (średnia dla 15 zwierząt)

w 3 seriach. W pierwszej serii użyto 21 zwierząt, w tym 6 kontrolnych i 15 otrzymujących porfiropterynę; druga seria obejmowała 30 zwierząt, z których 15 otrzymywało porfiropterynę, a 15 było kontrolnych; wreszcie w trzeciej serii było 15 myszek, w tym 5 kontrolnych i 10 otrzymujących ksantopterynę. Nowotwór, nad którym pracowaliśmy, daje bardzo wysoki procent dodatnich przeszczepień (93^{0/0}), jednak myszki, które otrzymywały porfiropterynę, wykazały mniej nowotworów przyjętych: na 30 zwierząt otrzymujących porfiropterynę nowotwór nie przyjął się u 5, podczas gdy u 26 kontrolnych nowotwór przyjął się u wszystkich i myszki żyły krócej; średnio ginęły one na 26 dzień po przeszczepieniu, podczas gdy kontrolne żyły 38 dni. Nowotwory u zwierząt, które otrzymywały ksantopterynę, rosły szybciej od kontrolnych, zaś u zwierząt otrzymujących porfiropterynę wzrost nowotworu był wolniejszy. Widać to z da-



Rys. 6. Wpływ porfiropteryny na wielkość nowotworu Crockera
 - - - - - zwierzęta kontrolne (średnia dla 15 myszek)
 ————— zwierzęta, które otrzymały porfiropterynę (średnia dla 15 myszek)

nych, które przedstawiono w formie graficznej. Każdy punkt na rysunkach jest średnią dla zwierząt danej serii. Z przebiegu krzywych widać, jak rosły nowotwory.



Rys. 7. Wpływ ksantopteryny na wielkość nowotworu Crockera
 - - - - - zwierzęta kontrolne (średnia dla 5 myszek)
 ————— zwierzęta, które otrzymywały ksantopterynę (średnia dla 10 myszek)

Nowotwór Ehrlicha (rak)

Dane otrzymane przy doświadczeniach z nowotworem Ehrlicha u myszek różniły się od dotychczas przytoczonych. Tak ksantopteryna jak porfiropteryna wprowadzane myszkom od dnia przeszczepienia nowotworu hamują jego rozwój. Na przykład w doświadczeniu na 30 myszkach pomiary nowotworów wykazały następujące dane: średnia wielkość nowotworu u kontrolnych myszek — 108 jednostek umownych, u myszek otrzymujących porfiropterynę — 74, u otrzymujących ksantopterynę — 59.

Organy krwiotwórcze

Ażeby zbadać wpływ ksantopteryny i porfiropteryny na organy krwiotwórcze, J. Kwiatkowska przeprowadziła szereg oznaczeń zasadni-

czych wskaźników we krwi myszek i królików. Oznaczała ona ilość hemoglobiny, czerwonych i białych krwinek oraz retykulocytów po jednorazowym wprowadzeniu badanych substancji w wyżej wspomnianej dozie. Rezultaty tych badań na myszkach przytaczam w postaci tablicy.

Tablica 2

Zmiany we krwi myszek po jednorazowym wprowadzeniu ksantopteryny i porfiropteryny

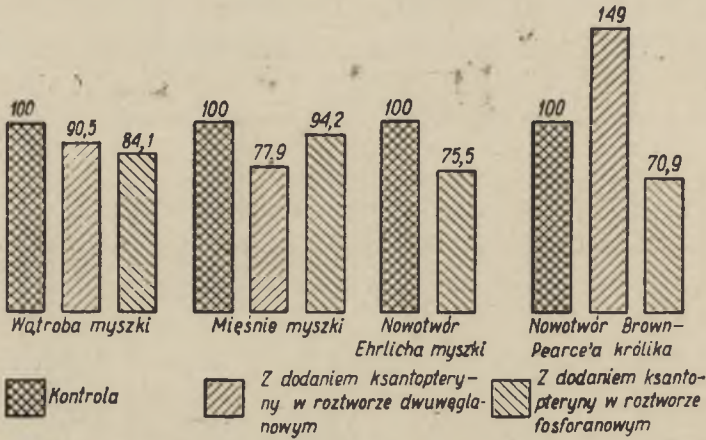
Dni po zastrzyku	Hemoglobina w %	Czerwone krwinki w 1 mm ³	Retykulocyty na 1000 czerwonych krwinek	Białe krwinki
K s a n t o p t e r y n a				
0	11.6	6.510.000	63	10.000
3	11.4	7.180.000	124	13.600
7	11.0	7.310.000	114	16.600
14	11.7	7.300.060	95	16.000
21		6.480.000	91	10.800
P o r f i r o p t e r y n a				
0	10.4	7.290.000	72	10.700
3	10.2	7.590.000	84	13.600
7	10.3	7.690.000	88	18.300
14				14.000
21				10.200

Każda cyfra w tablicy jest średnią z oznaczeń 20—25 zwierząt. Doświadczenia przeprowadzone na królikach dały bardzo podobne rezultaty. Jak widać z tablicy, po wprowadzeniu ksantopteryny podnosi się ilość czerwonych i białych krwinek oraz retykulocytów, ale ilość hemoglobiny nie zmienia się. Podwyżka ta trwa około 14 dni, co świadczy o pobudzeniu czynności szpiku kostnego. Wprowadzenie porfiropteryny powoduje podwyższenie tylko białych krwinek, retykulocyty i czerwone krwinki pozostają bez zmian.

Wpływ ksantopteryny i porfiropteryny na zużycie tlenu przez mięszę z tkanek

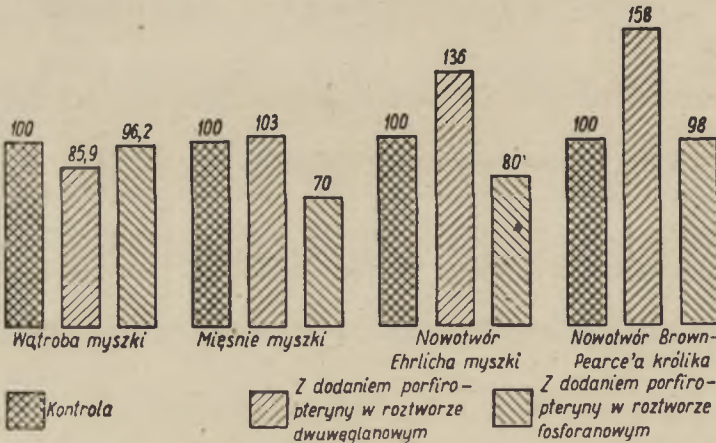
Aby znaleźć wytłumaczenie działania biologicznego na nowotwory i organy krwiotwórcze, jakie obserwowaliśmy przy wprowadzaniu ksantopteryny i porfiropteryny do organizmu zwierzęcego, badaliśmy wpływ tych substancji na zużycie tlenu przez różne tkanki. Badania te przeprowadza-

liśmy w aparacie W a r b u r g a oznaczając oddychanie miążgi otrzymanej przez rozdrobnienie nożyczkami różnych organów zdrowych myszek i królików, oraz nowotworów. Zazwyczaj do doświadczeń braliśmy 50 mg miążgi



Rys. 8. Wpływ ksantopteryny na zużycie tlenu przez miążgę wątroby, mięśni i nowotworów

w roztworze pierwszorzędowego fosforanu lub dwuwęglanu (16), nasyconego ksantopteryną lub porfiropteryną. Rezultaty przeliczaliśmy na świeżą wagę narządu. Jako kontrolę stosowaliśmy miążgę z danego narządu bez dodania



Rys. 9. Wpływ porfiropteryny na zużycie tlenu przez miążgę wątroby, mięśni i nowotworów

ksantopteryny czy porfiropteryny. Zbadaliśmy w ten sposób wątrobę i mięśnie myszy oraz wątrobę, nerkę, mózg i mięsień sercowy królika, a także nowotwór Ehrlicha u myszy i nowotwór Brown-Pearce'a u królika. Rezultaty badań dla niektórych narządów przedstawiono na rys. 8 i 9.

Z rysunków widać, że dodanie ksantopteryny do miazgi tkanek powoduje pewne zmiany w oddychaniu. Jeżeli porównać zużycie tlenu w naczynku kontrolnym, w którym do miazgi z normalnego narządu niczego nie dodano, z doświadczalnym, w którym była ksantopteryna, to widać, że dodanie ksantopteryny powoduje pewne zmniejszenie zużycia tlenu, niezależnie od tego, czy doświadczenie było wykonane w roztworze dwuwęglanu czy fosforanu. Przy dodaniu ksantopteryny do miazgi z nowotworu w roztworze fosforanowym następuje również zmniejszenie zużycia tlenu, natomiast w roztworze dwuwęglanowym następuje podwyższenie. Podobne zmiany powoduje dodanie porfiropteryny. W dwuwęglanowym roztworze nowotwory dają zwiększenie zużycia tlenu, podczas gdy normalne tkanki wykazują zwykle obniżenie oddychania.

Dyskusja otrzymanych wyników

Nowotwory Brown-Pearce'a u królików i Crockera u myszy pod wpływem ksantopteryny zachowują się jako bardziej złośliwe, szybciej rosnące i napotykają na mniejszy opór ze strony organizmu, w którym rosną. Wprowadzenie tego związku normalnym, zdrowym zwierzętom powoduje aktywację działalności szpiku kostnego. Wszystko to świadczy o tym, że substancja ta pobudza wzrost tkanek tak, jak mówi się o tym w literaturze. Odstępuje od tych danych tylko nowotwór Ehrlicha myszek, co można wytłumaczyć tym, że nowotwór ten bardzo łatwo resorbuje się przy działaniu różnych środków. Ksantopteryna w używanych przez nas dawkach wywoływała często śmierć doświadczalnych zwierząt, mogła więc dać wolniejszy wzrost tego nowotworu.

Porfiropteryna działała hamująco na wzrost i rozwój wszystkich badanych nowotworów, które pod jej wpływem stają się mniej złośliwe, dają mniej przerzutów i więcej ich resorbuje się. Ze względu na podobną budowę chemiczną obu związków można przypuszczać, że działanie porfiropteryny jest antagonistycznym w stosunku do ksantopteryny.

Dla wyjaśnienia mechanizmu działania tych związków na organizm zwierzęcy przeprowadziliśmy badania *in vitro*. Badając oddychanie różnych tkanek w aparacie Warburga przy dodaniu do ich miazgi ksantopteryny i porfiropteryny zauważyliśmy, że substancje te wpływają na proces oddychania tak w normalnych tkankach, jak i w nowotworach.

Normalne tkanki wykazują obniżenie oddychania tak w fosforanowym, jak i w dwuwęglanowym roztworze, podczas gdy nowotwory wykazują znaczne podwyższenie oddychania w roztworze dwuwęglanowym a obniżenie oddychania w fosforanowym. Z faktów tych można wnioskować, że ksantopteryna wpływa na fermenty oddechowe tkanek, przypuszczalnie na oksydazę ksantynową. Być może ksantopteryna modyfikuje przebieg reakcji

utlenienia działając jako przenośnik wodoru (17); możliwe też, że sama jest podłożem, które się utlenia pod działaniem oksydazy ksantynowej.

Oksydaza ksantynowa jest ważnym fermentem przemiany purynowej. Ksantopteryna może zatem tą drogą wpływać na nowotwory i narządy krwiotwórcze.

Podobne rozwiązanie możemy zastosować także do porfiropteryny.

Streszczenie

1. Ksantopteryna wprowadzona do organizmu zwierząt z nowotworami Brown-Pearce'a i Crockera powoduje przyspieszenie wzrostu nowotworów. Dla nowotworu Ehrlich'a nie stwierdziliśmy tego wpływu ksantopteryny.

2. Barwnik, który powstaje przy syntezie ksantopteryny, nazwany przez nas porfiropteryną, hamuje wzrost nowotworów eksperymentalnych.

3. Ksantopteryna powoduje zwiększenie ilości czerwonych i białych krwinek, oraz retikulocytów, co świadczy o wzmożonej działalności narządów krwiotwórczych.

4. Porfiropteryna powoduje zwiększenie ilości białych krwinek, bez zmian w ilości czerwonych i retikulocytów.

5. Ksantopteryna i porfiropteryna powodują zmniejszenie zużycia tlenu w normalnych tkankach w roztworze fosforanowym i dwuwęglanowym.

6. Ksantopteryna i porfiropteryna powodują zwiększenie oddychania nowotworów w dwuwęglanowym roztworze i obniżają oddychanie w fosforanowym, co wskazuje na pewne odrębności w metabolizmie nowotworów.

LITERATURA

1. Pałladina E. I., Hudina A. M., Tezy dopowidej V. Zjizdu fizjołohiw 236, Kijów, 1956.
2. Tschesche R., Wolf H. K., Z physiol., Chem., 234, 34, 1937.
3. Haddow A., Growth, symposium 11, 339, 1947.
4. Haddow A., Physiopatology of Cancer, Hoeber, New York, 508, 1953.
5. Kalckar H. M., Kjeldgaard N. O., Klenow H., Biochim. et Biophys. Acta 5, 575, 1950.
6. Sobczuk B. A., Ukr. biochim. Z. 27, 12, 1955.
7. Zell I., Stutzer A., Ber., dtsh. Chem. Ges. 13, 4533, 1910.
8. Davis T. L., Organic Syntheses, Vol. 1., Second Edition 176, 1949.
9. Englis A., Organic Syntheses, Vol. 1, Second Edition 560, 1949.
10. Traube W., Dudley R., Ber. dtsh. Chem. Ges. 46, 3839, 1913.
11. Traube W., Ber. dtsh. Chem. Ges. 33, 1371, 1900.

