

21.277

12-30-10

ACTA BIOLOGIAE

EXPERIMENTALIS

10
1936
~~VOL. X.~~

SUBVENTIONNÉ PAR LE FOND NATIONAL POUR LA PROTECTION
DE LA CULTURE POLONAISE

VARSOVIE
RÉDACTION ET ADMINISTRATION:
INSTITUT NENCKI (SOC. SCI. VARS.)
8, RUE ŚNIADECKI
1936

<http://rcin.org.pl>

Acta Biologiae Experimentalis.

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

Tom IX, 1935 (pod redakcją K. Białaszewicza) zawiera następujące rozprawy:

M. Wierzuchowski i F. Sekuracki (Warszawa): Badania nad istotą swoisto-dynamicznego działania. Część I. — L. Lubińska (Warszawa): Próba analizy zjawiska „narkozy magnezowej”. II. Wpływ magnezu na obwodowe reakcje nerwowo-mięśniowe. — M. Chejfec (Warszawa): Zachowanie się *Paramecium caudatum* w roztworach glukozy. — Z. Czerniewski (Warszawa): Działanie niektórych środków nasennych na *Spirostomum ambiguum*. — W. S. Holubut (Lwów): O wpływie prądu stałego na zjawiska subordynacji nerwowej. — M. A. Zieliński (Warszawa): Fosfor w rozwoju początkowym żaby. — Z. M. Bieliński (Lwów): O charakterystycznym rysunku krzywej ciśnienia krwi, powstałym wskutek zjawiska interferencji. — G. Szwejkowska (Warszawa): Próba określenia czasu początkowego pracy u człowieka. — J. M. Müller (Lwów): O krystalizacji hemoglobiny z krwi chomika. — W. Milicer (Warszawa): Badania doświadczalne nad systemem neuro-motorycznym *Paramecium caudatum*. — F. Rogoziński i Zb. Głowczyński (Kraków): Naświetlanie a wzrost. — R. Borkowski (Dublany): Wpływ temperatury i promieni pozafioletowych na rozwój śluzowców, w świetle reguły van't Hoffa. — K. Białaszewicz i Ch. Kupfer (Warszawa): O składzie mineralnym mięśni zwierząt morskich. — M. Wierzuchowski i F. Sekuracki (Warszawa): Badania nad istotą swoisto-dynamicznego działania. Część II. — J. Billewicz-Stankiewicz (Poznań): O wpływie adrenaliny na czynność ośrodkowego oddechowego. — M. Wierzuchowski i H. Fiszel (Warszawa): Badania nad istotą swoisto-dynamicznego działania. Część III. — E. L. Wischnowitz (Kraków): Wpływ niżonego ciśnienia atmosferycznego na poziom cholesterolu we krwi.

Cena pojedynczego tomu (około 20 arkuszy): w prenumeracie — 15 zł., oddzielnie — 20 zł. Współpracownicy czasopisma otrzymują 10% ustępstwa.

Zgłoszenie do prenumeraty przyjmuje:

Administracja Instytutu im. Nenckiego T. N. W.
(Warszawa, ul. Śniadeckich 8, tel. 826-31).

Skład główny:

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

ACTA BIOLOGIAE EXPERIMENTALIS

VOL. X.

SUBVENTIONNÉ PAR LE FOND NATIONAL POUR LA PROTECTION
DE LA CULTURE POLONAISE

VARSOVIE
RÉDACTION ET ADMINISTRATION:
INSTITUT NENCKI (SOC. SCI. VARS.)
8, RUE ŚNIADECKI
1936

Redaktor:

K. BIAŁASZEWICZ

Drukarnia Piotr Pyz i S-ka, Warszawa, Miodowa 8.

1 9 3 6

<http://rcin.org.pl>

S o m m a i r e :

Nr.Nr.	pp.
1. R. Truszkowski and S. Gubermanówna . Conditions of extraction of ox-kidney uricase. [Biochemical Laboratory, Medical Faculty, Pilsudski University, Warsaw]	1
2. M. Wierzuchowski i H. Fiszel . Badania nad istotą swoisto-dynamicznego działania. Część IV. Wchłanianie fruktozy przez narządy psa in vivo. <i>Recherches sur la nature de l'action dynamique spécifique. IV. Absorption du fructose par les organes du chien in vivo.</i>	15
3. T. Vieweger i M. Szulzingerówna . O rytmie dobowym w mnożeniu się wymoczków. <i>Sur le rythme journalier dans la multiplication des Infusoires.</i> [Laboratoire de Physiologie Générale de l'Université Libre de Pologne, Varsovie]	37
4. F. Goebel i Zb. Bartosiewicz . Praca gruczołów trawiennych a równowaga kwasowo-zasadowa. <i>Influence des glandes digestives sur l'équilibre acido-alcalin.</i> [Institut de Pathologie Générale et Expérimentale de l'Université de Joseph Pilsudski à Varsovie]	47
5. R. Truszkowski and S. Gubermanówna . Isolation and nature of active products from uricase extracts. [Biochemical Laboratory, Medical Faculty, Pilsudski University, Warsaw]	63
6. E. J. Bieńka i Cz. Szczepański . Skład i właściwości śliny w zależności od charakteru i siły bodźca. <i>Die Abhängigkeit der Zusammensetzung und Eigenschaften des Speichels von der Art und Intensität des Reizes.</i> [Physiologisches Institut an der Universität Warszawa]	77
7. N. Balzam . Losy flory bakteryjnej podczas metamorfozy muchy mięsnej <i>Calliphora erythrocephala</i> . <i>Schicksal der Bakterienflora während der Metamorphose der Fleischfliege Calliphora erythrocephala.</i> [Institut für Pflanzenphysiologie an der Universität Warszawa]	99
8. M. Szulzingerówna i H. Kaluska . Hodowle <i>Paramecium caudatum</i> i <i>Colpidium colpoda</i> na różnych podłożach naturalnych. <i>L'influence des différents milieux naturels de la culture sur la multiplication et le fonctionnement de la vésicule pulsatile des Infusoires (Paramecium caudatum et Colpidium colpoda).</i> [Laboratoire de Physiologie Générale de l'Université Libre de Pologne, Varsovie]	133
9. A. Sławiński . O budowie roztworów koloidalnych. I. Nowy sposób badania koloidów drogą przewodnictwa. <i>Sur la structure des solutions colloïdales. I. Une nouvelle méthode de conductivité pour les investigations des colloïdes.</i> [Institut de Chimie Physiologique, Université de Poznań]	151
10. J. M. Müller . W sprawie heteromorfizmu kryształów barwika krwi konia. <i>Ein Beitrag zum Heteromorphismus der Blutfarbstoffkristalle des Pferdes.</i> [Physiologisches Institut an der Universität Lwów]	161

11. **A. Sławiński.** O budowie roztworów koloidalnych. II. Wewnętrzna budowa erytrocytów. *Sur la structure des solutions colloïdales. II. La structure intérieure des hématies.* [Institut de Chimie Physiologique. Université de Poznań] 173
12. **G. Szwejkowska.** Wpływ temperatury na przebieg krzywej dysocjacji oksyhemoglobiny we krwi żółwia. *L'influence de la température sur le parcours de la courbe de la dissociation de l'oxyhémoglobine dans le sang de la tortue.* [Laboratoire de Physiologie de l'Institut Nencki à Varsovie] 183
13. **T. Baranowski.** Sacharozurja i sacharozemja. *Saccharosurie und Saccharosämie.* [Institut für physiologische Chemie an der Universität Wilno] 196
14. **F. Bonder.** Badania nad wymianą gazową u człowieka w czasie pracy. V. O zachowaniu się przestrzeni martwej dróg oddechowych w okresie początkowym pracy i w czasie wypoczynku. *Recherches sur les échanges gazeux chez l'homme pendant le travail. V. L'allure de l'espace mort des voies respiratoires pendant la période initiale du travail et pendant le repos qui le suit.* [Laboratoire de Physiologie de l'Institut Nencki à Varsovie] 222
15. **J. Konorski i L. Lubińska.** Próba analizy zjawiska „narkozy magnezowej”. III. Mechanizm obwodowego działania magnezu i pozorny charakter zmian pobudliwości nerwowej. *An attempt to analyse „magnesium narcosis”. III. The mechanism of the peripheral action of magnesium and the fallacy of observed changes in nerve excitability.* [Physiological Laboratory of the Nencki Institute, Warsaw] 251
16. **Br. Zawadzki.** Über die gleichzeitige Wirkung zweier Elektrolyte auf die Viskosität von Eigelblösungen. [Physiologisches Institut der Joseph Pilsudski Universität in Warszawa] 282
17. **J. Konorski, L. Lubińska i S. Miller.** Wytwarzanie się odruchów warunkowych w zahamowanej indukcyjnie korze mózgowej. *Elaboration des reflexes conditionnels dans l'écorce cérébrale à l'état d'inhibition induite.* [Laboratoire de Physiologie de l'Institut Nencki à Varsovie] 297
18. **H. Rosenberg.** Badania nad zjawiskami regulowania składu mineralnego cieczy ciała. III. O wpływie wprowadzonych do organizmu soli magnezowych na skład chemiczny surowicy. *Recherches sur la régulation de la composition minérale dans les liquides organiques. III. L'influence des sels de magnésium introduits dans l'organisme sur la composition chimique du sérum.* [Institut de Physiologie des Animaux à l'Université de Varsovie] 331
19. **K. Białaszewicz.** Badania nad przemianą materji i energii w czasie rozwoju owadów. III. O odżywianiu się jedwabnika (*Bombyx mori L.*) w ostatnim okresie wzrostu. *Recherches sur le métabolisme chimique et énergétique au cours du développement des Insectes. III. Sur l'alimentation du ver à soie (Bombyx mori L.) pendant la dernière période de sa croissance.* [Laboratoire de Physiologie à l'Institut Nencki et Institut de Physiologie des Animaux à l'Université de Varsovie] 352
20. **St. Zb. Bartosiewicz.** Skrócenie metody mikro-Kjeldahla w aparacie Parnasa - Wagnera. *Abkürzung der Bestimmungszeit der Mikromethode von Kjeldahl im Apparat nach Parnas - Wagner.* [Institut für allgemeine und experimentelle Pathologie an der Universität Warszawa] 383

[The Biochemical Laboratory, Medical Faculty, Pilsudski University,
Warsaw].

R. Truszkowski and S. Gubermanówna.

Conditions of extraction of ox-kidney uricase.

Received for publication: 17.XII. 1935.

Preliminary experiments on the preparation of soluble uricase were described in Part VII of this series (Truszkowski '34). In the present paper, an account will be given of systematic experiments performed with a view to determining the optimum conditions of extraction of the enzyme. These experiments involved the preparation of large quantities of crude dry uricase, and in view of the low yields and the laborious technique of the method described in Part VII, a new method was elaborated.

The determination of the activity of various preparations involved the establishment of standard conditions of comparison; experiments will be described showing that comparative results can be obtained only when the same volume of solutions, in flasks of the same shape, is taken in every case.

Experimental Methods.

1. Preparation of uricase. Uricase was in some cases prepared according to the method described in Part VII (this will be termed Method I). The following procedure (Method II), which has the merits of economy of material, time, and labour, was later adopted. The extracts are more highly coloured than are those from uricase prepared by the previous method, but for many purposes they serve equally well.

Minced ox-kidney was placed in a 10 litre bottle, and cold water, entering the bottle through a tube reaching to the bottom, was run through until the supernatant liquid became quite clear and colourless. The residual tissue, freed in this way of its soluble constituents, as well as of smaller insoluble particles, was dried at 37° in a current of air, and the dry residue

was ground to an impalpable powder in a mill. The yellow powder so obtained exhibits considerable uricolytic activity, and on extraction with aq. Na_2CO_3 affords deep yellow, active extracts, often possessing a disagreeable odour. The quality of the product is greatly improved by repeated washing on a Buchner funnel with 96% alcohol at room temperature, followed by ether; the washing is continued until the filtrate becomes colourless. The residue is then washed four times with anhydrous alcohol-free ether, spread in a thin layer, and dried at 30° under reduced pressure. The dry uricase so obtained is a light yellow powder, which can be stored for many months without deterioration, on condition that traces of solvent (water, alcohol, ether) are absent, and that undue exposure to the air be avoided. The yield is roughly 100 g. per kg. of kidneys.

2. Solutions of uric acid were prepared by adding uric acid to boiling aq. NaOH (65 ml. of 0.1 N-NaOH per g. of uric acid). The solutions so obtained had pH 8.6—9. Uric acid was determined colorimetrically, by the method of Folin and Denis.

Experimental.

1. Standardisation of conditions of determination of activity of uricase.

Apart from such obvious conditions as that of uniformity of concentration and temperature, it was thought desirable to investigate the effect of varying the volume of the systems examined, viz., to establish whether 2 ml. of uricase added to 20 ml. of aqueous uric acid acts as efficiently as 1 ml. of uricase added to 10 ml. of uric acid. *A priori*, it might be thought that oxidation would be more intense in the latter than in the former case, in view of the better oxygen supply. Preliminary experiments showed that when the same volumes (10 ml.) of an identical uric acid—uricase system were incubated at 37° , the entire uric acid content (10 mg.) was oxidised after 18 hrs. when the solution was in a 100 ml. Erlenmeyer flask, whilst only 5.6 mg. were oxidised when it was in a test-tube. Since in this experiment there were two variables, viz., air-solution interface, and depth of the solution, the experiment was repeated with constant air-water interface, but taking various depths of solution. Ten flat-bottomed test-tubes (of uniform calibre), containing various volumes of a mixture of uric acid and uricase solutions, and 0.5 ml. each of toluene, were kept at 37° for 48 hr., the contents of the tubes were mixed once by inversion, and uric acid was determined.

Table I.

Effect of varying the volume of the systems on the apparent activity of uricase.
Initial uric acid concentration is 0.11%.

Height of column of solution cm.	Vol. of system ml.	Mg. of uric acid after 48 hr. at 37°				
		per ml. of solution		in whole system		
		found	oxidised	initially present	found	oxidised
1.2	1.7	0	1.1	1.87	0	1.87
3.5	5.6	0.24	0.86	6.16	1.34	4.78
5.8	9.5	0.58	0.52	10.45	5.52	4.93
7.3	12.0	0.62	0.48	12.1	7.34	4.76
9.2	15.1	0.77	0.33	16.61	11.6	5.01
11.1	17.6	0.77	0.33	19.36	13.55	5.81
12.7	21.4	0.90	0.20	23.54	19.26	4.28
14.4	23.9	0.90	0.20	26.29	21.51	4.78
16.3	27.7	0.92	0.18	30.47	25.40	5.07
19.6	32.6	0.92	0.18	35.86	31.15	4.71

The results, given in Table I. indicate that the apparent activity of the uricase diminishes at first rapidly, and then more slowly, with increasing height of the column of solution. Since the only difference between the systems consists in the supply of oxygen to the lower layers of solution, it may be concluded that dissolved oxygen in the body of the systems is rapidly consumed, and that further oxidation can take place only at the expense of fresh oxygen diffusing into the liquid from the atmosphere. This oxygen is, however, used up in the upper layers of solution as fast as it diffuses into the liquid, with the result that after a time, a zone forms in which uric acid is completely oxidised, whilst the lower layers, being under practically anaërobic conditions, remain unchanged. Obviously, the thickness of the "oxidised layer" will increase with time, but this process, being dependent on diffusion of uric acid to the upper, and of oxygen to the lower, layers, is relatively extremely slow.

In the experiment described in Table I. it will be observed that, except in the first test-tube, the total amount of uric acid oxidised is approximately constant in all the systems, the mean value being 4.9 mg. This would represent almost entirely uric acid oxidised in the upper zone, and corresponds with a depth of 2.72 cm. for the zone in question.

It follows from the above experiments that care should be taken, in comparing the activity of different samples of uricase, that the total volume of solution should be the same in all cases, and that the containers should as far as possible be of the same shape and size. A further consequence of the above mechanism is that, even under strictly comparable conditions, the amount of acid oxidised will not necessarily be directly proportional to the concentration of uricase, i. e., that the apparent activity of a given preparation may vary, according to its relative concentration.

The following experiment illustrates this point. 0.5—3 ml. of uricase solution were added to a number of flasks containing 10 ml. of 0.1% uric acid, and 0.16% Na_2CO_3 was added to make the volume up to 13 ml. in all the systems, which were then incubated at 37° for 18 hr., and uric acid was determined. The results (Table Ia) indicate that the number of mg. of uric acid oxidised per ml. of uricase solution varies from 7.1 when 0.5 ml. of preparation are taken to 2.90 when 3 ml. are present.

Table Ia.

Activity of a given preparation of uricase taken
in different concentrations.

All systems contain initially 10.81 mg. of uric acid.

Volume of uricase taken ml.	M g. u r i c a c i d		
	in system	oxidised	oxidised per ml. of uricase
0.5	7.26	3.55	7.1
1.0	5.98	4.83	4.83
1.5	4.6	6.21	4.14
2.0	3.45	7.36	3.68
3.0	2.1	8.71	2.90

It was shown in Part IV of this series (Truszkowski '30) that the activity of insoluble preparations of uricase varies widely with the pH of the medium, and that the optimum pH is about 9. The following experiments indicate that the same applies to soluble uricase.

A series of solutions, containing 0.1 N-NaOH and glycine (according to Sörensen) in various proportions, was prepared, to give a pH scale of 6.8 to 12.3. To 10 ml. portions of these

buffer solutions in 100 ml. Erlenmeyer flasks 4 ml. of 0.21% uric acid, 4 ml. of uricase solution (prepared as above) or 0.16% Na_2CO_3 , and 3 drops of toluene were added, and uric acid was determined after 12 hr. at 37°.

Table II.

Dependence of activity of dissolved uricase on the pH of the medium.

All flasks contain 10 ml. of buffer solution, 4 ml. of 0.21% uric acid, 4 ml. of uricase solution, and 3 drops of toluene.

pH of system	Mg. of uric acid after 12 hr. at 37°		
	in control	in system	oxidised
6.8	8.4	2.47	5.93
8.2	8.4	1.5	6.9
8.8	7.4	0	7.4
9.6	7.4	1.05	6.35
10.54	7.4	1.8	5.6
11.81	7.2	7.2	0
12.35	6.0	6.0	0

The results, given in Table II, show that the greatest activity is found at pH 8.8, and that the enzyme is inactivated at pH > 10.5.

It is probable that a temperature of 45° would be the most suitable for the study of uricase, but since in ordinary laboratory practice thermostats are most often regulated at 37°, this temperature was adopted.

The following standard conditions for the determination of the activity of uricase were, on the basis of the foregoing, adopted: The systems should consist of 10 ml. of 0.1—0.2% uric acid solution, 1 ml. of uricase solution, and 0.5 ml. of toluene, in 100 ml. Erlenmeyer flasks, which should as far as possible be of uniform shape. The addition of buffer solution is not necessary, as systems prepared as above are of a suitable pH. Determinations may be made after any time of incubation at 37°; most often 18 hr. will be the most convenient time.

2. Determination of optimum conditions of extraction.

(a) Concentration of Na_2CO_3 .

Ro ('31) found that the most active extracts are obtained using 0.125% Na_2CO_3 . The experiments described below indicate that the optimum concentration of alkali varies according to the

preparation of dry uricase taken, and should be determined separately in each case (Table III).

0.2 g. portions of dry uricase were kept for 48 hr. at 37° with 20 ml. portions of 0 — 0.2% Na₂CO₃ and 1 ml. of toluene, the suspensions were filtered, 1 ml. of filtrate was added to 10 ml. of uric acid solution, and uric acid was determined after 18 hr. at 37°.

Table III.

Dependence of activity of uricase solution on the Na₂CO₃ concentration.
All flasks contain 10 ml. of uric acid, 1 ml. of extract and 0.5 ml. of toluene.

Nature of preparation	Concn. Na ₂ CO ₃ %	initial pH	final pH	Mg. uric acid after 18 hr. at 37°		
				in control	in system	oxidised
Rabbit liver (Method I)	0.04	—	—	7.7	5.2	2.5
	0.08	—	—	7.7	1.9	5.6
	0.12	—	—	7.7	2.9	4.6
	0.16	—	—	7.7	3.4	4.3
	0.2	—	—	7.7	5.7	2.0
Ox-kidney (Method I)	0.03	9.95	8.28	7.7	4.7	3.0
	0.04	10.34	8.48	7.7	2.7	5.0
	0.06	10.44	9.55	7.7	2.0	5.7
	0.08	10.57	9.69	7.7	1.6	6.1
	0.1	10.69	9.95	7.7	2.4	5.3
Ox-kidney (Method II)	0.04	—	—	8.8	4.4	4.4
	0.08	—	—	8.8	2.4	6.4
	0.1	—	—	8.8	0.6	8.2
	0.12	—	—	8.8	0.24	8.56
	0.16	—	—	8.8	0	8.8
0.2	—	—	8.8	0.2	8.6	
Ox-kidney (Method I)	0.04	9.5	7.7	5.9	4.2	1.7
	0.08	10.1	8.7	5.9	1.7	4.2
	0.12	10.34	9.42	5.9	1.7	4.2
	0.16	10.38	9.56	5.9	2.3	3.6
	0.2	10.51	9.37	5.9	2.4	3.5

The results given in Table III indicate that the strength of the extracts rises to a certain concentration of Na₂CO₃, and then falls. This effect is interpreted as being the resultant of two oppositely acting processes; dissolution of some substance of an acidic nature, and its denaturation by alkali.

It was thought, in view of the above, that more active extracts might be obtained by adding the Na₂CO₃ gradually during the course of the extraction; this possibility was in-

vestigated in two ways. In one, the concentration of the Na_2CO_3 was kept constant, but its volume was gradually increased; 0.5 g. of uricase (Method I) was allowed to stand at 37° for 18 hr. with 10 ml. of 0.08% Na_2CO_3 , a further 10 ml. portion of which was added after 25 hr. and 20 ml. after 42 hr. 2 ml. of the extract obtained after 48 hr. added to 10 ml. of 0.06% uric acid solution oxidised 1.8 mg. of uric acid after 20 hr. at 37° ; under comparable conditions, 2 ml. of the extract obtained when 0.5 g. of uricase was kept for 48 hr. with 50 ml. of 0.08% Na_2CO_3 oxidised 4.5 mg. of uric acid.

The experiment was repeated maintaining the volume of the solution constant, but progressively increasing its concentration; 100 ml. of 0.3% Na_2CO_3 were added to 1 g. of uricase, five 0.01 g. portions of Na_2CO_3 were added at intervals during 52 hr., to bring the final concentration to 0.08%; 2 ml. of the filtrate obtained after 48 hr. of incubation oxidised 3.0 mg. of uric acid.

No advantage is therefore gained by varying the concentration or amount of Na_2CO_3 during extraction.

(b) Extraction by other solutions.

The activity of the extracts obtained using solutions of K_2CO_3 , NaOH, and glycine-NaOH buffers (Sørensen) was investigated; in addition, for reasons which will appear in the discussion, extraction with 5% NaCl was studied.

1% solutions of K_2CO_3 , NaOH, and Na_2CO_3 were added to water to pH 9.65, 0.2 g. of uricase (Method I) was added to 20 ml. portions of the solutions, the suspensions were filtered after 48 hr. at 37° , and their uricolytic activity and final pH value determined. (2 ml. of uricase, 10 ml. of 0.078% uric acid). A series of Sørensen's glycine-NaOH buffer solutions (30 ml. portions, pH 7.59 — 10.2) was prepared, 0.3 g. of uricase added to each portion, and the activity of the extracts determined. Finally, 2 g. of uricase were extracted as above with 100 ml. of 0.1% Na_2CO_3 or of 5% NaCl, and the activity of the extracts determined.

Table IV.

Activity of extracts prepared from uricase and aq. K_2CO_3 , NaOH, and glycine-NaOH buffer solutions.
All flasks contain 10 ml. of uric acid, 2 ml. of extract or extractive solution, and 0.5 ml. of toluene.