12. Mohrschulz W., *Z. Elektrochem.* **32**, 434, 1926.
13. Koschara W., *Z. physiol. Chem.* **277**, 159, 1943.
14. Bloom E. S., Vandenbelt J. M., Binklay S. B., O'Dell B. L., Pfiffner J. J., *Science* **100**, 295, 1944.
15. Taylor E. T., Jr., Loux H. M., Falco A. E., Hitchings G. H., *J. Am. Chem. Soc.* **77**, 2243, 1955.
16. Umbreit W. W., Burris R. H., Stauffer J. F., *Manometric Techniques and Tissue Metabolism*, 1949.
17. Schuler W., Reindel W., *Z. physiol. Chem.* **247**, 172, 1937.

ciągu z mięśni żaby, świeżo sporządzonym, postarzałym, autolizowanym lub dializowanym. Przypominam sobie doświadczenie wykonane pod koniec lipca 1935 r., które wzrokowo zwróciło uwagę, mianowicie rozjaśnianie się świeżo sporządzonego, mlecznego od obfitości glikogenu wodnego wyciągu z mięśni żaby, podczas stania w temperaturze pokojowej. Pomiary zawartości fosforanu nieorganicznego na początku doświadczenia i po rozjaśnieniu się wyciągu wykazały zupełne jego zniknięcie. Skojarzenie obu tych zmian odruchowo wywołało ponowne dodanie glikogenu i fosforanu nieorganicznego do tego samego wyciągu. I znowu zjawiska powtórzyły się; zniknął prawie cały fosforan nieorganiczny i większość glikogenu. Pomiary wykazały zupełną współzależność między znikaniem ortofosforanu a rozkładem glikogenu; związany fosforan odnaleziono w trudno hydrolizującej frakcji heksozofosforanowej (ester E m b d e n a). Doświadczenia zostały opisane następująco: „nous avons étudié l'estérification du glycogène avec du phosphate, ajouté à de l'extrait des enzymes musculaires préparés selon M e y e r h o f (deux poids de viande de lapin fraîche, trois poids d'eau), filtré, neutralisé, inactivé et dialysé à fond à une température ordinaire, additionné ensuite de $MgCl_2$. Ainsi préparé l'extrait ne contient pas d'acide adénosinetriphosphorique, ni d'acide adénylique, pas de glycogène, et très peu de phosphate libre". I dalej: „Si l'on ajoute à cet extrait du glycogène et du phosphate seulement, le phosphate disparaît vite: après 30 minutes on trouvera, avec un taux initial de 54,5 mgr. p. 100 gr., seulement 17,3 mgr. 1 n'y a pas formation de l'ester hexosediphosphorique: le phosphore qui vient de disparaître se trouve entièrement dans la fraction des esters à hydrolyse très lente (ester de Robison-Embden)".

W grudniu 1936 r. została oddana do druku (Ergebnisse der Enzymforschung 6, przedmowa) praca J. K. P a r n a s a o mechanizmie glikogenolizy w mięśni, w której zostało jasno sformułowane odkryte zjawisko: „Wir fassen die Bildung des Hoxose-mono-phosphats als Auflösung des Glykogens durch Anlagerung von Phosphat auf, und wir bezeichnen diesen Vorgang als Phosphorolyse des Glykogens" (s. 81). Zostało również jasno sformułowane twierdzenie, że glikogen rozkłada się w mięśni wyłącznie tą drogą: „Im Muskel geht also keine Hydrolyse des Glykogens der Glykolyse voran sondern eine Phosphorolyse, eine Umwandlung des Polysaccharids zu Hexose-monophosphat" (s. 79).

W tej samej publikacji zostały również przytoczone nie opublikowane poprzednio doświadczenia G. v o n H e v e s y, J. K. P a r n a s, O s t e r n i G u t h k e (1. c.), którzy sprawdzili przebieg reakcji przy pomocy fosforanu ^{32}P i wykazali ilościowe przeniesienie fosforanu nieorganicznego na ester E m b d e n a.

W lipcu 1936 r. pojawiła się ważna praca C. F. C o r i i G. T. C o r i, którzy używając wymytej miazgi mięsnej żaby zawieszanej w fosforanie

z dodatkiem kwasu adenilowego zauważyli również znikanie glikogenu. Nagromadzał się w tych warunkach jednak nie trudno, lecz łatwo hydrolizujący ester fosforowy, który został przez nich zidentyfikowany jako α -D-glukopyranozo-1-fosforan (ester *Corich*). Ester ten, dodany do wyciągu mięśniowego przekształcał się szybko w ester *Embdena*. Było od razu jasnym, że badacze amerykańscy, prowadząc rozkład glikogenu przy pomocy fosforanu w systemie enzymatycznym bardziej zdekompletowanym niż wyciąg, odkryli reakcję poprzedzającą tworzenie się estru trudnohydrolizującego. Ester *Corich* jest właściwym i jedynym produktem fosforolizy. Jego odkrycie potwierdziło słuszność założeń *Parrasa*, że rozkład glikogenu w mięśniu nie jest procesem amylolytycznym, ale, że jest to proces odrębny, w którym rolę wody spełnia kwas fosforowy.

W poważnych podręcznikach i monografiach uznaje się dzisiaj powszechnie, że odkrycie i określenie podstawowych cech procesu fosforolizy należy do *J. K. Parrasa* i jego szkoły (patrz np. 4,5). Jest natomiast niewątpliwą zasługą *Corich* odkrycie produktu reakcji fosforolizy, a tym samym enzymu ją katalizującego. Enzym ten został nazwany fosforylaza i otrzymany przez badaczy w St. Louis z mięśnia królika w stanie krystalicznym w r. 1943 (6). Dzisiaj, kiedy namnożyły się przykłady reakcji fosforolitycznych, warto wyraźnie określić wkład badaczy polskich w początkach rozwoju tej gałęzi enzymologii.

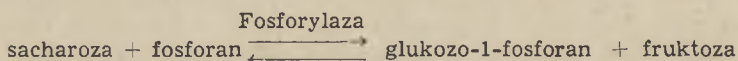
Badania wielu autorów doprowadziły do wykrycia szerokiego rozpowszechnienia fosforylazy w świecie roślin, zwierząt i bakterii. Procesy rozkładu wielocukrów, uważane dotychczas za hydrolityczne, okazały się w wielu wypadkach fosforolitycznymi. Np. zcukrzenie glikogenu wątrobowego okazało się następstwem nie jak sądzono do r. 1939 procesu amylolytycznego, ale fosforolitycznego, jak to wykazali *P. Oster* i współpracownicy (7, 8) oraz niezależnie *G. T. Cori* i współpracownicy (9). W tym czasie *P. Oster* i współpr. (10) przeprowadzili syntezę wielocukrowca z estru glukozo-1-fosforowego przy pomocy miazgi wątrobowej, a niezależnie od nich *G. T. Cori* i współpr. (9) takie same odwrócenie reakcji fosforolizy przy pomocy preparatów mięśniowych i wątrobowych. Niewątpliwie było to następstwem pojawienia się pracy *A. Schöffnera* i *H. Spechta* (11) w r. 1938, w której ogłoszono odwracalność reakcji fosforolizy w drożdżach, jakkolwiek doświadczalne dane nie uzasadniały takiego twierdzenia.

Najbardziej systematyczne badania w kierunku udowodnienia odwracalności fosforolizy przeprowadził *W. Kiessling* (12), używając oczyszczonego preparatu enzymatycznego (białko *C* z drożdży i mięśni), oraz obliczając położenie równowagi chemicznej dla reakcji fosforolizy, oraz ciepło reakcji. Błędym natomiast okazało się twierdzenie tego autora, że dla odwrócenia reakcji potrzebny jest odrębny enzym.

Prace wyżej wymienionych autorów doprowadziły do pierwszej w dziejach nauki syntezy biologicznych polimerów cukrowych i uutorowały drogę podejścia biochemicznego do syntez ciał wielkocząsteczkowych *in vitro*. Było znowu zasługą Cori'ch odkrycie, że synteza wielocukrów typu glikogenu i skrobi jest torowana przez dodatek śladów naturalnego lub syntetycznego wielocukrowca do układu substrat-enzym. O ile odwrócenie reakcji fosforolizy przebiega stosunkowo gładko w preparatach mięśniowych, to wysokie oczyszczenie fosforylasy powoduje często utratę zdolności syntezy wielocukru z estru glukozy-1-fosforowego (ale nie rozkładu). Można temu zapobiec dodając tzw. „Primer”. To odkrycie umożliwiło badanie postępów oczyszczania enzymu i kinetyki reakcji enzymatycznej i miało wielki wpływ na rozwój wiedzy o fosforolizie.

2. Typy reakcji fosforolitycznych

Fosforylaza sacharozy. Reakcję katalizowaną przez ten enzym wykryli B. O. Kagan, S. N. Latker i E. M. Zfasman (13), którzy otrzymali przy pomocy zawiesiny *Leuconostoc mesenteroides* z cukrozy i fosforanu nieorganicznego ester glukozy-1-fosforowy i wolną fruktozę. W rok później ale niezależnie fosforolizę sacharozy opisali M. Doudoroff, N. Kaplan i W. Z. Hassid (14, 15). Podstawową reakcją fosforolizy sacharozy można sformułować następująco:

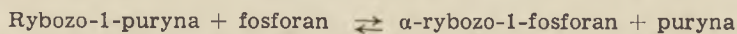


Preparaty fosforylasy sporządzone z *Pseudomonas* katalizują nie tylko syntezę sacharozy z estru Cori'ch i fruktozy, ale i z innych dwucukrów. Materiałem wyjściowym do syntezy mogą być niektóre ketocukry, jak D-ketoksyloza, L-ketoarabinoza, L-sorboza. Z aldoz w wiązanie glikozydowe wschodzi tylko L-arabinoza.

To niespecyficzne zachowanie się fosforylasy sacharozy zakwalifikowało ten typ enzymu do transglikozydaz. Potwierdziły to badania izotopowe (16). Okazało się, że zarówno fosforylaza z *Leuconostoc* jak i z *Pseudomonas sacharophila* przenoszą jednostki glikozyłowe pomiędzy znaczną liczbę substratów. Akceptorami są oprócz wymienionych wyżej cukrów prostych także fosforan nieorganiczny, przy czym typ wiązania glikozydowego jest zachowany przy tych przeniesieniach. Mimo znacznych różnic w substratach reakcji podczas syntezy dwucukrów, odwrócenie fosforolizy jest katalizowane przez jeden i ten sam enzym. Mechanizm fosforolizy tego typu odbiega od klasycznego.

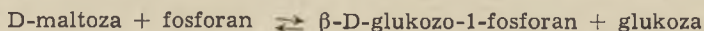
Fosforylaza nukleozydowa. Inny typ fosforylasy został opisany przez H. Kalkara (17) w r. 1947. Z wątroby wydzielony został enzym, który

rozkłada przy udziale ortofosforanu niektóre nukleozydy. Produktem reakcji jest rybozo-1-fosforan i wolna zasada. Odwrócenie reakcji fosforolizy daje nukleozydy:



Powstające w tej reakcji β -glikozydy są rybozydami i dezoksyrybozydami niektórych zasad purynowych: hipoksantyny, adeniny i guaniny. Także amid kwasu nikotynowego i 4-amino-5-imidazolokarboksamid mogą być akceptorami reszt glikozylowych. Enzym został wyodrębniony z wątroby i śledziony.

Fosforylaza maltozy. C. Fitting i M. Doudoroff (18) wykryli w r. 1952 w wyciągach z *Neisseria meningitidis* enzym, który katalizuje fosforolizę maltozy. Produktami tej reakcji jest β -D-glukoza-1-fosforan i glukoza. Enzym jest wysoko swoisty. Maltozę nie można zastąpić żadnym innym naturalnym dwucukrowcem lub wielocukrowcem. W reakcji odwrotnej zamiast glukozy można użyć D-ksylozy przy czym powstaje redukujący dwucukier, glukozydo-ksyloza.



Dużą niespodzianką w tym odkryciu było stwierdzenie w produktach fosforolizy β -D-glukoza-1-fosforanu. Jego optyczny izomer, α -D-glukoza-1-fosforan nie zastępuje go jako substrat w syntezie maltozy. Maltoza może być zmieniona w α -D-glukoza-1-fosforan w innej reakcji, opisanej przez M. Doudoroff i współpracowników (19) tylko poprzez wielocukrowiec, który powstaje z maltozy pod działaniem enzymu, amylomaltazy, wydzielonego z mutantu *E. coli*. Powstanie bezpośrednio β -D-glukoza-1-fosforanu w reakcji fosforolizy maltozy wskazuje na to, że mamy tu do czynienia z inwersją waldenowską. Zjawisko to występuje podczas działania innych fosforylaz, np. nukleozydowej i dezoksynukleozydowej.

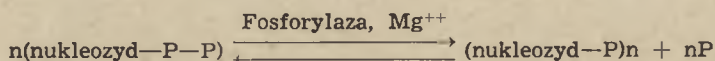
Fosforylaza maltozowa katalizuje wymianę między ortofosforanem a β -D-glukoza-1-fosforanem tylko w obecności glukozy. Również i wymiana między wolną glukozą i maltozą zachodzi tylko w obecności fosforanu (18). Jeżeli inkubuje się glukozę wraz z ^{14}C - β -glukozofosforanem w obecności fermentu, syntetyzowana maltoza jest radioaktywna w części glikozylowej. Z piętnowanej glukozy i nieznaczonego β -glukozofosforanu powstaje w tych warunkach maltoza z piętnem w części redukującej (20).

Fosforylasy glikozydowe. Wyżej opisane enzymy katalizujące reakcje fosforolityczne należą pod względem typu wiązania rozszczepianego, do fosforylaz glikozydowych. Oprócz fosforylasy glikogenu i skrobi zaliczamy do tej grupy fosforylazę sacharozy, maltozy oraz fosforylasy nukleozydowe. Tablica 1 (35) zestawia typy syntetyzowanych glikozydów, typy estrów, które powstają w reakcji fosforolitycznej oraz akceptory reszt glikozylowych.