Nature of extractive solution	pH		Mg. of uric acid after 18 hr. at 37°		
	initial	final	in control	in system	oxidised
Na_2CO_3	9.65	8.11	7.8	3.6	4.2
K_2CO_3	9.65	7.74	7.8	5.8	2.0
NaOH	9.65	6.23	7.8	7.5	0.3
Sørensen's buffers	7.59	—	6.0	5.9	0.1
	7.96	—	6.0	5.4	0.6
	8.68	—	6.0	5.4	0.6
	9.07	—	6.0	4.1	1.9
	9.35	—	6.0	3.0	3.0
	9.5	—	6.0	1.7	4.3
	9.87	—	6.0	2.9	3.1
	10.06	—	6.0	5.9	0.1
	10.2	—	6.0	6.0	0
	0.1% Na_2CO_3	—	—	6.5	4.4
5% NaCl	—	—	6.4	5.4	1.0

The results, given in Table IV, indicate that the activity of the extracts depends not only on the initial, but also on the final pH. Thus NaOH is an unsatisfactory solvent owing to the circumstance that the highest concentration possible without inactivation represents a small amount of base, rapidly neutralised by the acidic constituents of the dry uricase, with the result that the solution becomes actually acid. In conjunction with glycine, NaOH extracts are fully as active as are those with Na_2CO_3 (at pH 9.5). It would follow that the essential conditions for successful extraction are that the initial pH be ≥ 9.5 —9.6, and the final pH ≤ 8.0 ; any alkaline solution fulfilling these conditions would be an equally satisfactory solvent.

(c) Optimum proportion of dry uricase.

A further conclusion to be drawn from the above experiments is that the relative concentration of dry uricase taken for extraction cannot vary beyond certain narrow limits, determined by the necessity of maintaining the pH between 9.5 and 8.0. As is shown by the following experiment, it is not

possible to obtain extracts much more active than those described above by increasing the relative amount of dry uricase.

A number of 0.5 g. portions of uricase (Method I) were extracted with 50, 40, 30, 20, and 10 ml. portions of 0.08% Na_2CO_3 (pH 9.84) (48 hr. at 37°), and the activity of the filtrates was determined.

Table V.

Effect of varying the relative proportions of dry uricase on the activity of the extracts. All flasks contain 10 ml. of 0.075% uric acid, 2 ml. of uricase, and 0.5 ml. of toluene.

Relative proportion of dry uricase %	Final pH	Mg. of uric acid after 18 hr. at 37°		
		in control	in system	oxidised
0.5	9.36	7.5	6.9	0.6
1.0	8.69	7.5	4.4	3.1
1.5	8.66	7.5	2.9	4.6
2.0	8.5	7.5	2.0	5.5
2.5	8.4	7.5	1.9	5.6

The results (Table V) show that no advantage is gained by taking > 2 g. of dry uricase per 100 ml. of solution, and that the final pH falls progressively.

3. Temperature of extraction.

2% suspensions of dry uricase (Method II) in 0.16% Na_2CO_3 were maintained at 37° and 20° , and the activity of the suspensions and of their filtrates was determined after 24 and 48 hr.

The results (Table VI) indicate that about 50% of the activity of the suspension is lost after incubation at 37° for 24 or 48 hr., as compared with about 34% at 20° . The extracts possess equal activities after 24 hr., whilst after 48 hr. the 20° extract is the more active.

It follows that extraction at room temperature is more advantageous than at 37° , and that considerable inactivation of uricase takes place during the process of extraction.

Table VI.

Activity of suspensions and extracts after incubation at 37° and at 20°. All flasks contain 10 ml. of uric acid, 0.3 ml. of suspension + 0.7 ml. of H₂O, or 1 ml. of extract and 0.5 ml. of toluene.

Temp.	Time hr.	Preparation studied	Mg. uric acid after 20 hr. at 37°			
			in control	in system	oxidised	oxidised per ml. of preparation
37°	0	Suspension	8.2	2.1	6.1	20.3
	24	Suspension	8.7	5.9	2.8	9.3
		Filtrate	8.7	2.4	6.3	6.3
	48	Suspension	8.7	5.7	3.0	10.0
Filtrate		8.7	3.2	5.5	5.5	
20°	24	Suspension	8.7	4.8	3.9	13.0
		Filtrate	8.7	2.4	6.3	6.3
	48	Suspension	8.7	4.5	4.2	14.0
		Filtrate	8.7	1.9	6.8	6.8

4. Duration of extraction.

A suspension of 2 g. of uricase (Method II) in 100 ml. of 0.16% Na₂CO₃ was kept at room temperature (10—16°) for 6 days, and the activity of a sample of the well-mixed suspension, and of its filtrate, was determined daily.

Table VII.

Variation of activity of suspensions and extracts with time (room temp.). All flasks contain 10 ml. of 0.115% uric acid, 0.3 ml. of suspension + 0.7 ml. of H₂O, or 1 ml. of filtrate or suspension, and 0.5 ml. of toluene.

Preparation	Mg. uric acid oxidised after 24 hr. at 36° per ml. of preparation, taken after					
	0	24	48	72	96	144 hours
Suspension	12.7	7.3	8.6	7.6	6.3	6.1
Filtrate	—	6.0	7.5	7.5	6.3	5.8

The results (Table VII) indicate that the activity of the extracts is at a maximum when the time of extraction at room temperature is 48—72 hr.

5. Stability of extracts.

An extract (pH 8.7) of 1 g. of dry uricase (Method I) in 0.08% Na₂CO₃ (pH 9.84) was kept at 37° in a stoppered flask with toluene for 1 month, and its activity was tested at

intervals. The results, given in Table VIII, indicate that the activity does not change during the first 4 days, is still considerable after 7 days, and falls to zero after 36 days.

Table VIII.

Stability of extracts of uricase.

All flasks contain 10 ml. of uric acid solution, 2 ml. of uricase, and 0.5 ml. of toluene.

Time elapsed after filtration of extract Days	Mg. uric acid after 20 hr. at 37°		
	in control	in system	oxidised
0	5.8	1.7	4.2
4	5.8	1.7	4.2
6	5.8	2.2	3.6
7	5.8	2.2	3.6
12	5.8	3.2	2.6
20	4.6	3.1	1.5
22	8.8	7.9	0.9
29	8.8	8.2	0.6
36	8.8	8.8	0

Discussion.

The mechanism of oxidation of uric acid in presence of dissolved uricase is, as is shown by the results represented in Table I, considerably more complex than has hithertofore been supposed. Three stages may be distinguished for the systems as a whole, viz., oxidation by dissolved oxygen, followed by oxidation only in the surface layers at the expense of fresh oxygen diffusing from the atmosphere, and diffusion of fresh uric acid from the lower levels, to be oxidised in the surface zone. The velocity of the first stage would obviously be a function of the concentrations of substrate and enzyme, that of the second stage is, in addition, dependent on the area of the air-solution interface, whilst that of the third stage is variable, depending on the relative concentrations of enzyme and substrate. When the concentration of both or of one of these substances is low, the oxygen is not rapidly used up in the surface zone of the system, and can consequently penetrate to a greater depth, whilst when uric acid and uricase are both present in high concentration, oxidation is for a considerable period of time confined only to the surface zone. It is probable that the same

mechanism would apply also to other oxidation systems; the effects in question would, however, be evident only in systems in which the rate of consumption of oxygen exceeds that of diffusion of oxygen in the given liquid.

A further consequence would be that the velocity of reaction would depend on the solubility of oxygen in the given liquid. It was shown by one of us (Truszkowski '30) that the velocity of oxidation of uric acid by insoluble uricase in systems containing glycerol falls linearly with the concentration of the latter, and this effect was tentatively ascribed to increase in viscosity of the medium. Truszkowski and Chajkinówna ('34) found that in the systems uric acid—uricase—aqueous glycerol, sucrose, or gelatin, retardation of reaction was not proportional to viscosity; the present findings indicate that the observed retardation of reaction may be a consequence not only of increased viscosity, but also of diminished solubility of oxygen in glycerol or sucrose solutions.

Experiments on extraction of uricase point to the process consisting in the dissolution of an active substance of an acidic character by the alkaline solvent in conjunction, possibly, with disruption of an insoluble complex of uricase with some other substance; at the same time inactivation by means of alkali takes place, so that the activity of the extract is the resultant of these two opposing processes. Since solutions of high titratable alkalinity favours the former, and of high pH the latter, process, the efficiency of extraction is greater for weak than for strong bases.

At the optimum Na_2CO_3 concentration (which varies according to the content of acidic substances in the dry uricase), considerable inactivation (34—50%) takes place during the first 24 hr. of extraction; the filtrates, however, retain their activity unchanged during at least 4 days. It might be concluded from this that two different uricolytic substances are present, of which the more sensitive to the action of OH' is rapidly inactivated, leaving the more stable one in solution. It seems, however, to be more probable that the lower pH of the extracts sufficiently explains their greater stability, i. e., that the

suspension as a whole would be equally stable in solutions of the final pH.

The higher activity of extracts prepared at room temperature than at 37° might be explained similarly. It is probable that the rate of extraction at 37° is greater than at 15°, but that the rate of inactivation is even more so; hence the higher activity of the latter extracts.

Experiments on the extractive power of NaCl solutions were undertaken owing to a paper by Kleinman ('34), in which extraction of pig-liver by 5% NaCl is stated to give very active extracts. As appears from Table IV, such extracts are considerably less active than are those given by alkaline solutions. Kleinman states that he was the first to obtain uricolytic extracts ('33); apparently he overlooked Ro's paper, published in 1921. Also he publishes as a new discovery that ammonium salts catalyse uricolysis; this was, however, announced by Schittenhelm and Chrometzka in 1927. Finally, in studying the action of his extracts on blood uric acid, he did not take into account the uricolytic action of hemoglobin (Gomolińska, '28). Kleinman's paper will be further discussed in the succeeding part of this series, in which the conditions of precipitation of uricase from its solutions, and the chemical nature of the precipitate will be described.

Summary.

1°. A new method for the preparation of dry uricase has been described.

2°. Standard conditions for the determination of the activity of uricolytic extracts are specified; in particular, the importance of keeping the volume of the systems constant, and of conducting the reactions in vessels of the same shape and size is emphasised.

3°. The reaction is shown to proceed in three stages, involving oxidation in the entire solution by dissolved oxygen, oxidation in the surface zone by atmospheric oxygen, and the gradual extension of this zone downwards as a result of diffusion of fresh uric acid from, or of oxygen to, the lower levels.

4°. The most active extracts of uricase are obtained by filtering a 2% suspension of uricase in Na_2CO_3 solution (of an optimum concentration characteristic for each individual preparation, but of pH \approx 9.8), after standing for 48 hr. at room temperature. No advantage is gained by increasing the relative amount of uricase taken for extraction.

5°. The activity of the extract represents about 50% of the original activity of the powder; the remainder is lost as a result of the chemical action of the alkaline solution on uricase.

6°. The optimum pH for the action of dissolved uricase is 8.8.

The authors have pleasure in acknowledging their indebtedness to Prof. St. J. Przyłęcki for his helpful suggestions and criticism during the conduct of the above research.

References.

- Gomolińska. 1928. *Biochem. J.*, 22 (1307). — Kleinman. 1933. *Biochem. Z.*, 261 (303). — Kleinman. 1934. *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 16 (1252). — Ro. 1931. *J. Biochem.*, 14 (361). — Schittenhelm and Chrometzka. 1927. *Z. physiol. Chem.*, 162 (203). — Truszkowski. 1930. *Biochem. J.*, 24 (1365). — Truszkowski. 1934. *Biochem. J.*, 28 (64). — Truszkowski and Chajkinówna. 1934. *Rocz. Chem.*, 14 (1389).

[Oddział Przemiany Materji przy II. Klinice Chorób Wewnętrznych
Uniwersytetu Józefa Piłsudskiego w Warszawie].

Kierownik: doc. dr. M. Wierzuchowski.