Główną cechą charakterystyczną tu zestawionych enzymów jest tworzenie połączenia pośredniego, glikozyloenzymu. Akceptorem reszty glikozylowej mogą być różne akceptory, bądź to natury cukrowej bądź też typu zasady azotowej. Charakterystycznym dla syntezy glikozydów lub N-glikozydów jest rozerwanie wiązania między C a O w estrze fosforowym, co odróżnia enzym typu fosforylaza od innych enzymów rozszczepiających estry fosforowe. Zagadnienie to będzie jeszcze poruszone poniżej.

Fosforylaza polinukleotydoma. Enzym ten został odkryty przez M. Grunberg-Manago i S. Ochoa (21) w 1955 r. podczas badań nad mechanizmem biologicznej fosforylacji w drobnoustrojach. Okazało się, że wyciągi z *Azotobacter vinelandii* katalizują wymianę ^{32}P ortofosforanu z końcowymi grupami fosforanowymi znajdującymi się w pirofosforanach adenozyiny, inozyiny, guanozyiny, urydyny i cytydyny (chodzi tu o pochodne 5'-nukleozydów). W reakcji tej pojawiał się wolny, niepiętnowany ortofosforan, enzym działał tylko w obecności jonu Mg^{++} .

Dalsze badania Ochoa i współpracowników (22) doprowadziły do wydzielenia i wysokiego oczyszczenia enzymu, który katalizuje syntezę wielkocząsteczkowych polinukleotydomów z dwufosforanów (pirofosforanów) 5'-nukleozydomowych z równoczesnym uwolnieniem ortofosforanu nieorganicznego. Reakcja ta jest odwracalną i daje się przedstawić następującym równaniem:



w którym P-P oznacza pirofosforan, a P ortofosforan. Enzym został nazwany fosforylazą polinukleotydomową na podstawie analogii z odwracalną syntezą i rozpadem polisacharydomów w obecności fosforylasy. Zadziwiającym w tym niezmiernie ważnym odkryciu był fakt, że fosforylaza z *Azotobacter*, działając na mieszaninę pirofosforanów, adenozyiny, guanozyiny, urydyny i cytydyny syntetyzuje polinukleotydy identyczne z kwasem rybonukleoinowym pochodzenia naturalnego.

Podczas inkubacji dwufosforanów nukleozydomowych z fosforylazą polinukleotydomową w obecności jonów Mg^{++} , znikają wolne dwufosforany nukleozydomowe przy czym uwalnia się stechiometryczna ilość ortofosforanu. Reakcja ustaje po osiągnięciu stanu równowagi, gdy 60-80% dwufosforanów nukleozydomowych zniknęła. Z mieszaniny reagującej wydzielono i oczyszczono wysokocząsteczkowe polinukleotydy, które poddane badaniom chemicznym, fizykochemicznym i enzymatycznym, nie dają się odróżnić od rodzimego kwasu rybonukleoinowego. Masa cząsteczkowa biosyntetycznych polinukleotydomów wynosi od 50,000 — 350,000.

Późniejsze badania wykazały, że fosforylaza polinukleotydomowa jest szeroko rozpowszechniona w świecie bakteryjnym (23). Występuje ona także

w drożdżach (24) oraz w szpinaku. Nie ma dotychczas bezpośrednich dowodów występowania tego enzymu w tkankach zwierzęcych.

Jak wykazały oznaczenia grup końcowych i produktów trawienia enzymatycznego biosyntetyczne polinukleotydy składają się z 5'-nukleotydów tj. 5'-fosforanów nukleozydowych połączonych ze sobą wiązaniem 5' — 3' dwu-

T a b l i c a 1

Synteza glikozydów w reakcjach fosforolitycznych
(Według A. Kornberga)

Fosforylaza	Ester	Akceptor	Glikozyd	Písmien- nictwo
Polisachary- dowa	α -glukoza-1-P	glikogen	glikogen	(36)
	„	maltotetroza	skrobia (amyloza)	(37)
Sacharozy	„	D-fruktoza	sacharoza	(16)
	„	L-sorboza	α -D-glukozydo- sorbofuranozyd	(16)
	„	L-arabinoza	α -D-glukozydo- arabinoza	(16)
	„	D-ketoksyloza	α -D-glukozydo- ketoksyloza	(16)
	„	L-Ketoarabino- za	α -D-glukozydo- ketoarabinozyd	(16)
	Maltozy	β -D-glukoza-1-P	D-glukoza D-ksyloza	maltoza (α -1,4) α -D-glukozydo- ksyloza (?)
Nukleozydów pirymidyno- wych	α -rybozo-1-P	uracyl	urydyna	(39)
	dezoksyrybo- zo-1-P	tymina	tymidyna	(40)
Nukleozydów purynowych	„	uracyl	dezoksyurydyna	(40)
	α -rybozo-1-P	hipoksantyna	inozyna	(17)
	„	adenina	adenozyna	(41)
	„	guanina	guanozyna	(17)
	„	amid kw. niko- tynowego	rybozyd amidu kw. nikotynowego	(42)
	„	4-amino-5-i midazolo-kar- boksamid	rybozyd 4-amino- -5-imidazolo-kar- boksamidu	(43)
	„	azaguanina	rybozyd azaguani- ny	(44)
	dezoksyrybo- zo-1-P	hipoksantyna	dezoksyinozyna	(45) (46)
„	guanina	dezoksyguanozyna	(45, 46)	
„	azaguanina	dezoksyrybozyd azaguaniny	(44)	

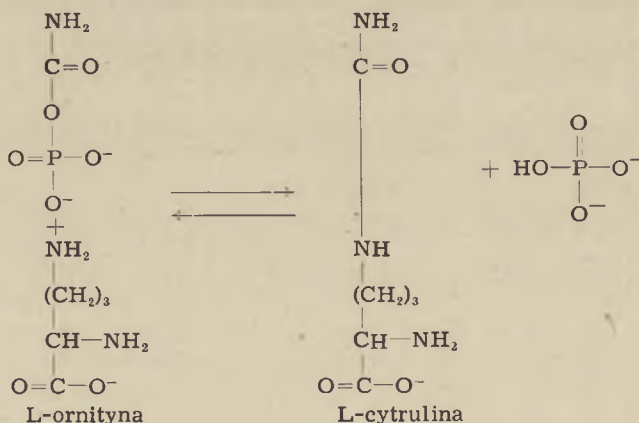
estrowym, przy czym łańcuchy kończą się grupą fosforanową zestryfikowaną z węglem 5' końcowego nukleozydu.

Nie jest dotychczas wyjaśnione, czy istnieje całkowita analogia między fosforylazą polinukleotydotową a fosforylazą polisacharydotową. Np. otwartą jest kwestia potrzeby torowania syntezy przez „primer”, tzn. czy enzym może dołączać jednostki nukleotydotowe tylko do już istniejących łańcuchów. Poza tym, jak zwróciła uwagę Mildred Cohn (25), reakcja różni się od fosforolizy glikozydotowej (fosforylaza mięśniowa, kartoflana) tym, że powstaje w jej następstwie wiązanie P-O-P, a nie C-O-P, jak w tej ostatniej. Bliższe dane o mechanizmie reakcji katalizowanej przez fosforylazę polinukleotydotową będzie można zebrać dopiero po wysokim oczyszczeniu fermentu co jest obecnie w toku.

Analogiczną fosforylazę rybonukleotydotową opisał U. Z. Littauer (32) oraz A. Kornberg (33) w wyciągach z *E. coli*, a R. F. Beers Jun. (34) w *Micrococcus lysodeikticus*. Pierwsi dwaj badacze oczyścili enzym z *E. coli*, który katalizuje odwracalną polimeryzację pirofosforanów nukleotydotowych na wysokocząsteczkowe polinukleotydy typu kwasu rybonukleinowego. Otrzymano polimery adenozyne, urydyny i cytydyny. Wysokocząsteczkowe kwasy rybonukleinowe z drożdży, wirusa żółtej rzepy, oraz zarazka mozaikowego tytoniu ulegały daleko idącej fosforolizie.

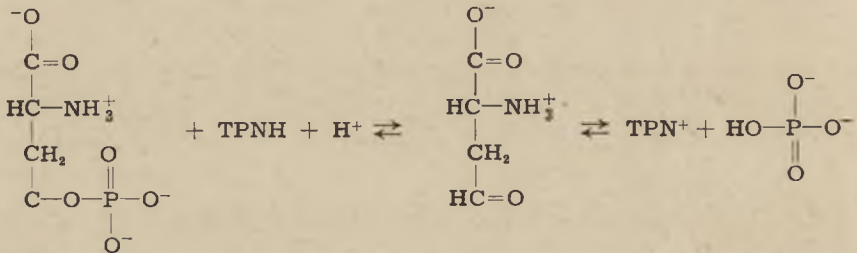
Enzym został częściowo oczyszczony, przy czym uzyskano 280-krotne zwiększenie aktywności w stosunku do surowego wyciągu z komórek bakteryjnych rozbitych ultradźwiękiem.

Fosforylaza ureidowa. Tak można by nazwać enzymy katalizujące odwracalne reakcje karbamylowania w następstwie czego syntetyzują się ureidy (26, 27, 28). Są to typowe reakcje fosforolizy w której tworzy się wiązanie C-O-P

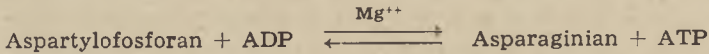


Fosforolizie (P_i = ortofosforan) ulegać ma wiązanie między grupą tiolową glutationu, który jako grupa czynna enzymu (dehydrogenazy) tworzy pośredni związek (enzym-substrat).

Analogiczną reakcję opisał S. Black i N. G. Wright (30). W wyciągach z drożdży znaleźli oni enzym, zwany dehydrogenazą β -semialdehydu asparaginowego, która katalizuje odwracalną redukcję β -aspartylofosforanu przez TPNH. W reakcji tej powstaje β -semialdehyd asparaginowy i uwalnia się ortofosforan:

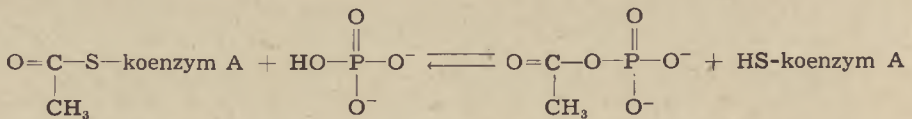


W mniej oczyszczonym wyciągu drożdżowym jest obecna kinaza, która w obecności magnezu, Mg^{++} przerzuca grupę fosforanową z β -aspartylofosforanu na ADP:

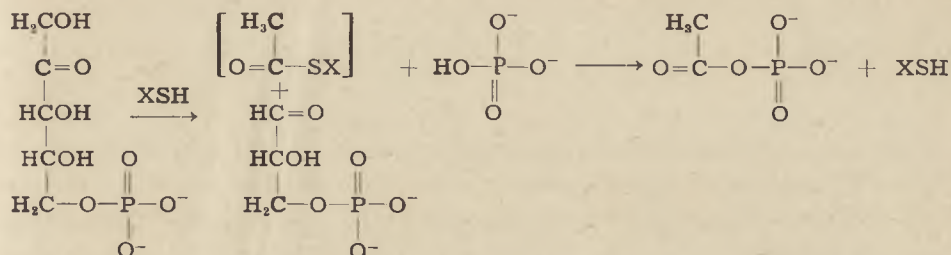


W przebiegu tej reakcji autorzy widzą mechanizm analogiczny do katalizowanego przez dehydrogenazę 3-fosfogliceroaldehydu według Rackera. W obu wypadkach aldehyd w obecności ortofosforanu jest odwracalnie utleniany do acylofosforanu przez nukleotyd pirydynowy. Oba enzymy katalizują arsenolizę acylofosforanów. Oba enzymy zatruwają się kwasem jodoctowym, a więc w reakcji biorą udział grupy tiolowe.

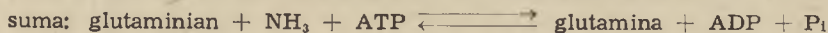
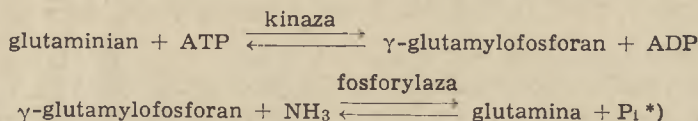
Podobnie rozumiemy obecnie czynność fosfotransacetylazy. Reakcja transacetylacji może być uważana za fosforolityczne rozszczepienie acetylokoenzymu A:



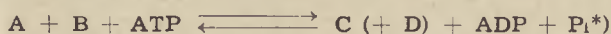
Analogiczne rozszczepienie wiązania tioestrowego z udziałem nieorganicznego ortofosforanu opisali E. C. Heath, J. Hurwitz i B. Horecker (31) w fermentacji pentozy przez *Lactobacillus pentosus*. Używając wysoko oczyszczonego enzymu zamieniali oni ksyeulozo-5-fosforan w acetylofosforan i 3-fosfogliceroaldehyd, przy czym wiązał się nieorganiczny fosforan. Niezbędność grupy SH została wykazana, a za tym fosforan był niezbędny dla rozszczepienia tioestru. Koenzym tej reakcji nie jest znany.