M. Wierzuchowski i H. Fiszel.

Badania nad istotą swoisto-dynamicznego działania.
Część IV. Wchłanianie fruktozy przez narządy psa in vivo.

Recherches sur la nature de l'action dynamique spécifique. IV Partie. Absorption du fructose par les organes du chien in vivo.

Rękopis nadesłany w dniu 30.VIII 1935 r.

Le fructose est, à l'inverse du glucose, absorbé par les organes de façon uniforme, lors de l'introduction intraveineuse ininterrompue de ce sucre. Les vitesses d'absorption du fructose par les organes se rangent dans l'ordre suivant: 1) le foie (21 mg par gramme et par heure), 2) les organes du système porte (3.5 mg p. g. et p. h.), 3) l'appareil moteur (0.40 mg p. g. et p. h.), si on rapporte l'absorption uniquement aux muscles on obtient pour ce tissu 0.80 mg p. g. et p. h., 4) les organes de la tête (0.39 mg p. g. et p. h.), 5) les autres organes — 2.0 mg p. g. et p. h., c'est surtout le poumon qui entre ici en ligne de compte.

Pendant que le fructose est métabolisé dans les organes, le glucose passe par la série habituelle des transformations égales à ceux à l'état du jeune, c'est à dire, il est formé par le foie à la vitesse de 6.1 mg p. g. et p. h., et absorbé par 1) les organes de la tête (1.3 mg p. g. et p. h.), 2) les organes du système porte (1.0 mg p. g. et p. h.), 3) l'appareil moteur (0.02 mg p. g. et p. h.) et 4) les autres organes (0.32 mg p. g. et p. h.).

Un cinquième du fructose absorbé est rejeté par le foie dans le sang sous forme d'acide lactique. Dans les organes de la tête et du système porte le rejet de l'acide lactique dans le

sang ne semble pas être en rapport avec l'absorption du fructose, mais, de même que ceci qui a lieu à jeun, avec celle du glucose. Dans l'appareil moteur par contre, une partie d'acide lactique rejeté peut provenir du fructose.

L'activité glucogénique du foie est maintenue sans changement lors d'introduction de l'inosite, de lactate de soude, et de l'aldéhyde acétique, la vitesse d'absorption du glucose dans différents organes subit par contre des modifications. La formation intense d'acide lactique dans l'appareil moteur lors d'injection d'aldéhyde acétique doit être attribuée à la mobilisation du glycogène, car elle dépasse de beaucoup le rapport habituel d'acide lactique produit par cet appareil, au glucose consommé.

1. Temat.

Przyswajanie fruktozy, wprowadzanej śródżylnie u psa ze stałą prędkością 2 g na kg wagi ciała na godzinę, posiada szereg swoistych cech. Jest ono, jak z glikozą, najsilniejsze po djeicie węglowodanowej, mniejsze po białkowej, a najłabsze po głodzie (W i e r z u c h o w s k i i F i s z e l, '35a). Insulina nie wpływa na nie (W i e r z u c h o w s k i, '26; C o r i i C o r i, '27; C o r l e y, '29), podczas gdy adrenalina ma wybitnie umniejszające działanie o szczególnym charakterze (W i e r z u c h o w s k i i F i s z e l, '35a). Długotrwała praca mięśniowa nie wpływa ani na ilościowe, ani na jakościowe przyswajanie fruktozy (W i e r z u c h o w s k i, C h m i e l e w s k i, G o s t y Ń s k a i F i s z e l, '35). Wątroba psa *in vivo* wyrzuca podczas przetwarzania tej ketoheksyzy wielkie ilości kwasu mlecznego do krwiobiegu (W i e r z u c h o w s k i i S e k u r a c k i, '34b, '35b), wskutek czego znacznie podnosi się jego poziom we krwi (W i e r z u c h o w s k i i Ł a n i e w s k i, '30), jakoteż jego wydalanie z moczem, co dostrzegł M o r a c z e w s k i ('21) przy śródżylnym dowozie fruktozy u człowieka. Tworzenie kwasu mlecznego podczas dowozu fruktozy jest najsilniejsze po głodzie, znacznie mniejsze po djeicie węglowodanowej i białkowej (W i e r z u c h o w s k i i S e k u r a c k i, '35c).

Od-wątrobowy typ krążenia kwasu mlecznego w ustroju żywego psa, przedstawiony w II. części niniejszych badań, zostanie w obecnej pracy uwspółrzedniony z wchłanianiem i przyswajaniem fruktozy przez różne narządy.

2. Dodatki techniczne.

Do oznaczenia fruktozy we krwi użyto metody *Campbell i Hanna'y* ('26). Podczas każdej serji oznaczeń wykonywano odzyskania kontrolne z czystą fruktozą i glikozą w takich ilościach, w jakich zachodziły one we właściwych oznaczeniach. Każdorazowo wartość, uzyskaną we krwi przed dowozem w odpowiednich naczyniach, odejmowano od danych, znalezionych podczas wlewania roztworu fruktozy. Ogrzewanie w łaźni wodnej przeprowadzano we wszystkich oznaczeniach równocześnie w takich samych warunkach. Oznaczenie glikozy metodą drożdżową i całkowitej redukcji („cukru”) we krwi por. *Wierzuchowski i Fiszel* ('35b). Ponieważ reszta redukcyjna okazała się wartością mniej więcej stałą w granicach błędu we wszystkich naczyniach (*Ci sami*), więc obliczenie ilości glikozy w doświadczeniach z fruktozą odbywało się w ten sposób, iż, od całkowitej redukcji w każdej próbie krwi, odejmowano ilość fruktozy i stałą ilość reszty redukcyjnej. Pozostałość uważano za glikozę. Redukcja fruktozy, oznaczona metodą *Hagedorna i Jenseana*, jest ściśle równa redukcji glikozy (*Wierzuchowski i współprac., '30, '31*). Wszystkie inne dane techniczne znajdują się w częściach poprzednich obecnej serji badań.

3. Rezultaty.

A. Fruktaza (Rys. 1).

Fruktaza jest cukrem najlepiej przyswajaniem w warunkach obecnych doświadczeń, gdyż 88% ilości, doprowadzonej przez żyłę, podlega przetworzeniu w ustroju. Ponieważ, w warunkach prawidłowych, zwierzęta przyswajają 93% ilości dowiezionej, więc należy oczekiwać, że przebieg przyswajania w narządach będzie stał blisko stosunków prawidłowych.

Przyjęto, że krew suk dojrzałych nie zawiera naczecz fruktozy, względnie zawiera jej znikome ilości. Ponieważ od wartości, uzyskanej we krwi w każdym naczyniu podczas dowozu fruktozy, odejmowano ilość, zanotowaną naczecz bez dowozu fruktozy w tem samym naczyniu, więc nawet, gdyby się okazało, że we krwi zachodzą jakieś praktycznie uchwytne ilości fruktozy, dane nasze utrzymają swe znaczenie, gdyż stanowią przyrost stężeń i wobec tego przyrost procesów chłonnych dla fruktozy podczas jej dowozu. Darmobyśmy się doszukiwali fazy pierwszej w przebiegu krzywych fruktozy we krwi (por. *Wierzuchowski i współprac., '30, '31*). Zawartość

fruktozy we krwi narasta do poziomu 190 mg% (rys. 1) i na nim utrzymuje się do końca okresu wlewania, podobnie jak



Rys. 1. Wprowadzano sucie Much. przez 6 godzin fruktozę dożylnie (2 g/kg/godz.). Tetragramy cukru we krwi, fruktozy, glikozy i stężenia hemoglobiny. (18.III.1933).

Fig. 1. On injectait à la chienne Much. pendant 6 heures dans le torrent circulaire la fructose à la vitesse de 2 g p. kg et p. h. Tetragrammes du sucre du sang, du fructose, du glucose et de la concentration de l'hémoglobine. (18.III.1933).

krzywe wydalania fruktozy z moczem w odnośnym doświadczeniu, przy przeliczeniu wartości dla psa 25 kg wagi:

	1 godz.	2 godz.	3 godz.	4 godz.	5 godz.	6 godz.	Dalsze razem
Fruktoza, g	5.01	6.64	8.12	8.22	7.70	7.43	1.83

które jednak dopiero w trzeciej godzinie dowozu dochodzą do szczytu, i na nim się utrzymują do końca wlewania.

Bilanse fruktozy w narządach, uzyskane wprost, jako różnica między stężeniem fruktozy w krwi, wpływającej do narządu a stężeniem jej we krwi z niego wyciekającej (tab. I), wykazują, że wątroba wchłania 46.6 mg fruktozy ze 100 cm³ krwi przedostającej się przez narząd, układ motoryczny zabiera 27.9 mg, układ żyły wrotnej 15.9 mg, a wreszcie narządy głowy 9.6 mg. Prawdziwa prędkość chłonna wychodzi na jaw dopiero przy obliczeniu wchłaniania fruktozy przez jednostkę wagową każdej grupy narządów. Obliczenie to łatwo wykonać przy pomocy współczynników podanych w części I (W i e r z u c h o w s k i i S e k u r a c k i, '35a). Wtedy widzimy (tab. II), że wątroba wsysa 20.9 mg fruktozy na gram tkanki na godzinę, dorzeczce wrotne 3.47 mg, układ motoryczny 0.40 mg na gram mieszanej tkanki mięśniowo-skórno-kostnej, z jakiej składa się kończyna (por. c i s a m i), a narządy głowy prawie dokładnie tę samą wartość (0.39 mg). Dla reszty narządów pozostaje 2.0 mg/g/godz.

Szczególnie interesującym jest, jak się zachowuje przetwarzanie glikozy w narządach podczas dowozu fruktozy. Wiemy z dawniejszych badań, że podczas stałego dowozu fruktozy zawartość glikozy we krwi nie podnosi się, ani nie przechodzi glikoza do moczu. Natomiast, podczas działania insuliny, we krwi wybitnie się obniża (W i e r z u c h o w s k i i w s p ó ł p r a c o w n i c y, '30, '31). Również i w obecnych badaniach widać na rys. 1, że zawartość glikozy we krwi rozmaitych narządów w pierwszych godzinach dowozu fruktozy nie podnosi się, jednakowoż w dalszych wykazuje pewne, choć niewielkiego stopnia, wzniesienie: we krwi tętnicy udowej z 80 mg % do 106 mg %. Bilanse glikozy, uzyskane wprost, jako różnica stężeń glikozy we krwi dopływającej i odpływającej z narządu (tab. I), daje następujące cyfry: Wątroba wyrzuca glikozę w ilości 14.2 mg na każde 100 cm³ krwi przez nią przepływającej; inne narządy wchłaniają ją, a m. układ motoryczny w ilości 6.8 mg na 100 cm³ krwi, narządy głowy 18.2 mg %, a narządy układu wrotnego 7.0 mg %. Przy przeliczeniu na 1 gram narządu (tab. II) wątroba produkuje glikozę w ilości 6.1 mg/g tkanki na godz., a inne narządy przyswajają, a więc narządy

głowy 1.28 mg/g/godz., układu wrotnego 1.00 mg/g/godz., narządy układu motorycznego 0.021 mg/g/godz., a pozostałe narządy 0.32 mg/g/godz. Z tetragramu glikozy na rys. 1 widać dwa zasadnicze fakty: 1) że wątroba podczas dowozu fruktozy wciąż wyrzuca glikozę z równą siłą, jak naczecz, i 2) że narządy głowy wchłaniają ją najsilniej. Ten zespół twórczo-chłonny glikozy, zarówno co do swej postaci, jak i co do swego nasilenia, jest dokładnie taki sam, jak opisany przez nas dla psa (przed dowozem śródżylnym), nie otrzymującego przez krótki czas pokarmu (w części III). Intensywne przetwarzanie fruktozy zewnątrz-pochodnej nakłada się więc tylko na prawidłowe przerabianie glikozy wewnątrz-pochodnej. Ponieważ B o l l m a n i M a n n ('31) znaleźli, że z fruktozy tworzy się glikoza w ustroju psa nie tylko w wątrobie, ale i w jelitach, warto ten szczegół sprawdzić na tab. I. Okazuje się, że układ wrotny w dwu doświadczeniach zatrzymuje glikozę, a w dwu innych jej nie zatrzymuje, przeciętnie zaś wchłania glikozę, a nie wyrzuca. Ze względu na to, że krew żyły wrotnej jest krwią, pochodzącą nie tylko z jelita, ale i z innych narządów, więc gdyby nawet jelito wyrzuciło glikozę do krwi żyły wrotnej, zjawisko to mogłoby się we krwi zbiorowej nie ujawnić, ponieważ krew, dopływająca do żyły wrotnej z trzustki i śledziony, mogłaby być silnie deficytowa pod względem glikozy.

Wątroba 25-kilowego psa wchłania więc przeciętnie w tych warunkach 18.22 g fruktozy na godzinę (tab. II), co stanowi 42% całej ilości, z której ustrój korzyść czerpie, a wydała równocześnie 5.31 g glikozy do krwiobiegu. Trudno powiedzieć, w jakim stopniu ta glikoza pochodzi z fruktozy, gdyż, nawet jeżeliby fruktoza nie była wstrzykiwana, i tak wątroba wydzielalaby glikozę w podobnej obfitości. W tym samym czasie narządy układu żyły wrotnej wchłaniają 4.50 g fruktozy, czyli 10% całości przyswojonej, i 1.29 g glikozy. Narządy głowy biorą 0.53 g fruktozy (zaledwie 1% całej asymilacyjnie dostępnej masy), a 1.73 g glikozy. Układ motoryczny czerpie 7.52 g fruktozy, t. j. 18% rozporządzalnej karmi, i 0.32 g glikozy. Ponieważ z moczem odchodzi na godzinę 6.79 g fruktozy, więc z 50 g ketoheksosy, dostarczonej na godzinę, możemy się doliczyć 37.56 g,

Tabela II.

Frukt oza, wlewana dożylnie w sposób jedностajny. Bilanse bezpośrednie, godzinne całkowite i godzinne gramowe narządów dla fruktozy i glikozy. Stosunek ich wzajemny do kwasu mlecznego. Suki Gin., Bell. i Much. Wyjaśnienie znaków znajduje się w części I i III, lecz nie jest potrzebne do zrozumienia tabeli.

Frukt oze introduit de façon uniforme dans le torrent circulatoire. Bilans immédiats, horaires entiers et horaires pour 1 gramme de tissu du fructose et du glucose pour les organes. Leurs rapports réciproques avec l'acide lactique. Chiennes Gin., Bell. et Much. L'explication des symboles est donnée dans les parties I et III, mais elle n'est pas nécessaire pour l'intelligence de ce tableau.

Symbole bilansowe <i>Symboles des bilans</i>	Wartości średnie <i> Valeurs moyennes</i>	Wątroba <i>Foie</i>	Układ motorycz. <i>Système moteur</i>	Narządy głowy <i>Organes de la tête</i>	Dorzecze żyły wrotnej <i>Système de la v. porte</i>	Usunięte z moczem <i>Éliminé avec urine</i>	Reszta narządów <i>Autres organes</i>	Wprowadzone do krążenia <i>Introduit dans la circulation</i>
O_i frukt.	Krew dopływająca, mg% <i>Sang afferent, mg%</i>	v. a. 123,4; 138,2	138,2	133,5	138,2			
O_i frukt.	Krew odpływająca, mg% <i>Sang efférent, mg%</i>	80,1	113,7	129,5	123,7			
B_i frukt.	Bilans, mg% <i>Bilan, mg%</i>	46,0	24,5	4,0	+ 14,5			
B_i^f frukt.	g/godz./25 kg <i>g/h/25 kg</i>	+ 18,22	+ 7,52	+ 0,53	+ 4,50	6,79	+ 12,44	50,00
B_i^f frukt.	mg/g tkanki*/godz. <i>mg/g tissu*/h</i>	+ 20,9	+ 0,40	+ 0,39	+ 3,47		+ 1,99	2,00
W	% catk. ilości przyswoj. <i>% de la quantité assim. tot.</i>	42	18	1	10			29

		Glikoza podczas dowozu frukt. <i>Glucose pendant l'apport du fruct.</i>					Kwas mleczny - <i>Acide lactique</i>				
D _i glik.	Krew dopływająca, mg% <i>Sang afferent, mg%</i>	87.4	100.0	87.4	V. a. 83.2; 87.4	87.4	100.0	87.4			
O _i glik.	Krew odpływająca, mg% <i>Sang efferent, mg%</i>	86.4	86.9	86.4	97.5	86.4	86.9	83.2			
B _i glik.	Bilans, mg% <i>Bilan, mg%</i>	+ 1.03	+ 13.1	+ 1.03	- 13.4	+ 1.03	+ 13.1	+ 4.17			
B _i ^f glik.	g/godz./25 kg <i>g/h/25 kg</i>	+ 0.32	+ 1.73	+ 0.32	- 5.31	+ 0.32	+ 1.73	+ 1.29			
B _i ^f glik.	mg/g tkanki*)/godz <i>mg/g tissu*)/h</i>	+ 0.021	+ 1.28	+ 0.021	- 6.10	+ 0.021	+ 1.28	+ 1.00	+ 1.97*	+ 5.31 z wątroby <i>de foie</i>	+ 0.32*
W											
D _i kw. ml.	Krew dopływająca, mg% <i>Sang afferent, mg%</i>	49.0	50.9	49.0	V. a. 51.4; 49.0	49.0	50.9	49.0			
O _i kw. ml.	Krew odpływająca, mg% <i>Sang efferent, mg%</i>	50.5	52.0	50.5	59.5	50.5	52.0	51.4			
B _i kw. ml.	Bilans, mg% <i>Bilan, mg%</i>	- 1.46	- 1.12	- 1.46	- 9.58	- 1.46	- 1.12	- 2.44			
B _i ^f kw. ml.	g/godz./25 kg <i>g/h/25 kg</i>	- 0.45	- 0.30	- 0.45	- 3.40	- 0.45	- 0.30	- 0.76			
B _i ^f kw. ml.	mg/g tkanki*)/godz. <i>mg/g tissu*)/h</i>	- 0.030	- 0.22	- 0.030	- 3.91	- 0.030	- 0.22	- 0.59			
W											
B _i kw. ml. . 100	Jako % wehlon. fruktozy <i>Comme % du fructose absorbé</i>	6.0	28.0	6.0	18.7	6.0	28.0	16.8			
B _i kw. ml. . 100	Jako % wehlon. glikozy <i>Comme % du glucose absorbé</i>	142	8.5	142	-	142	8.5	58.5			
B _i glik.											

*) Na g tkanki świeżej narządu.

Pour g du tissu frais de l'organe.

**) O ile cała reszta glikozy zostaje wchłonięta przez pozostałe narządy, a nie idzie na podniesienie zawartości glikozy we krwi.

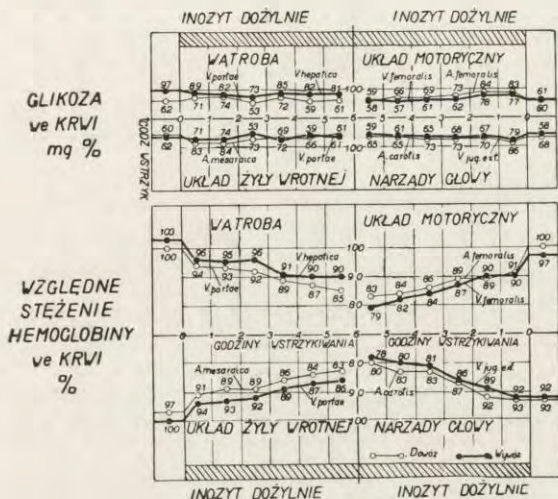
Si l'excès du glucose est entièrement absorbé et ne contribue pas à élever le taux de glycémie.

a więc dla reszty narządów pozostaje 12.44 g fruktozy, czyli 29% przyswajalnego cukru, i reszta glikozy, niepotrzebowana przez narządy głowy, układ motoryczny i dorzecze wrotne, a m. 1.97 g. Wśród tej grupy „reszty narządów” (tab. II) znajdują się płuca, wchłaniające fruktozę tak samo silnie, jak to czyni wątroba, a więc silniej, niż glikozę, i nerki, zużytkowujące ją równie silnie, jak glikozę.

O ile cały kwas mleczny, który tak silnie, podczas dowozu fruktozy, tworzy wątroba, pochodzi z fruktozy, wtedy 19% fruktozy, schwyconej przez wątrobę, przechodzi w kwas mleczny (tab. II). Natomiast w innych narządach wydzielanie kwasu mlecznego do krwi jest prawie takie samo, jak naczczu bez dowozu jakiegokolwiek ciała. Ponieważ równocześnie również wchłanianie glikozy przez te narządy jest analogiczne, jak naczczu, usprawiedliwiony jest wniosek, że wyrzucanie kwasu mlecznego, przynajmniej przez niektóre narządy, stoi w związku z wchłanianiem glikozy, nie zaś fruktozy. Są niemi narządy głowy, z których wydalany do krwi kwas mleczny, stanowi 8.5% wchłoniętej równocześnie glikozy i dorzecze wrotne, w którym wynosi on 58.5% glikozy przyswojonej, wartość więc, jak zwykle w tym obszarze znaczną i zachodzącą w równej mierze naczczu (część III). Natomiast w układzie motorycznym kwas mleczny, odpływający stanowi 142% wchłoniętej przez ten układ glikozy, co przedstawia wartość znacznie wyższą, niż to bywa w tym układzie naczczu. Gdy wziąć pod uwagę, że układ motoryczny czerpie ze krwi w tych okolicznościach 20 razy więcej fruktozy, niż glikozy, staje się rzeczą prawdopodobną, że część odchodzącego kwasu mlecznego może pochodzić z fruktozy.

38% ilości wody, która weszła do ustroju wraz z fruktozą, przechodzi podczas infuzji do moczu. Z tem w związku zdają się stać dane stężenia hemoglobiny we krwi (rys. 1). W obecnych badaniach nie opieramy się na jednorazowym oznaczeniu stężenia względnego hemoglobiny we krwi wchodzącej i opuszczającej narządy, lecz na określeniach wielokrotnych przebiegu zmian. Średnia z szeregu oznaczeń służy za oparcie dla, ostrożnych zresztą, wniosków (por. W i e r z u c h o w s k i i F i s z e l, '35c). Prawie we wszystkich grupach narządów, na rys. 1, krew,

opuszczająca narząd ma większe stężenie hemoglobiny, niż doń wchodząca. Również średnia ze wszystkich wykonanych doświadczeń wskazuje na mierną retencję wody. Przyrost stężenia hemoglobiny we krwi, po przejściu przez narząd, wynosi w wątrobie 3.1%, w układzie motorycznym 0.2%, w narządach głowy 1.3% i w układzie wrotnych 0.8%. W trakcie wlewania krew rozcieńcza się tylko w miernym stopniu — ze 100% na początku na 91% przy końcu.



Rys. 2. Inozyt śródżylnie ze stałą prędkością (0.4 g/kg/godz.) przez 6 godzin. Tetragramy stężenia glikozy i hemoglobiny we krwi. Suka Mat. (8 III.1933).

Fig. 2. Inosite par voie intraveineuse à vitesse constante (0.4 g p. k. et p. h.) pendant 6 heures. Tetragrammes de concentration du glucose et de l'hémoglobine dans le sang. Chienne Mat. (8.III.1933).