Fosforylasy sprzężone z kinazami. Istnieją dalsze przykłady odwracalnych reakcji, w których najprawdopodobniej bierze udział swoista fosforylaza. Ponieważ jednak z produktu fosforolizy w niezbyt oczyszczonych układach enzymatycznych fosforan zostaje przerzucony przy udziale kinazy, na ADP, nie pojawia się on w produktach końcowych. Takie reakcje cechuje aktywujący wpływ dodanego ATP, którego końcowa reszta fosforanowa pojawia się jako ortofosforan nieorganiczny. Przykładem tego typu reakcji może być synteza glutaminy, którą na podstawie doświadczeń z izotopowym ^{18}C (47) można uważać za sumę dwóch reakcji częściowych:



Niestety nie udało się dotychczas wykazać istnienia γ -glutamylofosforanu jako ciała pośredniego. Wykazano natomiast aktywowanie reakcji przez syntetyczny γ -glutamylofosforan. Udało się to również w reakcji pokrewnego typu, gdzie pośrednim związkiem jest acetylofosforan. Dlatego, zdaniem A. Kornberga (35) w reakcjach aktywowanych przez ATP i przebiegających w myśl ogólnego równania:



w których zmiana wolnej energii jest dosyć mała, jednym z etapów reakcyjnych musi być rozszczepienie wiązania z udziałem fosforanu nieorganicznego. Liczne takie reakcje zostały wykryte w ostatnich latach, ale nie będą one tu dyskutowane, ponieważ nie wydzielono jeszcze z układów enzymatycznych odnośnych fosforylaz.

3. Własności fosforylazy mięśniowej

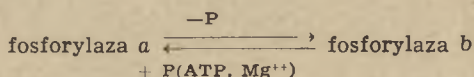
Jedyną gruntownie zbadaną fosforylazą jest enzym z mięśni królika. Szczegółowe dane zawdzięczamy głównie badaniom Coricha i ich współ-

*) P_i — ortofosforan nieorganiczny

pracowników z St. Louis. Z danych tych zestawione będą tu najważniejsze, dla przejrzystości obrazu natomiast pominięte mniej istotne dla tego referatu.

Z mięśni a także z niektórych innych tkanek można wydzielić fosforylaza w dwóch odmianach, nazwanych fosforylaza a i b. (48). Fosforylaza b jest enzymatycznie nieczynna bez dodatku kwasu adenilowego mięśniowego, fosforylaza a jest czynna bez dodatku kwasu adenozy-5'-fosforowego, ale nie wykazuje maksymalnej aktywności. Dodatek nukleotydu zwiększa aktywność fosforylazy o dalsze 50%.

E. L. Rozenfeld i A. N. Pawłowa (49) wykazali odwracalność przemiany fosforylazy a w b, udowodnioną przez G. T. Cori i A. A. Geen (48). Optymalne warunki dla przeprowadzenia fosforylazy b w a opracował Krebs i Fischer (50, 51). Ważna pod kątem zrozumienia mechanizmu fosforolizy odwracalna reakcja:



była badana szczegółowo, zarówno jeżeli chodzi o charakterystykę białek katalitycznych jak i o zmiany w grupie czynnej.

Zamiana fosforylazy a w b jest procesem enzymatycznym. Enzym katalizujący to przekształcenie został wydzielony i oczyszczony (PR enzym). (52). Pierwotnie sądzono, że PR enzym usuwa grupę prostetyczną z fosforylazy a, po tym okazało się że rozszczepia on fosforylaza a na dwie równe części (53). Pomiary w ultracentryfudze wykazały, że fosforylaza a ma masę około 500,000, fosforylaza b prawie dokładnie połowę jej.

Zamianę fosforylazy a w b można również przeprowadzić trypsyną ale reakcja ta, w przeciwieństwie do katalizowanej przez enzym PR nie jest odwracalna.

Fosforylaza a udało się rozczepić odwracalnie na części mniejsze także i w inny sposób. Działając PCMB (benzoesan p-chlorortęciowy) można rozbić enzym najpierw na 2, a po tym na 4 części (54, 55, 56). Po usunięciu PCMB przez cysteinę z 4 cząsteczek monomerów tworzy się ponownie tetramer o masie fosforylazy a, z zachowaną aktywnością enzymatyczną. Proces odwracalnej depolimeryzacji daje się obserwować w ultracentryfudze. Towarzyszy mu znikanie wolnych grup SH białka (których jest 18) podczas rozpadu i ich ponowne pojawienie się podczas reaktywacji enzymu (57). Miareczkowanie wolnych grup SH fosforylazy a daje wyniki zgodne z wartościami otrzymanymi z analizy składu aminokwasowego enzymu, wykonanej przez S. F. Velick i L. W. Wicks (58).

Według pierwotnych poglądów badaczy z St. Louis w tkankach miały istnieć obok siebie, w różnym stosunku ilościowym fosforylaza a i b. Uwagi ich uszły doświadczenia T. Baranowskiego i I. Mochnackiej

(59) opublikowane w *Acta Physiologica Polonica* w r. 1950. Okazało się mianowicie, że wielokrotnie wymyta wodą miazga mięśniowa — w której już nie można wykazać obecności ani fosforylasy *a*, ani fosforylasy *b* — zawiera jeszcze potężną ilość enzymu w formie nieczynnej. Można przez dodanie 0.1 M fluorku sodu otrzymać dalsze porcje fosforylasy *b*, w ilościach znacznie przekraczających wszystko to, co wymyło się poprzednio z mięśnia. Ilość aktywnych fosforylaz przechodzących do wyciągu wodnego stanowi zaledwie 15-30% tego, co znajduje się w mięśniu. Aktywujący wpływ fluorkowy, nazwany „efektem fluorkowym” został przebadany szczegółowo w pięknej pracy I. M o c h n a c k i e j (60), jednak bez znalezienia wytłumaczenia.

Istnienie trzeciej, nieaktywnej formy fosforylasy zostało później zauważone (w r. 1955) przez R. W. C o w g i l l i C. F. C o r i (60) w mięśniach ostrygi. Efekt fluorkowy, który autorowie zauważyli został objaśniony jako zahamowanie enzymatycznej zamiany fosforylasy *a* w *b* (62). Tłumaczenie to nie stoi w zgodzie z obserwacjami I. M o c h n a c k i e j. Autorka ta stwierdziła zupełną nieobecność fosforylaz *a* i *b* w miazdze mięsnej, którą aktywuje fluorkiem. „Efekt fluorkowy” polega nie na zahamowaniu procesu enzymatycznego, ale na uaktywnieniu nieczynnej formy fosforylasy *b* obecnej we włóknie mięsnym. Ta nieczynna forma fosforylasy *b* musi czekać na bliższe zbadanie.

Fosforylaza mięśniowa jest szczególnie interesująca dla bliższych badań ponieważ jest ona enzymem absolutnie swoistym dla α -D-glukopyranozylo-1-fosforanu i wiązania α -1,4-glikozydowego w polisacharydzie (glikogenie). Jest ona hamowana przez glukozę, florydzynę i floretynę. Stała sedymentacji fosforylasy *a* wynosi ($S_{20, \text{woda}}$) 13,2 fosforylasy *b* 8,2. Masa cząsteczkowa obliczona ze stałej sedymentacji oraz stałej dyfuzji wynosi 495,000 i 242,000 (63). Enzymy są euglobulinami, forma *b* jest bardziej rozpuszczalna.

4. Grupa prostetyczna fosforylasy mięśniowej

Bardzo istotnym zagadnieniem na drodze do zrozumienia mechanizmu fosforolizy jest wykazanie, czy enzym posiada grupę prostetyczną, a jeżeli tak, to jaka jest jej budowa. Dlatego niemal od momentu odkrycia enzymu wielu badaczy włożyło dużo wysiłku aby wykryć koenzym lub metal jako grupę czynną. Rzecz szczególna, wszystkie próby wykazania istnienia składnika niebiałkowego w fosforylacie, oraz otrzymania przez dializę apoenzymu zawiodły. Nie udało się tego zrobić dla żadnego typu fosforylasy, a jedyne dane w tym kierunku otrzymał J. B. S u m n e r (64). Po 1.000-krotnym oczyszczeniu fosforylasy z fasoli (jack bean) stwierdził obecność 4 mikrogramów dwunukleotydu adenilowo-flawinowego na 1 mg białka. Barwik jest silnie związany z enzymem i nie daje się oddzielić przez dializę.

Ponieważ mięśniowa fosforylaza *b* jest aktywna tylko w obecności kwasu adenilowego lub inozynowego, sądzono, że nukleotyd ten jest grupą czynną enzymu. Początkowe dane analityczne pracowni w St. Louis (5, 48, 55) wskazywały na obecność rybozy w fosforylazie *a*, brak w *b*. Późniejsze analizy S. F. Velick i L. F. Wicks (58) z tej samej pracowni dokonane na drodze mikrobiologicznej przy użyciu mutantu *E. Coli*, wykluczyły obecność adeniny w fosforylazie *a*.

Wyżej wymieniona praca zasługuje na szersze omówienie, ponieważ opisano w niej próby wykrycia grupy prostetycznej enzymu na większą niż poprzednio skalę. Przebadano mianowicie fosforylazę *a* na obecność większości witaminów rozpuszczalnych w wodzie, ale znaleziono niektóre w tak znikomych ilościach (66, 67), że nie wchodziły one w rachubę. Nie próbowano poszukiwać za grupą witaminu B₆, za wyjątkiem pirodoksyny, którą mierzono testem dekarboksylazy tyrozynowej (W. W. Umbreit). Analizy wykazały mniej niż 0.5 mola pirydoksyny na mol enzymu. Autorzy pracy wyciągnęli z tego następujący wniosek: „Although the B₆ vitamins cling to the protein more tenaciously than do others, there is no reason to believe that they constitute a prosthetic group, since they can be removed by recrystallization under conditions in which the enzyme does not lose activity. Phosphorylase *b* was not activated by pyridoxal phosphate”.

To stwierdzenie niewątpliwie wywarło duży wpływ na kierunek dalszych poszukiwań za grupą czynną. W r. 1952 M. V. Buell (68) otrzymała kwas urydylowy po hydrolizie krystalicznej fosforylazy i sądziła, że nukleotyd urydynowy może być koenzymem niezbędnym dla aktywności fosforylazy glikogenu. Podobne zapatrywanie o aktywacji przez dwufosfonukleotyd głosili E. G. Krebs i E. H. Fischer (50, 51), a poprzednio na taką możliwość wskazywał H. Kalkar (69). Do tego stopnia uważano te, metodycznie niepewne wyniki za prawdopodobne, że S. Korkeš (70) podał nawet próbny schemat mechanizmu działania fosforylazy *a* i *b*, mechanizmu inaktywacji fosforylazy *a*, reaktywacji fosforylazy przez adrenalinę.

Zagadnienie grupy czynnej fosforylazy *a* z mięśnia zostało podjęte na nowo w r. 1956 w pracowni C. F. Coriego podczas pobytu i przy udziale autora niniejszego przeglądu. Użyliśmy wówczas wielokrotnie przekryształizowaną fosforylazę *a* z mięśnia królika potraktowaną między rekryształizacjami z cysteiny-glicerofosforanu a później wersenu — glicerofosforanu kilkakrotnie norytem. W ten sposób zostały zupełnie usunięte wolne nukleotydy i ślady kwasu nukleinowego, bez straty aktywności. Wyniki badań zostały ogłoszone przez T. Baranowski, B. Illinworth, D. Brown i C. F. Cori w lipcu 1957 r. (71). Praca ta doniosła o wydzieleniu z wysoko oczyszczonej fosforylazy *a* mięśnia królika fosforanu pirydoksalu w ilości 4 moli na mol białka.

Identyfikacja grupy prostetycznej enzymu dokonana została wieloma metodami. Przez odbiałczenie fosforylasy a kwasem nadchlorowym lub trójchlorooctowym otrzymano wyciągi, które wykazywały typowe widmo pirydoksalo-5'-fosforanu w całym zakresie pH. Przeprowadzono wydzielenie fosforanu pirydoksalu wytrącając go jako sól barową dwoma objętościami etanolu. Żółty osad wymyto, rozpuszczono w wodzie i ponownie wytrącono alkoholem. Następnie oczyszczono otrzymany materiał na kolumnie z wymiennika jonowego (Dowex 1), poddając go chromatografii absorpcyjnej. W analogiczny sposób oczyszczono syntetyczny pirydoksalo-5-fosforan, przy czym wydajność z kolumny była w obu wypadkach ta sama (40%)

Widma absorpcyjne w ultrafiolecie były identyczne dla syntetycznego i naturalnego fosforanu pirydoksalu, również szybkość wędrowania w elektroforezie bibulowej była ta sama dla syntetycznego materiału i wydzielonego z fosforylasy. W teście biologicznym, opartym na aktywowaniu apotransaminazy glutamo-asparaginowej naturalna i syntetyczna próbka okazały się jednakowo aktywnymi.

Wysoko oczyszczona fosforylaza *a* z mięśni królika zawiera w cząsteczce o masie około 500,000 8 atomów fosforu. 4 z nich znajdują się w 4 cząsteczkach pirydoksalo-5-fosforanu pozostałe 4 pod postacią estru trudnohydrolizującego, który daje się uwolnić z fosforylasy dopiero po strawieniu trypsyną. E. G. Krebs i współpr. (72) wykazali, że między produktami trawienia trypsynowego znajduje się niski peptyd, mający w swym składzie fosfoserynę.

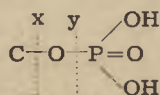
Ostateczny dowód na to, że koenzymem fosforylasy mięśniowej jest pirydoksalo-5-fosforan przeprowadzili C. F. Cori i współpr. (73), którzy uzyskali apoenzym fosforylasy *a* i *b*, aktywujący się przez dodatek naturalnego lub syntetycznego fosforanu pirydoksalu. Wynika z tego, że zarówno fosforylaza *a* jak i *b* posiadają tę samą grupę czynną, a więc defosforylacja obserwowana przez niektórych autorów podczas przejścia formy *a* w *b* nie dotyczy grupy czynnej. Możliwe, że preparaty enzymu PR, które nie są jeszcze dostatecznie oczyszczone zawierają fosfatazę usuwającą resztę fosforanową z fosfoseryny łańcucha peptydowego i wymieniającą tę resztę za fosforan ^{32}P , co obserwowano w doświadczeniach E. G. Krebsa i współpr. (74). Trwałość wiązania fosforanu pirydoksalu z enzymem przypomina trwałość fosfokreatyny, a za tym można przypuszczać, że wiązanie jest typu P-N (azot z wolnej grupy NH_2 lub gwanidylowej białka).