B. Doświadczenia kontrolne (inozyt, mleczan sodowy, aldehyd octowy).

Inozyt, odzyskiwany prawie w całości w moczu i w tkankach przy stałym śródżylnym dowozie, nie zmieniał tworzenia glikozy przez wątrobę i wchłaniania jej przez narządy (rys. 2). Wskutek tego doświadczenie z inozytem, na rys. 2, może służyć, jako kontrola, wskazująca, co się dzieje z obrotem glikozy w ustroju, w warunkach naszych doświadczeń, podczas dowozu ciał prawie obojętnych; nie różni się ono od doświadczenia z rozezytnym fizjologicznym w części III (rys. 3). Glikozę, wy-

słaną z wątroby (6.8 mg/g/godz.), podobnie wchłaniają najsilniej nie narządy głowy (0.74 mg/g/godz.), jak to się dzieje naczczzo, lecz narządy dorzecza żyły wrotnej (0.86 mg/g/godz.), a układ motoryczny stoi w tym szeregu na końcu (0.11 mg/g/godz.). Na resztę narządów przypada 0.33 mg/g/godz. (tab. III). Także stosunek przychodu i rozchodu kwasu mlecznego w narządach do obrotu glikozy jest podobny, jak podczas wlewania roztworu fizjologicznego, a także podobny, jak naczczzo (tab. III). Z wody, przedostającej się wraz z inozytem, 56% ściekało przez nerki podczas dowozu. Średnie zmiany w stężeniu hemoglobiny we krwi wędrującej przez narządy, dają obraz następujący: krew, wyciekająca z wątroby ma o 1.6% zwiększone stężenie hemoglobiny, zaś wypływająca z układu wrotnego o 4.3%. Przeciwnie krew przechodząca przez układ motoryczny zyskuje mniejsze stężenie hemoglobiny o 2.0%, zaś sącząca się przez narządy głowy o 1.7%. Podobne dane można odcyfrować z rys. 2.

M l e c z a n s o d o w y (0.5 g/kg/godz.), doprowadzany w wielkich ilościach, dał powolne obniżenie zawartości glikozy we krwi tętniczej z 71 mg % naczczzo do 44 mg % przy końcu dowozu, co może stać w związku z alkalozą ustroju. Wątroba nadal, jak naczczzo, wyrzuca glikozę (8.4 mg/g/godz.). W narządach wchłaniających istnieje pewne przemieszczenie, gdyż najsilniej wchłania dorzecze wrotne (1.9 mg/g/godz.), natomiast bardzo słabo narządy głowy (0.07 mg/g/godz.) i układ motoryczny (0.05 mg/g/godz.). 79% wody wprowadzonej opuszcza ustrój podczas infuzji. We krwi, wydostającej się z wątroby, stężenie hemoglobiny jest, jak zwykle, wyższe, niż we krwi do niej się zbliżającej. W innych narządach, począwszy od trzeciej godziny dowozu, niema wybitniejszych różnic w stężeniu hemoglobiny między krwią dochodzącą i odchodzącą. Wchłanianie wielkich ilości kwasu mlecznego przez wątrobę (p. część II) i wybitna alkalozą, nie zmieniają w wyraźnym stopniu tworzenia glikozy przez wątrobę, choć w zużyciu glikozy zdają się istnieć zmiany, które jednak wymagają dalszego potwierdzenia. Również powtórzenia wymagają wyniki nasze z mleczanem sodowym, ogłoszone w części II.

A l d e h y d o c t o w y (0.125 g/kg/godz. przez 7 godzin) daje przebieg krzywych glikozy we krwi taki sam, jaki da-

ją rozczyzny inozytu (rys. 2). Bilanse tworzenia i wchłaniania glikozy również są podobne (rys. 3). Wątroba wyrzuca z 1 g tkanki 5.1 mg glikozy na godz., układ motoryczny wchłania 0.16 mg/g/godz., a narządy dorzeczka wrotnego 0.60 mg/g/godz. Ponieważ z 1 grama tkanki układu motorycznego uwalnia się pod wpływem aldehydu 0.20 mg kwasu mlecznego, czyli 126% wchłoniętej równocześnie glikozy, a w doświadczeniu kontrolnym z rozczyznem fizjologicznym stosunek ten wynosi 40%, więc 86% nadmiaru wyrzucania kwasu mlecznego z tego układu należy przypisać glikogenolizie własnego glikogenu, a nie przetwarzaniu wchłoniętej przez niego glikozy. To zjawisko może przyczyniać się do odzyskań cukru z aldehydu octowego w cukrzycy floryzynowej. Ponieważ aldehyd był wprowadzany w rozczyźnie fizjologicznym, więc tylko 8% wody z nim wprowadzonej opuszczało ustrój podczas wlewania. Z tem łączy się zjawisko, że krew, przechodząc przez niektóre narządy, zagęszczała się, oddając im część swej wody, np. w układzie motorycznym stężenie hemoglobiny przyrastało o 6.6%, w układzie wrotnym o 4.5%.

4. Omówienie wyników.

a) Podkreślenie metody badania.

Gdy zmiany we krwi, przepływającej przez narządy, odbywają się z wielką regularnością i jednostajnością, co się dzieje wtedy, gdy dynamika przetwórcza, chłonna i wydalnicza doszła do równowagi w narządach, wtedy szereg kolejnych i zgodnych ze sobą obserwacji oddaje wiernie pracę tkanek. W obecnych doświadczeniach zwierzęta znajdowały się w stanie zbliżonym mniej lub więcej do fizjologicznego. Po okresie śródżylnego wprowadzania żyły i budziły się z narkozy. Typowe przykłady okresów równowagi, na których szczególnie opiera się użyta przez nas metodyka badania życia tkanek podczas stałego śródżylnego dowozu rozmaitych ciał, są zawarte na rys. 1 i 2. Każde ze zjawisk w takim okresie nabiera poważnego znaczenia, ponieważ nie ulega ono procesowi odwracalnemu, lecz jednostajnie i niezmiennie postępuje naprzód. Jakkolwiek więc metoda bilansów naczyniowych nie wchodzi w głąb tkanek, lecz stoi, jak gdyby

przed ich zamkniętymi drzwiami, i tylko podgląda, co do narządów wchodzi a co z nich wychodzi, to jednak w miarę przedłużania się czasu obserwacji i ujednostajnienia się procesów, otwiera przed nami możliwość zdobycia takich wiadomości, jakie się nam inną metodą nie nadarzą. W takim okresie równowagi, podczas dowozu fruktozy, na rys. 1, utrata stężenia fruktozy we krwi, przedostającej się przez narząd, musi być prawie bez poprawki położona na karb asymilacji tego deficytu we krwi przez narząd, gdyż prawie wszystkie błędy przestają odgrywać rolę, gdy poziom fruktozy we krwi i deficyt równoczesny tej ketozy we krwi utrzymuje się na stałej wysokości. Przestaje wtedy grać rolę magazynowanie cukru w tkankach, omówione w części III. Równocześnie wraz ze znikaniem stałym fruktozy w tkankach pojawia się iloraz oddechowy, wynoszący jedność, i podniesienie wchłaniania tlenu, które będą omówione w części V, świadcząc o nasilonej pracy oksydacyjnej tkanek. Jasnym jest, że zachowawcza metodyka, użyta przez nas, oddaje dokładniej to, co się odbywa istotnie w tkankach żywego zwierzęcia, niż badanie narządów wyisobnionych i skrawków, lub miazg narządów. Pozwala również na pobieranie dowolnej ilości próbek krwi w krótkich odstępach czasu, i wobec tego na śledzenie okresów równowagi dynamicznej, na co nie pozwala metoda angiostomij, mająca inne strony dodatnie.

b) Zachowanie się glikozy wewnątrz-pochodnej.

Glikoza, wytwarzana przez wątrobę w sposób stały, jest wchłaniana najsilniej przez narządy głowy, mniej przez układ wrotny, a najmniej przez układ motoryczny (W i e r z u c h o w s k i i F i s z e l, '35b). Taki jest stan rzeczy w okresach bezpokarmowych, w naszych warunkach naczczo przed dowozem. L o n d o n ('35) znajduje, posługując się metodą angiostomij, że u zwierzęcia (psa) prawidłowego największą ilość mg tej glikozy wątrobo-pochodnej ze 100 cm³ krwi przepływającej przez narząd, wchłania mózg. Podana przez nas grupa narządów głowy zawiera tylko część mózgu, tę mianowicie, z której *sinus transversus* i *v. cerebialis superior* zbierają krew do *v. maxillaris interna*, mimo to musimy wygłosić wniosek, że narządy głowy

Rys. 3. Przeciętna utrata (+) lub przyrost (-) odnośnego cukru we krwi, przedostającej się przez wymienione grupy narządów, wyrażona w miligramo-procentach, jest wykreślona jako wysokość prostokąta; odpowiednia wartość jest zaznaczona na jego najwyższej lub najniższej linii. Szerokość prostokąta jest proporcjonalna do przepływu krwi w jednostce czasu przez dany narząd (współczynnik proporcjonalności). Zatem obszar prostokąta przedstawia w przybliżeniu całą ilość cukru wehłoniętą (+) lub wydaloną (-) przez narządy. Wartość dla „reszty narządów“ jest niepewna, gdyż jest obliczona, a nie znaleziona, jak inne; prostokąt ten, zawierający także wartości dla płuc, został graficznie skrócony; zawiera on również wartość dla nerki, wydalającej cukier z moczem. Dla cukrów, z zewnątrz wprowadzonych, suma obszarów wszystkich prostokątów równa się całej ilości danego cukru, z zewnątrz doprowadzonej. Dla cukru wewnątrz-pochodnego prostokąt glikozy, wydzielonej przez wątrobę do krwi, równa się innym wszystkim prostokątom.

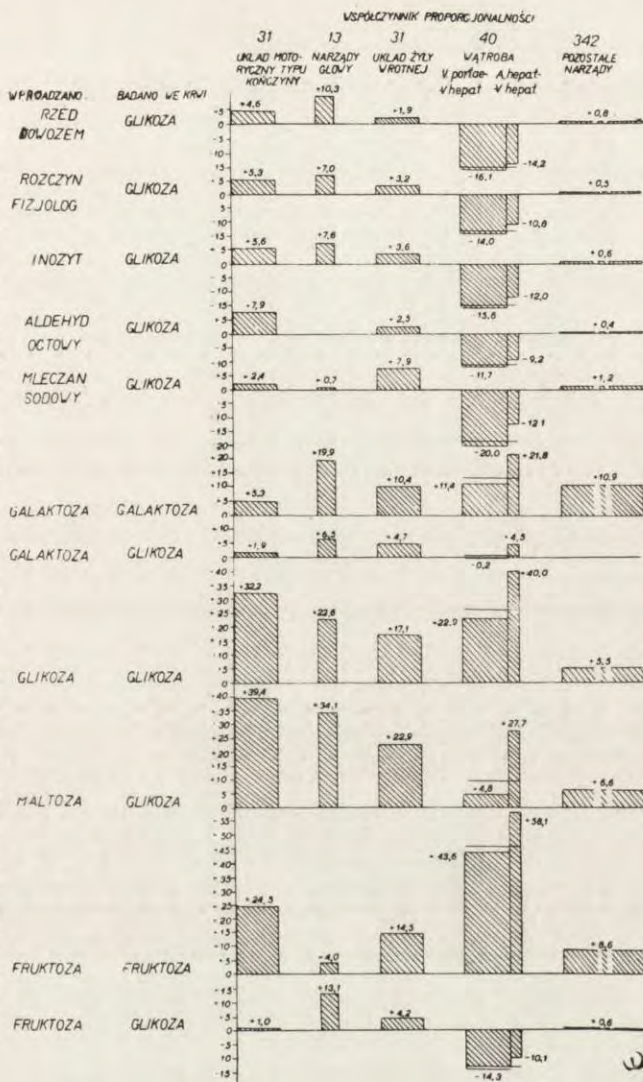


Fig. 3. Diminution (+) ou accroissement (-) moyen de la concentration du sucre donné dans le sang traversant les groupes d'organes énumérés, est exprimé en milligrammes pourcent et tracé comme hauteur du rectangle; la valeur correspondante est indiquée sur la ligne la plus haute ou la plus basse. La largeur du rectangle est proportionnelle au débit du sang traversant l'organe donné en unité de temps (coefficient de proportionalité). La surface du rectangle représente par conséquent de façon approximative tout le sucre absorbé (+) ou rejeté (-) par les organes. La valeur indiquant „les autres organes“ n'est pas certaine, car elle est calculée et non pas trouvée comme les autres; ce rectangle, concernant aussi les poumons, a été abrégé graphiquement; il contient également le rein éliminant le sucre par voie urinaire. Pour les sucres introduits de l'extérieur la somme des surfaces de tous les rectangles correspond à la quantité totale du sucre donné, administré de l'extérieur. Pour le sucre endogène le rectangle du glucose sécrété par le foie, dans le sang est égale aux tous les autres rectangles.