5. Dotychczasowe dane o mechanizmie fosforolizy

Ostatnio dokonane rozpoznanie koenzymu fosforylasy mięśniowej niewątpliwie przyspieszy zgłębienie mechanizmu fosforolizy. Badania izoto-

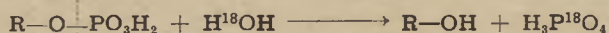
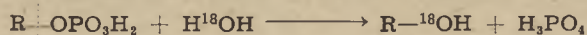
powe będą miały tu głos decydujący. Dlatego nie będzie w tym ustępie dokonany przegląd opublikowanych hipotez, lecz zebrane badania podstawowe. Ponadto będą krytycznie naświetlone te doświadczenia, w których podejście metodyczne wydaje się niezadowolające.

Zacząć należy od rozważań terminologicznych, poruszonych w piśmiennictwie przez B. Axelroda (75). Jeżeli z organicznego estru fosforowego np. typu:



zostaje oderwana grupa $-\text{OPO}_3\text{H}_2$, to znaczy zostaje rozbite wiązanie w miejscu x, wtedy otrzymuje się grupę fosforanową. Jeżeli rozpad nastąpi w miejscu y, to odrywa się grupa fosforylowa. Okazało się, że rozszczepienie typu „fosforanowego” oraz typu „fosforylowego” są dwoma zupełnie różnymi reakcjami.

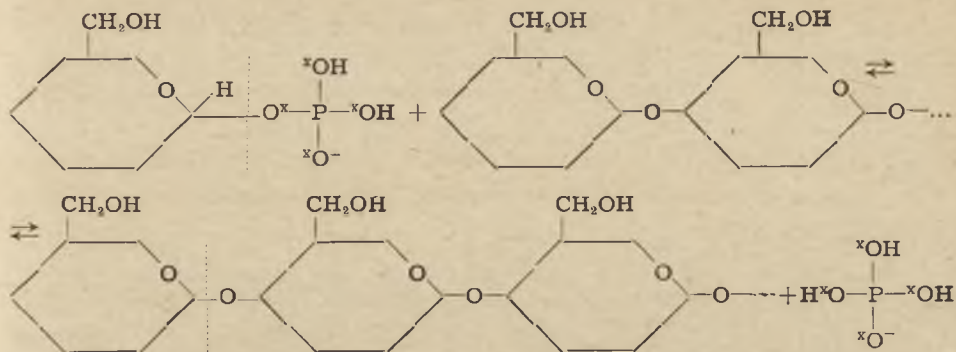
Podstawowe badania nad mechanizmem przeniesienia reszt fosforanowych i fosforylowych zapoczątkowała Mildred Cohn w pracowni Corich. Jej zasługą jest wprowadzenie izotopowego tlenu ^{18}O w badaniach nad mechanizmem rozszczepienia wiązania $-\text{C}-\text{O}-\text{P}$. Dla badania procesu hydrolitycznego używa się najwygodniej H_2^{18}O i oznacza w produktach reakcji nadmiar izotopowy ^{18}O . Piętnowaną będzie grupa wodorotlenowa lub ortofosforan, zależnie od wiązania, które ulega rozpiciu



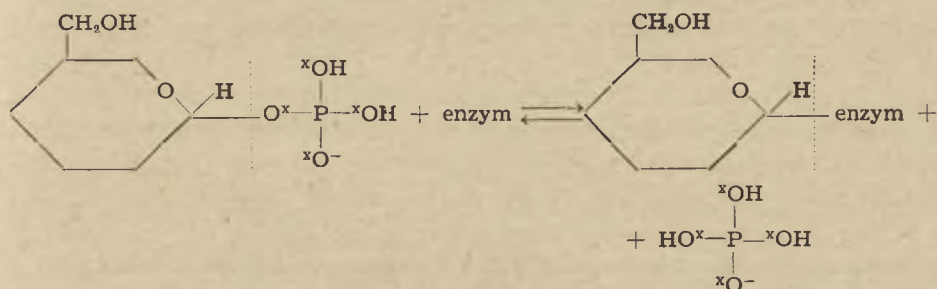
Dla badania fosforolizy wygodnym jest użycie piętnowanego fosforanu $\text{H}_3\text{P}^{18}\text{O}_4$. Używając piętnowanej wody oraz fosforan M. Cohn (76) zbadała zachowanie się glukozy-1-fosforanu w reakcjach hydrolitycznych oraz fosforolitycznych.

Podczas enzymatycznej hydrolizy estru glukozy-1-fosforowego katalizowanej przez alkaliczną fosfatazę rozbijane jest wiązanie między tlenem a fosforem ($\text{C}-\text{O}-\text{P}$). Ten sam mechanizm został stwierdzony przez wcielenie ^{18}O z piętnowanej wody w fosforan nieorganiczny podczas hydrolizy estru w obecności kwaśnej fosfatazy.

W reakcji syntezy polisacharydu katalizowanej przez fosforylazaę mięśniową rozbijane jest wiązanie między węglem a tlenem ($\text{C}-\text{O}-\text{P}$). Wskazują na to wyniki doświadczalne (77): zawartość ^{18}O w uwolnionym ortofosforanie jest po osiągnięciu równowagi chemicznej taka sama jak w estrze Corich, który był wyjściowym substratem reakcji. Należy więc fosforolityczne rozszczepienie wiązania estrowego sformułować następująco (x oznacza ^{18}O):



W przypadku fosforylasy mięśniowej został zbadany izotopowo mechanizm przebiegu reakcji w obu kierunkach a także rozszczepienie kompleksu glukoza-enzym. Został on sformułowany następująco:



Zostały więc wyznaczone kryteria reakcji fosforolitycznej, odróżniające ten typ reakcji od enzymatycznej hydrolizy. Rozbiciu ulega wiązanie C-O (lub ogólniej X-O), podczas gdy w reakcji katalizowanej przez fosfatazy rozszczepione zostaje wiązanie O-P. Drugim kryterium fosforolizy jest zdolność zastępowania fosforanu przez arsenian. Typowe reakcje fosforolizy przebiegają również jako arsenolizy z tą różnicą, że utworzony ester jest nietrwały i rozpada się, tym razem hydrolitycznie.

Na uwagę zasługuje fakt, że podczas fosforolitycznego rozszczepienia wiązania C-O nie zawsze występuje odwrócenie Waldena, jakiego należałoby oczekiwać w tym wypadku. Nie ma takiego odwrócenia w przypadku fosforylasy polisacharydowej oraz fosforylasy sacharozy. Zawsze syntetycznym produktem działania fosforylasy jest α -glikozyd. Natomiast fosforylaza maltozy produkuje β -glukozyd-1-fosforan, a więc występuje odwrócenie waldenowskie w przebiegu tej reakcji. Także wszystkie fosforylasy N-glikozydowe powodują inwersję na wiązaniu glikozydowym. Jak wiadomo rybonukleozydy są β -glikozydami, natomiast produktem ich fosforolizy jest α -D-rybofuranozo-1-fosforan (78, 79, 80). Syntetyczny β -D-rybofuranozo-1-fosforan jest nieczynny jako substrat fosforylasy nukleozydowej.

Z wyżej opisanych doświadczeń wynika, że w reakcji fosforolizy jest przenoszona reszta fosforanowa, w reakcji katalizowanej przez fosfatazy grupa fosforylowa. Wynika dalej z tego, że obecna terminologia jest niezbyt właściwa i zamiast fosforoliza należałoby mówić „fosfatoliza”. Kompleks enzym-substrat zostaje bowiem rozszczepiony w sposób następujący:

$$\text{enzym} \cdots \text{C}$$

$$\text{H OPO}_3\text{H}_2$$

W tych warunkach nie przenosi się grupa fosforylowa lecz fosforanowa. Termin fosforoliza jednak przyjął się, na skutek szerokiego rozpowszechnienia reakcji tego typu i nie byłoby chyba celowym wprowadzanie zmian, które mogłyby wywołać zamieszanie.

Nie wiele przyczyniły się do dalszego wyjaśnienia mechanizmu fosforolizy liczne doświadczenia wykonane z fosforanem ^{32}P lub ATP napiętnowanym ^{32}P w skrajnej reszcie fosforanowej, których celem było wyjaśnienie stosunku fosforylasy *a* do *b*. Badania E. G. Krebsa i E. H. Fischera (74) wykazały wchodzenie co najmniej dwóch atomów P z ATP podczas enzymatycznej konwersji fosforylasy *b* w *a*. Enzym, zwany enzymem konwertującym jest aktywowany przez dwuwartościowy kationy, jak Mg^{++} lub Mn^{++} . Podobną reakcję opisał T. W. Rall, W. D. Wosilait i E. W. Sutherland (81). Przejście fosforylasy wątrobowej *a* w *b* ma być połączone z odszczepieniem 2 atomów P, które mogą być ponownie dołączone w reakcji analogicznej do opisanej przez E. G. Krebsa i tow. a więc z udziałem ATP. Nie należy jednak zapominać, że fosforylaza *b* mięśniowa i wątrobowa nie zostały jeszcze dostatecznie oczyszczone. Zawierają one napewno ślady enzymu PR oraz być może i niespecyficznej fosfatazy, która może katalizować przeniesienie grup fosforylowych w reakcjach nie związanych z przekształceniem grupy czynnej fosforylasy. Taki zarzut można postawić również i izotopowym doświadczeniom L. Engström i G. Agren (82), którzy po inkubacji fosforylasy mięśniowej z fosforanem ^{32}P w obecności glikogenu stwierdzili silne napiętnowanie enzymu, którego nie obserwowano w nieobecności glikogenu. Fosforan ^{32}P odnalazł się w formie fosfoseryny, którą wydzielono po zhydrolizowaniu fosforylasy. Sami autorzy przyznają jednak, że czystość przez nich używanego fermentu była niedostateczna.

Ostatnio prowadzone doświadczenia w pracowni C. F. Cori (83) wskazują na to, że 4 atomy organicznie związanego fosforu w fosforylacie mięśniowej występują w formie trudnohydrolizującego estru, typu fosfoseryny lub fosfotyrozyny. Po trawieniu trypsynowym E. G. Krebs i współpr. (84) mieli wydzielić heksapeptyd zawierający w swoim składzie fosfoserynę. Możliwe jest, że pojawiający się w czasie przejścia fosforylasy *a* w *b*, fosforan nieorganiczny jest odrywany enzymatycznie od seryny. Nie mamy jed-

nak żadnych danych, czy odwracalna defosforylacja seryny, znajdującej się w łańcuchu peptydowym fosforylasy ma coś wspólnego z odwracalnym przejściem enzymu z formy *a* w *b*. Nie można też na razie stawiać hipotez odnośnie fosforylowania łańcucha peptydowego enzymu jako etapu mechanizmu fosforolizy.

Wykrycie obecności 4 cząsteczek fosforanu pirydoksalu i stwierdzenie jego niezbędności dla czynności enzymatycznej stawia badania nad mechanizmem fosforolizy na nowej podstawie. Najbliższa przyszłość przyniesie zapewne nowe fakty, które mogą ułatwić rozwiązanie problemu fosforolizy. Informacje o grupie czynnej i mechanizmie enzymatycznym reakcji analogicznych, w których zamiast fosforanu występuje pirofosforan są również dosyć skąpe. Istnieje duża analogia między procesem fosforolizy a pirofosforolizy. Tym większą jest potrzeba wyjaśnienia podstawowych zagadnień mechanizmu fosforolizy i pirofosforolizy, gdyż w reakcjach tych przebiega większość biologicznych syntez ustrojowych, a zwłaszcza syntez biologicznych polimerów.

PISMIENICTWO

1. Parnas J. K., *Ergeb. d. Enzymforsch.* **6**, 57, 1937. Akad. Verlagsges. Leipzig.
2. Parnas J. K., et Baranowski T., *Comptes rend. d. 1. Soc. d. biol.* **120**, 307, 1935.
3. Parnas J. K., *Klin. Wochschr.* **14**, 1057, 1935.
4. Hassid W. Z., Doudoroff M. a. Barker H. A., *The Enzymes* **1**, 1014, 1951, Acad. Press.
5. Meyer K. H., *Adv. Enzymol.* **3**, 127, 1943.
6. Green A. A. a. Cori G. T., *J. Biol. Chem.* **151**, 21, 1943.
7. Ostern P., Guthke J. A. i Umschweif B., *Enzymol.* **3**, 5, 1937.
8. Ostern P. a. Holmes E., *Nature* **144**, 34, 1939.
9. Cori G. T., Cori C. F. a. Schmidt G., *J. Biol. Chem.* **129**, 629, 1939.
10. Ostern P., Herbert D. a. Holmes E., *Bioch. J.* **33**, 1858, 1939.
11. Schäffner A. u. Specht H., *Naturwissensch.* **26**, 494, 1939.
12. Kiessling W., *Bioch. Zeitschr.* **302**, 50, 1939, *Naturwissensch.* **27**, 129, 1939.
13. Kagan B. O., Latker S. N. i Zfasman E. M., *Biochimia* **7**, 92, 1942.
14. Doudoroff M., Kaplan N. a. Hassid W. Z., *J. Biol. Chem.* **148**, 67, 1943.
15. Doudoroff M., Wiame J. a. Wolochow H., *J. Bact.* **57**, 423, 1949.
16. Doudoroff M., Barker H. A. a. Hassid W. Z., *J. Biol. Chem.* **168**, 725, 1947.
17. Kalckar H. M., *J. Biol. Chem.* **158**, 723, 1945; **167**, 477, 461, 429, 1947.
18. Fitting C. a. Doudoroff M., *J. Biol. Chem.* **199**, 153, 1952.
19. Doudoroff M., Hassid W. Z., Putnam E. W., Potter A. L. a. Lederberg I., *J. Biol. Chem.* **179**, 921, 1949.
20. Fitting C. a. Putnam E. W., *J. Biol. Chem.* **199**, 573, 1952.
21. Grunberg-Manago M. a. Ochoa S., *J. Am. Chem. Soc.* **77**, 3165, 1955.
22. Grunberg-Manago, Ortiz P. J. a. Ochoa S., *Bioch. Bioph. Acta.* **20**, 269, 1956.
23. Brummond D. O. a. Ochoa S., *Fed. Proc.* **15**, 225, 1956.

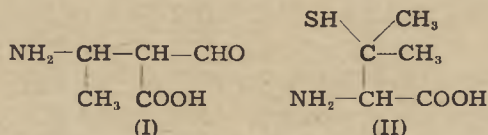
24. Grunbergo-Manago M. cyt. z Ochoa S., *Fed. Proc.* **15**, 832, 1956.
25. Cohn M. cyt. z Kornberg A., *Adv. Enzymol.* **18**, 228, 1957.
26. Jones M. E., Spector L. a. Lippmann F. J., *J. Am. Chem. Soc.* **77**, 819, 1955.
27. Reichard P. a. Hansholt G., *Acta Chem. Scand.* **10**, 548, 1956.
28. Stulberg M. P., Boyer P. D., *J. Am. Chem. Soc.* **76**, 5569, 1954.
29. Racker E., *Phosphorus Metabolism* **1**, 145, 1951, J. Hopkins Press, Baltimore.
30. Black S. a. Wright N. G., *J. Biol. Chem.* **213**, 27, 39, 1955.
31. Heath E. C., Hurwitz J. a. Horacker B. L., *Abstr. Am. Chem. Soc. Meeting, Sept.*, p. 45 C, 1956.
32. Littauer U. Z., *Fed. Proc.* **15**, 302, 1956.
33. Kornberg A., w „Chemical basis of heredity”, Mc Elroy a. Glass, 579, 1957, Baltimore.
34. Beers R. F. Jr., *Nature* **177**, 790, 1956.
35. Kornberg A., *Adv. Enzymol.* **18**, 191, 1957, Interscience.
36. Cori G. T. a. Cori C. F., *J. Biol. Chem.* **151**, 57, 1943.
37. Weibull C. a. Tieselius A., *Arkiv Kemi Miner. Geol. A* **19** 1, 1945.
38. Doudoroff M. w S. P. Colowick a. Kaplan N. O. eds., *Methods in Enzymology* **1**, 229, 1955, Acad. Press, New York.
39. Paage L. M. a. Schlenk F., *Arch. Bioch.* **28**, 348, 1950, *Arch. Bioch. Bioph.* **40**, 42, 1952.
40. Friedkin M. J., *J. Cel. Comp. Physiol.* **41**, Suppl. 1, 261, 1953.
41. Korn E. D., Charalampous F. C. a. Buchanan J. M., *J. Am. Chem. Soc.* **75**, 3610, 1953.
42. Rowen J. W. a. Korneberg A., *J. Biol. Chem.* **193**, 497, 1951.
43. Korn E. D. a. Buchanan J. M., *J. Biol. Chem.* **217**, 183, 1955.
44. Friedkin M. J., *J. Biol. Chem.* **209**, 295, 1954.
45. Friedkin M. J., *J. Biol. Chem.* **184**, 449, 1950.
46. Friedkin M. J. a. Kalckar H. M., *J. Biol. Chem.* **184**, 437, 1950.
47. Boyer P. D., Koppe O. J., Luchsinger W. W. a. Falcone A. B., *Fed. Proc.* **14**, 185, 1955.
48. Cori G. T. a. Green A. A., *J. Biol. Chem.* **151**, 31, 1943.
49. Rozenfeld E. L. i Pawłowa A. N., *Dokł. Akad. Nauk SSSR* **74**, 545, 1950.
50. Krebs E. G. a. Fischer E. H., *J. Biol. Chem.* **216**, 133, 1955.
51. Fischer E. H. a. Krebs E. G., *J. Biol. Chem.* **216**, 121, 1955.
52. Keller P. J. a. Cori G. T., *J. Biol. Chem.* **214**, 127, 1955.
53. Keller P. J., *J. Biol. Chem.* **214**, 135, 1955.
54. Madsen N. B. a. Cori C. F., *Bioch. Bioph. Acta* **18**, 156, 1955.
55. Madsen N. B. a. Cori C. F., *J. Biol. Chem.* **223**, 1055, 1956.
56. Madsen N. B., *J. Biol. Chem.* **223**, 1067, 1956.
57. Madsen N. B. a. Guard R. N. F., *J. Biol. Chem.* **223**, 1057, 1956.
58. Velick S. F. a. Wicks L. F., *J. Biol. Chem.* **190**, 741, 1951.
59. Baranowski T. i Mochnacka I., *Acta Physiol. Polon.* **1**, Suppl. 77, 1950.
60. Mochnacka I., *Prace Wrocl. Tow. Nauk. Ser. B*, nr 63, Wrocław 1953.
61. Cowgill W. R. a. Cori C. F., *J. Biol. Chem.* **216**, 133, 1955.
62. Sutherland E. W. w „Phosphorus Metabolism” (eds. Mc Elroy a. Glass) **1**, 53, 1951, J. Hopkins Press, Baltimore.
63. Keller P. J. a. Cori G. T., *Bioch. Bioph. Acta* **12**, 235, 1953.
64. Sumner J. B., Chou T. C. a. Bever A. T., *Arch. Bioch.* **26**, 1, 1949.
65. Cori G. T. a. Cori C. F., *J. Biol. Chem.* **158**, 321, 341, 1945.

66. Miller D. R., Lampen J. O. a. Peterson W. H., *J. Am. Chem. Soc.* **65**, 2369, 1943.
67. Williams R. J., Schlenk F. a. Eppright M. A., *J. Am. Chem. Soc.* **66**, 896, 1944.
68. Buell M. V., *Feder. Proc.* **11**, 192, 1952.
69. Kalckar H. M. w „The Mechanism of Enzyme Action” 713, 1954, Eds. Mc Elroy a. Glass. J. Hopkins Press, Baltimore.
70. Korkes S., *Ann. Rev. Bioch.* **25**, 869, 1956.
71. Baranowski T., Illingworth B., Brown D. H. a. Cori C. F., *Bioch. Bioph. Acta* **25**, 16, 1957.
72. Krebs E. G., prywatne doniesienie.
73. Cori C. F., prywatne doniesienie.
74. Krebs E. G. a. Fischer E. H., *Bioch. Bioph. Acta* **20**, 150, 1956 oraz prywatne doniesienie.
75. Axelrod B. *Adv. Enzymol.* **17**, 159, 1956, Interscience Publ. New York.
76. Cohn W., *J. Biol. Chem.* **180**, 771, 1949.
77. Cohn M. a. Cori C. F., *J. Biol. Chem.* **175**, 89, 1948.
78. Tener G. M., Wright R. S. a. Khorana H. G., *J. Am. Chem. Soc.* **78**, 506, 1956.
79. Wright R. S. a. Khorana R. G., *J. Am. Chem. Soc.* **77**, 3423, 1956.
80. Wright R. S. a. Khorana H. G., *J. Am. Chem. Soc.* **78**, 811, 1956.
81. Rall T. W., Wosilait W. D. a. Sutherland E. W., *Bioch. Bioph. Acta* **20**, 69, 1950.
82. Engström L. a. Agren G., *Acta Chem. Scand.* **10**, 877, 1956.
83. Cori C. F., prywatne doniesienie.
84. Fischer E. H., Graves D. J., a. Krebs E. G., *Fed. Proc.* **16**, 180, 1957.

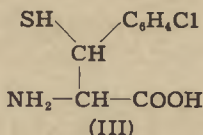
Przy pierwszych próbach syntezy, w których uzyskiwano znikomą aktywność w produktach reakcji, wątpliwe było, czy rzeczywiście otrzymano cząsteczkę penicyliny na drodze syntezy. Du Vigneaud i współpracownicy (5) włożyli wiele wysiłku dla wykazania, że w produktach reakcji rzeczywiście powstała penicylina, choć w ilościach znikomych. Wykazali oni, że istotnie synteza taka miała miejsce. Praca ta, po ukazaniu się doniesień w piśmiennictwie, została zreferowana przez T. Korzybskiego (11). Zadziwiająca przy tym rzeczą był fakt, że przy tej „syntezie” wzięto za podstawę, jak dziś wiemy, fałszywą strukturę cząsteczki penicyliny.

Niepowodzenie w pracach zmierzających do syntezy penicyliny zahamowało te badania na pewien czas. Pod koniec lat czterdziestych prace w tej dziedzinie są skąpe i nie prowadzą do pozytywnych wyników.

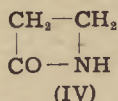
Baker i Ollis (1) w roku 1949 usiłowali uzyskać związek podobny do cząsteczki penicyliny przez próby kondensacji kwasu α -formylo- β -aminomasłowego (I) z D-penicyloaminą (II). Nie uzyskali jednak zamknięcia pierścienia.



Podobnie Cook, Harris, Pollock i Swan (4) w roku 1950 nie uzyskali aktywności biologicznej przy użyciu do kondensacji pochodnej penicyloaminy substytuowanej w pozycji β przez rodnik p-chlorofenylowy (III).

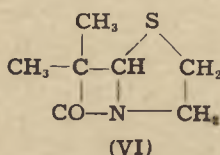
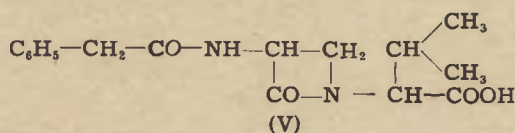


Holley i Holley w latach 1949 i 1950 (7, 8, 9) uzyskali na drodze syntezy ugrupowanie znajdujące się w cząsteczce penicyliny, mianowicie, czteroczłonowy pierścień, taki sam, jaki znajduje się w cząsteczce biologicznie aktywnej. Uzyskali oni laktam kwasu β -aminopropionowego (IV) (2-azetidinon)

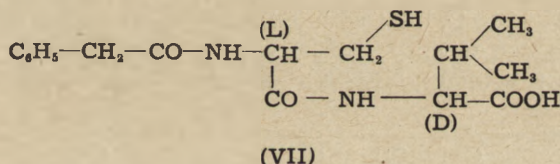


i jego pochodne, destiobenzylpenicylinę (V) i związek zawierający skondensowane ugrupowanie tiazolidyno- β -laktamowe (VI). Związki te jednak były najczęściej zupełnie pozbawione aktywności biologicznej lub wykazy-

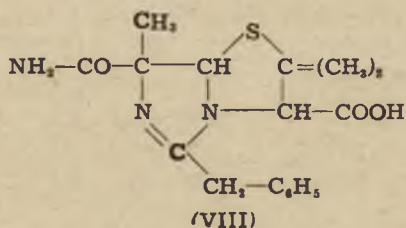
wały ją w bardzo małym stopniu. Związek IV miał 1000 krotnie mniejszą aktywność w stosunku do *Staphylococcus aureus* od penicyliny benzylowej.

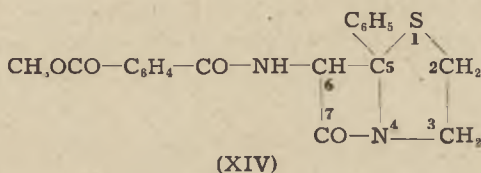
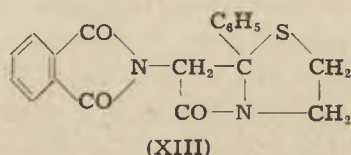
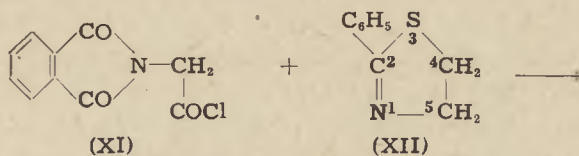


Także i reaktywność chemiczna tych związków była znacznie mniejsza od reaktywności cząsteczki penicyliny. Alkaliczna hydroliza penicyliny, według tych autorów, jest bardzo ułatwiona dzięki atomowi siarki związanemu z pierścieniem β -laktamowym i dzięki sprzężeniu pięcioczłonowego pierścienia z tym pierścieniem. Niewielkiego stopnia aktywność stwierdzili Holly, Peel, Luz i Folkers (10) w syntetycznie otrzymanym peptydzie o budowie N-fenylacetylo-L-cysteinylo-D-waliny (VII). Skład tego peptydu różni się od składu cząsteczki penicyliny benzylowej obecnością 4 wodorów więcej; odjęcie ich mogłoby doprowadzić do wytworzenia charakterystycznego dla tej cząsteczki skondensowanego pierścienia tiazolidyno- β -laktamowego.

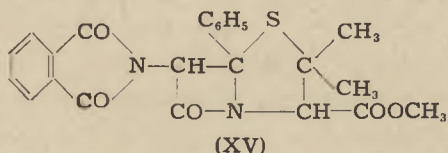


Stavely i Berestecki (32, 33) przy próbach uzyskania homologu penicyliny z grupą metylową stojącą w pozycji 6 uzyskali tylko pochodną (VIII) nieaktywnego kwasu penilowego. α -metylowe pochodne kwasu penaldowego nie dały z penicyloaminą pochodnej kwasu penicylonowego (penicilloic acid), a tylko ugrupowanie kwasu penilowego (penillic acid), nieaktywnego izomeru penicylin.