Tabela III.

Wprowadzenie śródrzylnie inozytu ze stałą prędkością 0.4 g/kg/godz. przez 6 godzin. Bilanse glikozy w narządach w porównaniu z bilansami kwasu mlecznego.

Introduction intraveineuse de l'inosite à vitesse constante de 0.4 g par kg par heure pendant 6 heures. Bilans du glucose dans les organes comparés aux bilans d'acide lactique.

Manipulacje bilansowe <i>Manipulations des bilans</i>	Wartości przeciętne <i>Valeurs moyennes</i>	Wątroba <i>Foie</i>	Układ motorycz. <i>Système moteur</i>	Narządy głowy <i>Organes de la tête</i>	Dorzece żyły wrotn. <i>Système d. l. v. porte</i>	Reszta narządów <i>Autres organes</i>
D _i glik.	Krew dopływająca, mg ^o / _o <i>Sang afferent, mg^o/_o</i>	V. a.	73.5	73.0	73.5	
O _i glik.		69.9; 73.5	68.0	65.4	69.9	
B _i glik.	Krew odpływająca, mg ^o / _o <i>Sang efferent, mg^o/_o</i>	— 14.9	+ 5.6	+ 7.6	+ 3.6	
B _i ^g glik.		— 5.90	+ 1.72	+ 1.00	+ 1.12	+ 2.06
B _i ^g glik. W	Bilans, mg ^o / _o <i>Bilan, mg^o/_o</i> g/godz./25 kg. <i>g/h/25 kg</i> mg/g tkanki*/godz. <i>mg/g tissu*/h</i>	— 6.78	+ 0.11	+ 0.74	+ 0.86	+ 0.33
B _i ^g kw. ml. W		+ 1.20	— 0.04	— 0.27	— 0.51	
B _i kw. ml. . 100 B _i glik.	Glikoza <i>Glucose</i> Kwas mleczny <i>Acide lactique</i>	—	34.3	35.9	59.0	
		Jako ^o / _o glikozy <i>Comme ^o/_o du glucose</i>				

*) Na g tkanki świeżej danego narządu. — *Par g du tissu frais de l'organe.*

w tym składzie posiadają najsilniejsze wchłanianie glikozy wewnątrz-pochodnej u zwierzęcia naczczu. Trudno powiedzieć, czy zawdzięczają to części mózgu.

Tymczasem, gdy dowieźć glikozę z zewnątrz, natychmiast wątroba przechodzi do silnego ataku na glikozę zewnątrz-pochodną i staje na czele narządów pod względem prędkości przetwarzania glikozy. Dopiero potem idą narządy układu wrotnego, a po nich narządy głowy i wreszcie układ motoryczny. Zmienia się więc uszeregowanie prędkości. Można to wyrazić w ten sposób, że, jakkolwiek narządy głowy zużywają dla swych potrzeb większą, niż inne dawkę glikozy, to jednak przy wzmożeniu podaży glikozy popyt ich na glikozę mniej się zwiększa, niż innych narządów; nie są więc tkanką najżarłoczniejszą, lecz mającą najwyższe minimum wchłaniania przy małej podaży. Są tkanką kosztowną, lecz nie zbyt kosztowną. Nasuwa się możliwość, iż także naczczu wątroba jest narządem, najsilniej wchłaniającym krążącą glikozę, wytworzoną przez siebie samą, lecz w bilansach zjawisko to nie wychodzi na jaw, gdyż zostaje zamaskowane przez wydawanie glikozy przez wątrobę. Ta możliwość została wzięta pod uwagę w części III. Podczas dowozu roztworu fizjologicznego, mleczanu sodowego i inozytu prymat narządów głowy zdaje się przesunąć na układ wrotny podczas wchłaniania glikozy wewnątrz-pochodnej, którą wątroba z równą siłą nadal wytwarza.

Harmonijny proces karmienia ustroju glikozą, pochodzącą z wątroby, jest tak mocno usadowiony w organizmie, że nawet podczas potężnego przetwarzania fruktozy, najsilniej w tych warunkach przerabianego cukru, nie ulega zmianie. Narządy głowy zachowują pierwszeństwo co do prędkości wchłaniania wewnątrz-pochodnej glikolizy, resorbując równocześnie fruktozę bardzo skąpo, najskąpiej ze wszystkich badanych przez nas narządów.

Natomiast, podczas wprowadzania śródżylnego galaktozy i wchłaniania jej przez wątrobę, zdaje się ustawać tworzenie glikozy przez wątrobę. Dane te wymagają wyjaśnienia i powtórzenia, jako tworzące odstępstwo od ważnej zasady.

c) Prawa wchłaniania heksoz zewnątrz-pochodnych przez narządy.

W tab. IV zestawiono wyniki badań nad wchłanianiem heksoz przez narządy i grupy narządów, przy ich stałym dowozie śródżylnym z prędkością 2 g/kg/godz. zawsze w tych samych warunkach. W śmiałości wniosków jesteśmy ograniczeni przez fakt, że obliczenia te są oparte na danych przepływu krwi, zaczerpniętych z piśmiennictwa (por. część I). Uzyskanie jednak danych przepływu krwi i wagi każdej grupy narządów w stosunku do całkowitej wagi ciała w każdym doświadczeniu z osobna byłoby rzeczą nazbyt trudną, zaś przyjęcie danych, uzyskanych na innych zwierzętach, dla zwierząt, na których oznaczono bilanse cukrowe narządów, byłoby również połączone z wątpliwościami. Ponieważ wyniki asymilacji w poszczególnych narządach zgadzają się z rezultatami, uzyskanymi sumarycznie na całym zwierzęciu (por. część III), wartości w tab. IV mogą zostać uznane, jako przybliżone dane, zwłaszcza cenne porównawczo.

Tabela IV.

Rozmieszczanie wchłaniania heksoz w narządach psa. Śródżylny, jednostajny dowóz heksoz z prędkością 2 kg/godz., w stałych warunkach.

Distribution d'absorption des hexoses par les organes du chien. Introduction intraveineuse uniforme des hexoses à vitesse de 2 g par kg et par heure dans les conditions constantes.

H e k s o z a <i>Hexose</i>	Wchłanianie przez narządy, mg/g/godz. <i>Absorption par les organes, mg/g/h</i>				
	Wątroba <i>Foie</i>	Narządy układu wrotnego <i>Organes du système portal</i>	Narządy głowy <i>Organes de la tête</i>	Układ motoryczny <i>Système moteur</i>	Narządy pozostałe*) <i>Autres organes*)</i>
	mg	mg	mg	mg	mg
Fruktoza — <i>Fructose</i>	+ 20.9	+ 3.47	+ 0.39	+ 0.40	+ 1.99
Glikoza — <i>Glucose</i>	+ 12.0	+ 4.09	+ 2.21	+ 0.83	+ 1.26
Galaktoza — <i>Galactose</i>	+ 5.21	+ 2.48	+ 1.95	+ 0.11	+ 0.68

*) Nie wzięto pod uwagę wchłaniania przez nerki tej części heksoz, która zostaje wydalona z moczem.

*) *On n'a pas considéré l'absorption par les reins de cette partie des hexoses, qui est éliminée avec l'urine.*

O ile pod względem natężenia ryczałtowej asymilacji całego ustroju trzy heksozy, wymienione w tab. IV, stoją na trzech

różnych stopniach, gdyż fruktoza z pośród nich jest przyswajana w tych warunkach najsilniej (88% dowozu), glikoza w mniejszym stopniu (75% dowozu), a galaktoza skąpo (25% ilości dostarczonej), to jednak pod względem hierarchji przyswajalności w narządach, na 1 gram tkanki, są najzupełniej podobne: na czele stoi wątroba, mniej chłoną narządy żyły wrotnej, jeszcze mniej narządy głowy, na końcu stoi układ motoryczny. „Reszta narządów” zajmuje różne miejsca w tym układzie, np. podczas dowozu fruktozy stoją one przed układem motorycznym i przed narządami głowy. Już w rozdziale 3 A. zwróciliśmy uwagę na to, że w hierarchji narządów dla fruktozy istnieje wyjątek od reguły i układ motoryczny, we wchłanianiu fruktozy, stoi na równi z narządami głowy.

Natomiast wśród poszczególnych heksoz istnieją silne różnice w ustosunkowaniu wzajemnem ilości wchłoniętych przez narządy. Np. ilość wessana przez 1 gram narządów układu wrotnego do ilości przejętej przez 1 gram wątroby ma się przy dowozie fruktozy, jak 1:6, przy dowozie glikozy, jak 1:3, przy dowozie galaktozy, jak 1:2. Stoi to w związku ze swoistą wybiórczością tkanek. Z tab. IV wynika, że największą żarłoczność wykazuje tkanka wątrobowa dla fruktozy, gdyż wchłania na godzinę około 2% swej wagi wilgotnej, a więc około 10% swej wagi suchej; wynosi to na dobę połowę wagi wilgotnej narządu, a 250% wagi jego suchej. Na drugim końcu stoją tkanki układu motorycznego podczas pobierania galaktozy, gdyż wciągają 200 razy mniej, niż wątroba zabiera fruktozy.

d) Porównanie z narządami wyosobnionemi.

Podobnie, jak w naszych badaniach *in vivo* (tab. IV), wyosobniona wątroba wchłania silniej fruktozę, niż glikozę (S t e i n b e r g, '27). W naszych warunkach czerpie 21 mg fruktozy, a 12 mg glikozy/g/godz. Kończyny tylne psa wyosobnione wchłaniały prawie jednakowo fruktozę i glikozę, gdy w obecnych doświadczeniach zatrzymują dwa razy mniej fruktozy (0.40 mg), niż glikozy (0.83 mg/g/godz.) (tab. IV). Wyosobniona trzustka i jelito zatrzymują tylko bardzo nieznacznie fruktozę w stosunku do silniej zatrzymywanej glikozy, gdy w obecnych warunkach

przyswajanie fruktozy w układzie żyły wrotnej jest niemal takie samo, jak glikozy (tab. IV). Miazga zmielonych ślinianek (Steinberg) zużywa fruktozę tylko w małym stopniu, gdy glikozę w silnym. To nie sprzeciwia się wynikom grupy narządów głowy w naszych doświadczeniach (w których ślinianki stanowią tylko część narządów), przyswajających fruktozę z prędkością 5.5 razy mniejszą, niż glikozę (tab. IV).

e) Fruktoliza *in vivo* a przekształcanie fruktozy przez narządy.

Swoista, intensywne fruktoliza w wątrobie wysuwa się w przemianie materii węglowodanów, jako jedno z najdrastyczniejszych zjawisk na plan pierwszy (por. Dickens i Greville, '32; Wierzuchowski i Sekuracki, 34b, '35b). W obecnych badaniach *in vivo*, według metody bilansów naczyniowych, znajdujemy, że średnio 19% zabranej przez wątrobę fruktozy, odchodzi z niej w postaci kwasu mlecznego. Jest rzeczą możliwą, że jest to wartość za niska. O ile przyjmujemy, że wątroba nadal pobiera kwas mleczny, jak przed dowozem fruktozy, także i podczas jej dowozu, wtedy ilość kwasu mlecznego wyrzucana przez wątrobę wzmoże się nieco o tę wartość, którą traci krew psa naczecz, przeciskając się przez jego wątrobę, i będzie wtedy wynosić 22% fruktozy, równocześnie zagarniętej przez wątrobę. Natomiast skrawki wątroby odżywionego szczura przekształcają mniej więcej całą fruktozę, która znika z roztworu, na kwas mleczny (Rosenthal, '30).