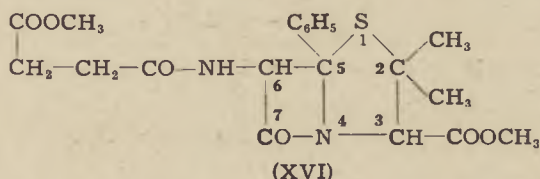




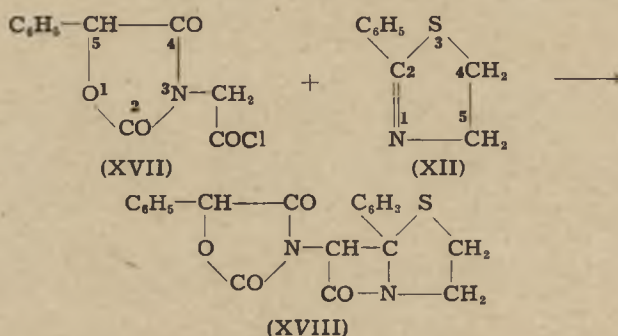
Następnym krokiem było uzyskanie przez Sheehana, Hilla i Buhlego (25) związku (XV), zawierającego ugrupowanie β-laktamowotiazolidynowe, jak w związku (XIV), ale posiadającego podobnie jak w cząsteczce penicyliny dwie wolne grupy metylowe i grupę karboksylową przy pierścieniu tiazolidynowym.



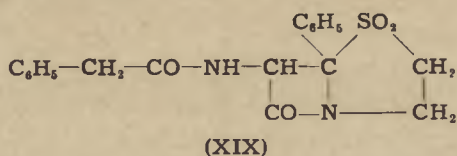
Przez utlenienie nadmanganianem otrzymano sulfon związku (XV). Dalším krokiem przy syntezie Sheehana i Laubacha (29) było zastosowanie chlorku sukcydimidoacetylowego zamiast analogicznej β-pochodnej ftalimidowej. Po otwarciu pierścienia sukcydimidowego otrzymano nieaktywny biologicznie związek (XVI), o widmie bardzo podobnym do widma estru metylowego naturalnej penicyliny benzyłowej. Związek ten różnił się od estru metylowego penicyliny benzyłowej tylko obecnością grupy fenylowej w pozycji 5 i budową łańcucha bocznego. Konfiguracja przestrzenna tego związku nie została poznana.



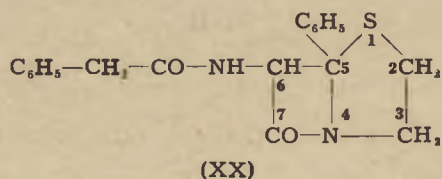
Autorami piątej pracy z tego cyklu są Sheehan i Laubach (29). W pracy tej podano sposób wprowadzenia do bocznego łańcucha reszty fenyloacetyloaminowej, czyli tej, która jest charakterystyczna dla penicyliny benzylowej. Ponieważ acyloaminowe chlorki kwasowe w rodzaju chlorku fenyloacetyloaminooctowego nie dają się uzyskać, a mogłyby one służyć bezpośrednio do wprowadzenia charakterystycznego dla penicyliny benzylowej bocznego łańcucha, należało się uciec do sposobu pośredniego, który znaleziono w zastosowaniu związku (XVII), będącego pochodną 5-fenyloksazolidyno-2,4-dionu. Związek ten z poprzednio używaną 2-fenyl-2-tiazoliną (XII) w trójetyloaminie prowadził z 28% wydajnością do wytworzenia związku (XVIII) z zamkniętym pierścieniem laktamowym. W następnych etapach otwarto pierścień oksazolidynowy, przez co otrzymano biologicznie nieaktywny związek (XIX) z bocznym łańcuchem identycznym z tym, który znajduje się w penicylinie benzylowej.

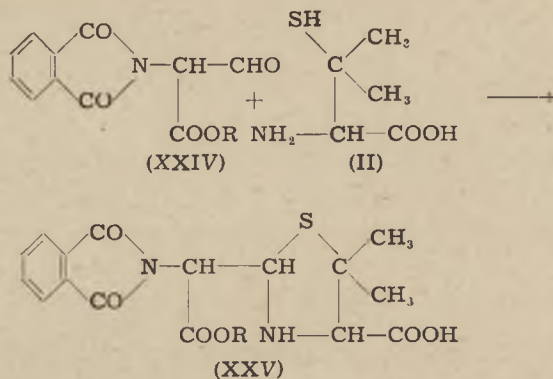


Siarka znajdowała się tu w postaci grupy sulfonowej (16), używane były bowiem czynniki utleniające.

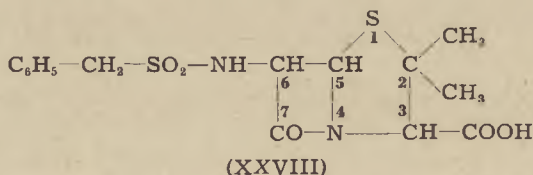
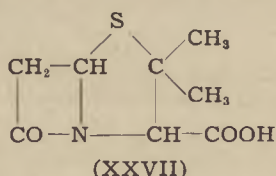
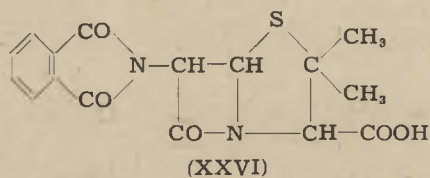


Sheehan i Corey (18) przez zastosowanie innego „odczynnika” dla zamykania pierścienia β -laktamowego uzyskali z dużą wydajnością pierwszą syntetyczną β -laktamo-tiazolidynę, mającą w pozycji 6 resztę fenyloacetyloaminową (XX), czyli identyczną z resztą charakterystyczną dla penicyliny benzylowej. Związek ten był nieaktywny biologicznie.





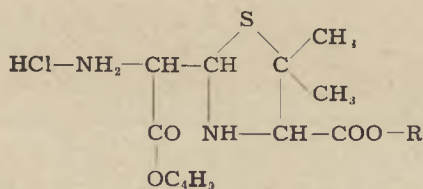
Następne trzy prace z tej serii: dziewiąta, dziesiąta i jedenasta, wykonane przez Sheehana i Cruickshanka, (19, 20, 21) podają sposoby uzyskiwania wolnego kwasu penicylonowego (XXV, R = H), cyklizacji tego kwasu i wytworzenia związku (XXVI), który można nazwać 6-ftalimido-penicylanianem metylowym, ponieważ ugrupowanie cykliczne penicylin nazwano kwasem penicylanowym (XXVII). Otrzymano także pochodną benzylosulfonamidową kwasu penicylanowego o budowie przedstawionej we wzorze (XXVIII). Kwas ten można nazwać kwasem 6-benzylosulfonamidopenicylanowym.



Kwas ten wykazywał już pewną, jednakże jeszcze niską, aktywność biologiczną. Jeden miligram tego związku miał aktywność biologiczną odpowiadającą 18,6 jednostkom penicyliny. Sól sodowa naturalnej penicyliny ben-

zylowej ma moc równą 1667 j w 1 mg, czyli około 100 razy większą. Ta pochodna sulfonylowa penicyliny, różniąca się od penicyliny benzylowej wyłącznie obecnością grupy SO_2 znajdującej się w miejscu grupy CO łańcucha bocznego, jest odporna na działanie kwasów mineralnych, ponieważ nie może w niej powstawać niekorzystne przegrupowanie w kierunku wytworzenia nieaktywnego kwasu penilowego.

W pracy Sheehana i Hoffa (26) podano szczegóły metody otrzymywania tej pochodnej benzylosulfonoamidowej kwasu penicylanowego (XXVIII), którą uzyskano w konfiguracji identycznej z konfiguracją naturalnych penicylin. Droga ta była następująca. Ester III-rz. butylowy kwasu ftalimidoaldehydomalonowego (XXIV, $\text{R} = \text{C}_4\text{H}_9$) z D-penicyloaminą (II) dawał związek (XXV). Po zablokowaniu grupy karboksylowej resztą benzylową uzyskano preparat składający się z dwóch izomerów (naturalnego α i drugiego, nienaturalnego, nazwanego γ — w stosunku 2 : 9). Przez ogrzewanie z trójetyloaminą przeprowadzono izomeryzację (z wydajnością 43—68%) w kierunku pożądanego izomeru α , po czym działaniem hydrazyny w temperaturze pokojowej, a następnie działaniem kwasu solnego usuwano grupę ftalimidową, uzyskując związek (XXIX) posiadający ważne znaczenie (patrz niżej). Wprowadzono następnie jako boczny łańcuch grupę benzylosulfonową, usuwano rzesztę izobutylową i cyklizowano za pomocą chlorku tionylu. Wydajności poszczególnych kroków wahały się około 50%. Otrzymano w ten sposób krystaliczny ester benzylowy kwasu benzylosulfonamidopenicylanowego, a także wolny kwas (XXVIII) o naturalnej konfiguracji.



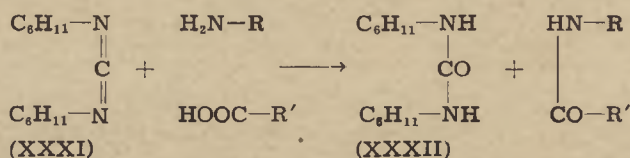
(XXIX) ($\text{R} = \text{---CH}_2\text{---C}_6\text{H}_5$)

(XXX) ($\text{R} = \text{H}$)

Kluczowy związek (XXIX) dawał różne możliwości syntezy penicylanianów, gdy używano różne grupy w bocznym łańcuchu przy zablokowanej grupie karboksylowej.

Dalsze prace szkoły Sheehana wykorzystwały stwierdzony przez Brandla i Margreitera (2, 3) fakt, że dawniej już znany rodzaj biosyntetycznej penicyliny fenoksymetylowej nazwanej przez nich penicyliną V (otrzymana z płynów fermentacyjnych *Penicillium*, do których dodano kwas fenoksyoctowy jako prekursor), jest w znacznym stopniu odporny na działanie kwasów.

Drugim ważnym krokiem naprzód było podanie przez Sheehana i Hessa (24) w roku 1955 nowej metody wytwarzania wiązania peptydowego. Odczynnikiem przeprowadzającym tę reakcję jest *N,N'*-dwucykloheksylokarbodwuimid (XXXI), opisany przez Herbicka i Pezzatiego (6) w roku 1933.



Jeżeli na jeden mol aminokwasu (z resztą R) o zablokowanej grupie karboksylowej i jeden mol aminokwasu (z resztą R') o zablokowanej grupie aminowej zadziałać małym nadmiarem tego odczynnika (w tetrahydrofuranie), to już po 4 godzinach uzyskuje się w temperaturze pokojowej (co jest specjalnie ważne) kondensację i wytworzenie peptydu. Odczynnik przy tym przechodzi w nierozpuszczalną pochodną mocznika (XXXII). Dodanie małej ilości kwasu octowego prowadzi do rozłożenia nadmiaru związku (XXXI) i usunięcia nierozpuszczalnego produktu. Po usunięciu rozpuszczalnika za pomocą octanu etylu i przemyciu rozcieńczonym kwasem solnym i wodnym roztworem dwuwęglanu można strącić produkt dodatkiem eteru naftowego. Wydajność kondensacji wynosi około 87%.

Reakcja ta posiada następujące zalety. Przebiega w temperaturze pokojowej. Nie jest wrażliwa na wilgoć, może bowiem przebiegać nawet w wodnym roztworze. Jest selektywna, można było bowiem wytwarzać na przykład wiązanie peptydowe używając karbobenzylooksyseryny jako czynnika acylującego bez konieczności blokowania grupy hydroksylowej seryny. Reakcja nie powoduje racemizacji, co jest ważne przy użyciu jako czynnika acylującego optycznie czynnego dwupeptydu z wolną grupą karboksylową lub aminową. Jest to fakt, jak podkreślają autorzy, mający specjalne znaczenie przy syntezie większych peptydów składających się z 2, 3 lub większej ilości reszt aminokwasowych. Wreszcie uboczny produkt reakcji (pochodna mocznika, XXXII) jest bardzo mało rozpuszczalny w większości rozpuszczalników organicznych i w wodzie, dlatego daje się łatwo oddzielić.

Sheehan i Henry-Logan (22) opublikowali w 1957 roku doniesienie o pełnej syntezie penicyliny fenoksymetylowej, czyli penicyliny V. Synteza ta opierała się na uzyskaniu w pierwszych etapach kwasu penicylonowego (XXXIV), będącego pochodną penicyliny V. W końcowym etapie za pomocą odczynnika (XXXI) powodującego powstanie wiązania peptydowego otrzymano zamknięcie pierścienia β-laktamowego i wytworzenie penicyliny V (fenoksymetylowej) o aktywności biologicznej identycznej z aktywnością produktu otrzymanego na drodze biologicznej.

metody otrzymano już około 10 nowych rodzajów penicylin syntetycznych w pracowniach firm farmaceutycznych Stanów Zjednoczonych, w ilościach gramowych. Przez małe zmiany w sposobie przeprowadzania ostatnich kroków syntezy uzyskano syntetyczne penicyliny będące pochodnymi kwasów sulfonowych wprowadzonych do łańcucha bocznego.

Uzyskanie penicyliny fenoksymetylowej (penicyliny V) na drodze syntetycznej z wydajnością ostatniego kroku wynoszącą około 10—12% i średniej wydajności poprzednich kroków wahającej się około 80%, jest ważnym osiągnięciem teoretycznym, a może wywołać ważne skutki praktyczne, mimo że nie wydaje się prawdopodobne, aby metoda ta mogła w najbliższym czasie konkurować skutecznie z metodą biologiczną pod względem opłacalności. Metoda biologiczna została tak dalece opracowana, że koszty produkcji są minimalne i nie łatwo mogłyby zostać obniżone przy syntezie chemicznej, tym bardziej że obecnej wydajności syntezy biologicznej, dochodzącej do kilku (zapewne około pięciu) tysięcy jednostek w 1 ml brzezki, nie można uważać za ostateczny, nie dający się przekroczyć kres osiągnięć.

Praktyczna ważność rozwiązania problemu, który opierał się badaczom przez prawie 15 lat, w ciągu których znaczna ilość najlepszych chemików świata zrezygnowała z prac prowadzonych w tym kierunku, polega na możliwości wytwarzania nowych rodzajów penicylin, nie spotykanych w przyrodzie. Zwłaszcza może tu mieć znaczenie wytworzenie takich pochodnych, które różniłyby się od penicylin dotychczas znanych innymi i zmiennymi podstawnikami pierścienia tiazolidynowego zamiast grup metylowych. Jeżeliby takie odmiany penicylin były obdarzone nowymi korzystnymi własnościami leczniczymi, wtedy nawet kosztowna metoda syntetyczna mogłaby zostać zastosowana w celach produkcyjnych. Można sobie wyobrazić, że pewne rodzaje nowych penicylin, podobnie do penicyliny N (14), czyli cefalosporyny N, mogłyby działać także i w tych wypadkach, w których dotychczasowe rodzaje penicylin nie działają z powodu oporności drobnoustrojów, zwłaszcza gronkowców.

Wpłynęło dn. 6.IX.1957.

LITERATURA

1. Baker W., Ollis W. D. — *Attempted synthesis of penicillin homologs*. J. Chem. Soc. 1949, 345.
2. Brandl E., Margreiter H. — *Ein säurestabiles biosynthetisches Penicillin*., Oesterr. Chem. Ztg. 55, 11, 1954.
3. Brandl E., Margreiter H. — *Stable penicillin derivatives* Pat. austrijski Nr 178. 692, zob. Chem. Abstr. 48, 8493c, 1954.

4. Cook A. H., Harris G., Pollock J. R. A., Swan J. M. — *Syntheses in the Penicillin Field. Part IX. A synthesis of some penicillamine analogues and attempts to obtain new types of penicillins*, J. Chem. Soc. 1947, 1950.
5. Du Vigneaud V., Carpenter F. H., Holley R. W., Livermore A. H., Rachele J. R. — *Synthetic penicillin*, Science 104, 431, 1946.
6. Herbeck R., Pezzati M. — *Zur Kenntnis aliphatischer Carbodiimide. I Mitteilung*, Ber. 71, 1933, 1938.
7. Holley A. D., Holley R. W. — *Reactivity of benzylpenicillin and model β -lactams toward alkali*, J. Am. Chem. Soc. 72, 2771, 1950.
8. Holley R. W., Holley A. D. — *Synthesis and reactivity of some 1-alkyl-2-azetidinones (N-alkyl- β -lactams)*, J. Am. Chem. Soc. 71, 2124, 1949.
9. Holley R. W., Holley A. D. — *2-azetidinone (β -propiolactam)*, J. Am. Chem. Soc. 71, 2129, 1949.
10. Holly F. W., Peel E. W., Luz E. L., Folkers K. — *N-phenylacetyl-L-cysteinyl-D-valine*, J. Am. Chem. Soc. 74, 4539, 1952.
11. Korzybski T. — *Syntetyczna penicylina*, Pol. Tyg. Lek. 2, 1405, 1947.
12. Korzybski T., Kuryłowicz W. — *Antybiotyki. Pochodzenie, rodzaje, i właściwości*, Państwowy Zakład Wydawnictw Lekarskich, stron 655, Warszawa, 1955.
13. Newton G. F. — *Synthesis of penicillin V*, Nature 179, 892, 1957.
14. Newton G. G. F., Abraham E. P.: *A new type of penicillin from a species of Cephalosporium*, VI Congresso Internazionale di Microbiologia Roma 6—12.IX.1953, Rendiconti 290, 1953.
15. Redakcyjny artykuł — *Penicillin V synthesized*, Chem. Eng. News 35, 32, 1957.
16. Sheehan J. C. — *Totalsynthese des D,L-Methyl-benzylpenicillinsulphons* Angew. Chem. 67, 762, 1955.
17. Sheehan J. C., Buhle E. L., Corey E. J., Laubach G. L., Ryan J. J. *The total synthesis of a 5-phenyl-penicillin: methyl-5-phenyl (carbomethoxyethyl) penicillinate (Preliminary report)*, J. Am. Chem. Soc. 72, 3828, 1950.
18. Sheehan J. C., Corey E. J. — *The synthesis of substituted penicillins and simpler structural analogs. VI. The synthesis of a 6-phenylacetylamino- β -lactam-thiazolidine*, J. Am. Chem. Soc. 73, 4756, 1951.
19. Sheehan J. C., Cruickshank P. A. — *The synthesis of substituted penicillins and simpler analogs. IX. 4-carboxy-5, 5-dimethyl- α -phthalimido-2-thiazolidine acetic acid derivatives*, J. Am. Chem. Soc. 78, 3677, 1956.
20. Sheehan J. C., Cruickshank P. A. — *The synthesis of substituted penicillins and simpler structural analogs. X. The cyclization of 4-carbomethoxy-5, 5-dimethyl- α -phthalimido-2-thiazolidineacetic acid to methyl 6-phthalimidopenicillanate*, J. Am. Chem. Soc. 78, 3680, 1956.
21. Sheehan J. C., Cruickshank P. A. — *The synthesis of substituted penicillins and simpler structural analogs. XI. Methyl-6-benzylsulphonamido penicillanate*, J. Am. Chem. Soc. 78, 3683, 1956.
22. Sheehan J. C., Henry-Logan R. K. — *The total synthesis of penicillin V*, J. Am. Chem. Soc. 79, 1262, 1957.
23. Sheehan J. C., Henry-Logan R. K., Johnson D. A. — *The synthesis of substituted penicillins and simpler analogs. VII. The cyclization of a penicilloate derivative to methyl phthalimidopenicillanate*, J. Am. Chem. Soc. 75, 3292, 1953.

24. Sheehan J. C., Hess G. P. — *A new method of forming peptide bonds*, J. Am. Chem. Soc. **77**, 1067, 1955.
25. Sheehan J. C., Hill H. W., Buhle E. L. — *The synthesis of substituted penicillins and simpler structural analogs. III. Phthalimido- β -lactam-thiazolidines derived from penicillamine*, J. Am. Chem. Soc. **73**, 4373, 1951.
26. Sheehan J. C., Hoff D. R. — *The synthesis of substituted penicillins and simpler structural analogs. XII. 6-Benzylsulphonamidopenicillanic acid*, J. Am. Chem. Soc. **79**, 237, 1957.
27. Sheehan J. C., Johnson D. A. — *The synthesis of substituted penicillins and simpler structural analogs. VIII. Phthalimidomalonylaldehydic esters: synthesis and condensation with penicillamine*, J. Am. Chem. Soc. **76**, 158, 1954.
28. Sheehan J. C., Laubach G. D. — *The synthesis of substituted penicillins and simpler structural analogs. IV. The synthesis of a 5-phenyl penicillin and α -succinimido- β -lactam-thiazolidines*, J. Am. Chem. Soc. **73**, 4376, 1951.
29. Sheehan J. C., Laubach G. D. — *The synthesis of substituted penicillins and simpler structural analogs. V. The application of 5-phenyloxazolidine-2, 4-diones to the synthesis of phenylacetyl-amino- β -lactams*, J. Am. Chem. Soc. **73**, 4752, 1951.
30. Sheehan J. C., Ryan J. J. — *The synthesis of substituted penicillins and simpler structural analogs. I. α -aminomonocyclic- β -lactams*, J. Am. Chem. Soc. **73**, 1204, 1951.
31. Sheehan J. C., Ryan J. J. — *The synthesis of substituted penicillins and simpler structural analogs. II. α -Acylamino- β -lactamthiazolidines*, J. Am. Chem. Soc. **73**, 4367, 1951.
32. Stavely H. E., Berestecki M. — *Homologs of penicillin degradation products. I. α -methyl penaldic acid derivatives*, J. Am. Chem. Soc. **73**, 3448, 1951.
33. Stavely H. E.: *Homologs of penicillin degradation products. II. 6-methyl-D-benzylpenillic acid*, J. Am. Chem. Soc. **73**, 3450, 1951.
34. Tabachnick M., Eisen H., Levine B. — *A new mixed disulphide: Penicillamine-cysteine*, Nature **174**, 701, 1954.

SPIS TREŚCI

J. Heller i Wł. Mozołowski — Jakub Karol Parnas — Działalność nauczycielska w latach 1916—1939	5
Prace Jakuba Karola Parnasa	8
J. K. Parnas — Chemia Fizjologiczna (Przedruk Wstępu Część I)	17
J. K. Parnas — O mechanizmach przemian tkankowych	55
I. Mochacka — Procesy wstępne glikogenolizy	67
T. Mann — Ergotioneina, jej występowanie i rola w przyrodzie .	89
J. L. Reis — O 5-nukleotydzie	95
B. Sobczuk — Wpływ ksantopteryny na przemianę nowotworów	107
T. Baranowski — Współczesny stan badań nad fosforolizą .	121
T. Korzybski — Synteza penicyliny fenoksymetylowej (penicy- liny V) i poprzedzające ją badania	143

INFORMACJE I WSKAZÓWKI DLA AUTORÓW

1. Postępy Biochemii publikują artykuły referatowe ze wszystkich dziedzin biochemii nie drukowane w innych czasopismach. Artykuły drukowane w „Postępkach Biochemii” nie mogą być bez zgody Redakcji drukowane w innych czasopismach.

2. Prace należy przysyłać do redakcji w 3 egzemplarzach. Maszynopis powinien być pisany jednostronnie z podwójną interlinią, z marginesem około 4 cm po lewej stronie i około 1 cm po prawej, oraz numeracją stron. W tekście maszynopisu nie należy robić żadnych podkreśleń na maszynie ani atramentem. Po tytułach nie należy stawiać kropek.

3. Przesłane do redakcji maszynopisy powinny być w postaci gotowej do druku, ilość poprawek nie może przekraczać pięciu na jednej stronie.

Prace nie odpowiadające wymaganiom zostaną przepisane na koszt autora, a odpowiednia kwota zostanie potrącona z honorarium autorskiego.

4. Wszelkie rysunki, wykresy i fotografie należy złożyć razem z maszynopisem na oddzielnych kartkach, w postaci nadającej się do reprodukcji lub przerysowania. Rysunki, wykresy i fotografie powinny być ponumerowane, a w tekście maszynopisu należy wskazać na marginesie miejsca i rozmiary poszczególnych klisz. U dołu rysunku, a przy fotografiach na odwrocie należy czytelnie podać odpowiedni napis oraz tytuł pracy i nazwisko autora. Ostateczne wykonanie rysunków jest obowiązkiem redakcji. Nadmierna ilość rysunków może być wykonana wyłącznie na koszt autora.

5. Wzory lub części wzorów i oznaczenia, których nie można napisać na maszynie, powinny być napisane ręcznie atramentem, bardzo wyraźnie.

6. Tablice powinny mieć nagłówek opisujący ich treść. Sens tablic powinien być zrozumiały bez odnoszenia się do tekstu pracy.

7. Cytowaną literaturę należy wypisać na oddzielnej karcie, wymieniając pozycję w alfabetycznej kolejności autorów. W wykazie podać kolejno liczbę porządkową, nazwisko autora, pierwsze litery imion, skrócony tytuł czasopisma, tom (rocznik), stronę i rok wydania. Np. 3. Bogorad L., Granick S., J. Biol. Chem. 202, 793, 1953. Jeżeli cytowany artykuł ma kilku autorów, należy w wykazie literatury podać nazwiska i początkowe litery wszystkich autorów. Dla cytowanych książek (nie czasopism) należy podać także tytuł książki, nazwisko nakładcy, miejsc oraz rok wydania dzieła. Np. Przyłęcki S. J., Podręcznik Chemii Fizjologicznej, Lemański, Łódź, 1947. Wykaz używanych czasopism podają Rocznik Chemii 26, 497, 1952. Powoływanie się w tekście na odnośną pozycję cytowanej literatury następuje przez wymienienie numeru pozycji wykazu w nawiasie. Np. (10).

8. Autora obowiązuje korekta autorska, którą należy zwracać redakcji w ciągu 3 dni. Korektę należy wykonać kolorowym ołówkiem (nie czerwonym). Koszty spowodowane zmianą tekstu w korekcie poza poprawkami błędów drukarskich ponosi autor. Autorzy wydrukowanych artykułów otrzymują honorarium i 25 bezpłatnych odbitek pracy. Żądanie większej ilości odbitek należy zgłosić piśmiennie przy zwrocie korekty autorskiej. Koszt tych odbitek ponosi autor.

9. Redakcja nie przeprowadza jakichkolwiek zmian w pracy bez zgody autora. Dla dokonania zmian uważanych przez redakcję za celowe dwa egzemplarze pracy odsyła się autorowi, trzeci pozostaje w aktach redakcji.

Cena w prenumeracie: półroczna zł 40.—; rocznie zł 80.—

Prenumeratę przyjmują: 1) Państwowe Wydawnictwo Naukowe, Warszawa, ul. Miodowa 10. Konto PKO Nr 1 — 6 — 100.214, 2) Centrala Kolportażu „Ruch”, Warszawa, Srebrna 12. Konto PKO 16—100.020, 3) oddziały „Ruchu” w Warszawie, w miastach wojewódzkich i powiatowych, 4) urzędy pocztowe i listonosze.

Pojedyncze egzemplarze do nabycia w księgarniach naukowych oraz we Wzorcowni PWN (Warszawa, Miodowa 10).

Prenumerata ze zleceniem wysyłki za granicę — rocznie zł. 112.—
Zamówienia dla zagranicy przyjmuje Przedsiębiorstwo Kolportażu Wydawnictw Zagranicznych „Ruch”, Warszawa, ul. Wilcza 46, Konto PKO nr 1—6—100.024.

Informacji w sprawie sprzedaży egzemplarzy z poprzednich okresów udziela Państwowe Wydawnictwo Naukowe, Dział Czasopism, Warszawa ul. Miodowa 10.