5. Wnioski.

Podczas stałego śródżylnego dowozu fruktoza, w przeciwieństwie do glikozy, jest cukrem wchłanianym przez narządy w sposób jednostajny. Prędkość wchłaniania fruktozy jest następująco rozmieszczona w narządach: 1) wątroba (21 mg/g/godz.), 2) narządy układu wrotnego (3.5 mg/g/godz.), 3) układ motoryczny (0.40 mg/g/godz.), jeżeli tę wartość odnieść tylko do mię-

śni, wchłaniają one na gram tkanki najwyżej 0.80 mg/g/godz., 4) narządy głowy (0.39 mg/g/godz.), i 5) inne narządy — 2.0 mg/g/godz., tu wchodzi w grę przede wszystkim płuć.

Równocześnie wraz z przetwarzaniem fruktozy odbywa glikoza swój zwyczajny krąg przemian twórczo-chłonnych, jak naczecz, t. zn. wątroba wytwarza glikozę z prędkością 6.1 mg/g/godz., a chłoną ją 1) narządy głowy (1.3 mg/g/godz.), 2) narządy układu wrotnego (1.0 mg/g/godz.), 3) układ motoryczny (0.02 mg/g/godz.) i 4) pozostałe narządy (0.32 mg/g/godz.).

Jedną piątą wchłoniętej fruktozy wyrzuca wątroba do krwi wraz z glikozą w postaci kwasu mlecznego. W narządach głowy i układu wrotnego oddawanie kwasu mlecznego do krwi zdaje się nie stać w związku z wchłanianiem fruktozy, lecz podobnie, jak w oznaczeniach bez dowozu jakiegokolwiek ciała, z wchłanianiem glikozy. Natomiast w układzie motorycznym część wyrzucanego kwasu mlecznego może pochodzić z fruktozy.

Glikozotwórcza działalność wątroby utrzymuje się bez zmian przy dowozie śródżylnym inozytu, mleczanu sodowego i aldehydu octowego, natomiast prędkość wchłaniania glikozy w poszczególnych narządach ulega modyfikacjom. Silne wyrzucanie kwasu mlecznego z układu motorycznego podczas dowozu aldehydu octowego należy przypisać uruchomieniu glikogenu, gdyż przewyższa ono znacznie stosunek, jaki tworzy zwyczajnie kwas mleczny, wypuszczany z tego układu do zużywanej przezeń glikozy.

6. Piśmiennictwo.

Bollman J. L. i F. C. Mann. 1931. The utilization of fructose following complete removal of the liver. *Amer. Journ. Physiol.* 96 (683). — Campbell W. R. i M. I. Hanna. 1926. The estimation of fructose, sucrose and inulin. *Journ. biol. Chem.* 69 (703). — Cori C. F. i G. T. Cori. 1927. The tolerance of normal and insulinized rats for intravenously injected glucose and fructose. *Journ. biol. Chem.* 72 (597). — Corley R. C. 1929. Studies on the metabolism of levulose. *Journ. biol. Chem.* 81 (81). — Dickens F. and G. D. Greville. 1932. The anaerobic conversion of fructose into lactic acid by tumour and adult normal tissues. *Biochem. Journ.* 26 (1546). — London E. S. 1935. Angiostomie und Organestoffwechsel. Moskau. — Moraczewski W. i E. Lindner. 1921. Über den Einfluss von intravenösen Zuckerinjektionen auf die Milchsäureausscheidung, den Blutzucker und die weissen Blutzellen. *Biochem. Zeitschr.* 125 (49). — Rosenthal O. 1930. Vergärbarkeit verschiedener Zuckerarten durch die Rattenleber. *Biochem. Zeitschr.* 227 (354). — Steinberg S. J. 1927. Zur Frage der Assimilation der Lävulose. *Pflügers Arch.* 217 (686). — Wierzuchowski M. 1926. Influence of insulin on levulose and glucose intravenously administered. *Journ. biol. Chem.* 68 (631). — Wierzuchowski M., T. T. Chmielewski, A. Gostyńska i H. Fiszel. 1935. Influence du travail musculaire prolongé sur le métabolisme des glucides introduits à vitesse constante dans le torrent circulatoire. *C. R. Soc. Biol.* 119 (433). — Wierzuchowski M. i Fiszel. 1935. a) Influence d'adrénaline sur l'utilisation du fructose introduit à vitesse constante dans la circulation aux trois niveaux d'assimilation. *C. R. Soc. Biol.* w druku. — Cisiński. 1935. b. Badania nad ist. swoisto-dyn. dział. Część III. Prędkość wchłaniania heksoz w narządach psa podczas stałego dowozu galaktozy, maltozy i glikozy. *Acta biologiae exper.* 9 (292). — Cisiński. 1935. c. Le bilan d'eau des organes, pendant l'injection continue de sucres et de corps voisins, au cours de la narcose à l'amytal. *C. R. Soc. Biol.* 117 (1025). — Wierzuchowski M. i M. Łaniewski. 1930. Przetw. cukr., wpraw. doż. ze stałą prędk. IV. Tworzenie kwasu mlecznego. *Acta biologiae exper.* 5 (147); 1931. *Biochem. Zeitschr.* 230 (173). — Wierzuchowski M. i współprac. 1930. Przetw. cukr. wpraw. doż. ze stałą prędk. II i III. *Acta biologiae exper.* 5 (95, 117); *Biochem. Zeitschr.* 230 (146). — Wierzuchowski M. i F. Sekuracki. 1934a. *C. R. Soc. Biol.* 117 (915); 1935a. Badania nad ist. swoisto-dyn. dział. Część I. Źródła i ujścia kwasu mlecznego w organizmie ssaka naczezo i, gdy się utlenia galaktoza, glikoza i maltoza. *Acta biologiae exper.* 9 (1); 1935b. *Biochem. Zeitschr.* 276 (91). — Cisiński. 1934b. *C. R. Soc. Biol.* 117 (919); 1935b. Część II. Źródła i ujścia kwasu mlecznego w ustroju podczas oksydynamicznego przetwarzania fruktozy, na tle badań kontrolnych z inozytem, aldehydem octowym i mleczanem sodowym. *Acta biologiae exper.* 9 (236); 1935b. *Biochem. Zeitschr.* 276 (112). — Cisiński. 1935c. Sur l'interférence de la fructolyse hépatique et de la glycogénolyse adrénalinique chez un chien normal, aux trois niveaux d'assimilatoïn. *C. R. Soc. Biol.* 119 (661).

[Pracownia Fizjologii Ogólnej Wolnej Wszechnicy Polskiej].
Praca Nr. 10.

T. Vieweger i M. Szulzingerówna.

O rytmie dobowym w mnożeniu się wymoczków.

Sur le rythme journalier dans la multiplication des infusoires.

Rękopis nadesłany w dniu 27.XI.1935.

Dans ces derniers temps il a paru une série de travaux d'Adolph ('32, '33) dans lesquels cet auteur soutient la thèse, que la vitesse de multiplication des infusoires (*Paramecium caudatum*) présente des oscillations qui restent en rapport avec la période de la journée: le maximum de divisions s'accomplit pendant les heures de la nuit (21—22), le minimum dans les heures de l'après midi (12—15). L'inverse s'observe dans le cas de la formation des vésicules nutritives: le minimum de vésicules nouvelles apparaît pendant les heures de la nuit. Il ressort de recherches du même auteur, que le prétendu rythme est indépendant des changements de température et d'éclairage. La cause du phénomène reste totalement inconnue. Les faits signalés par Adolph sont très intéressants, surtout si on tient compte, que dans le cas considéré nous avons à faire avec les organismes qui n'ont pas de plastides colorés et qui sont peu sensibles à l'action de la lumière (Dembowska '22). On peut remarquer enfin que les recherches de Wilczyński ('33) n'ont pas confirmé les résultats de travaux d'Adolph. Le but de notre travail a été de vérifier si les faits décrits par Adolph s'observent chez d'autres infusoires. Nous avons exécuté nos expériences sur *Colpidium colpoda* Ehrbg., l'infusoire qui a été l'objet de nos recherches précédentes ('18, '30) et qui se multiplie beaucoup plus vite, que *Paramecium*. Les *Colpidium* qui

ont servi aux expériences provenaient d'une „culture — mère” installée dans le laboratoire depuis un certain temps. De temps à autre on isolait de la „culture—mère” un individu et on le mettait dans 1 cm³ de l'infusion de foin. Après 24—48 h. on transportait les infusoires provenant de la division de cet individu dans de récipients (de 5 cm³ de volume) avec 0.5 cm³ de la même infusion de foin. Dans chaque récipient on a introduit un seul *Colpidium* et on a contrôlé le nombre d'infusoires dans les délais de temps de quatre heures (4—8—12—16—20—24). Après 24 heures on remettait un infusoire de chaque lignée dans 0.5 cm³ d'infusion nouvelle. Nous avons exécuté 5 séries d'expériences; la I-IV-ème a duré 3 jours chacune, la V-me 2 jours. Dans chaque série nous avons 50 lignées de *Colpidium*. La série I-re a été commencée à 16 heures; les autres séries (II—V) ont été commencées dans deux périodes de la journée: 25 lignées à 4 heures du matin et les autres 25 lignées à 16 heures du soir. Toutes les expériences ont été exécuté à la température constante de 22°. Dans les séries I—IV-me les infusoires séjournaient dans un thermostat à l'obscurité; dans la série V-me ils ont resté dans un thermostat en verre, de façon qu'ils ont été soumis à de variations d'éclairage pendant la journée. Il ressort de nos expériences (tab. I—III) que le rythme décrit par A d o l p h n'apparaît pas dans la multiplication de *Colpidium*. Les nombres moyens de divisions pour la période de la journée (4—16 heures) et de la nuit (16—4 h.) ne diffèrent presque pas (1.86—1.73). Les pourcents de divisions, qui s'accomplissent pendant les périodes consécutives de la journée et de la nuit présentent des oscillations qui ne restent pas en rapport immédiat avec l'heure. Ceci paraît confirmé par le fait, que d'après les données du II-me tableau on constate l'existence de deux maxima: celui de la journée et celui de la nuit. Les oscillations considérées semblent rester en rapport direct avec la période de l'encementement de la culture. Pour les lignées qui ont été transporté au matin le maximum de divisions apparaît pendant les heures de la nuit et pour les lignées, transportées à 16 heures dans les heures de l'après-midi. La conclusion qui se dégage de faits relatés est la suivante: la vitesse de multiplication des infusoires n'est pas en relation immédiate avec la période de la journée. Elle reste au contraire sous l'in-

fluence du changement du milieu de la culture. Après le transport dans un milieu nouveau la multiplication des infusoires d'abord ralentie, s'accélère au fur et à mesure.

W dziedzinie badań nad mnożeniem się pierwotniaków w ostatnich latach pojawiły się prace, które zmierzają do wyjaśnienia roli pewnych czynników, których działanie nie było uwzględniane przez poprzednich autorów.

Po pracach P e t e r s'a, W o o d r u f f'a, J. i T. V i e w e g e r ó w, które dotyczyły głównie znaczenia pokarmu i produktów przemiany materji, R o b e r t s o n podniósł kwestję znacznie trudniejszą do ujęcia eksperymentalnego, a mianowicie istnienia t. zw. substancji allelokatalitycznej. Ostatnio pojawiły się prace A d o l p h a, w których autor porusza sprawę rytmów sezonowych i dobowych w mnożeniu się wymoczków. Z niezmiernie ciekawych poszukiwań A d o l p h a ('32, '33) wynikałoby, że tempo mnożenia się *Paramecium caudatum* wykazuje w ciągu doby wahania, osiągając największe nasilenie w godzinach nocnych (21 — 22). Różnice dobowe w nasileniu mnożenia nie są przytem jednakowe w poszczególnych porach roku. Występowanie rytmu dziennie-nocnego daje się stwierdzić również w przebiegu ilościowym powstawania wodniczków pokarmowych, aczkolwiek w tym przypadku na okres nocny przypada minimum tworzących się wońniczków. Wyniki, otrzymane przez A d o l p h a, tembardziej zasługują na uwagę, że rytm dobowy nie pozostaje w żadnym związku ani ze zmianami w ilości rozporządzalnego pokarmu, ani ze zmianami temperatury i naświetlenia. Z pracy D e m b o w s k i e j ('22) wynika zresztą, że brak światła nie sprzyja mnożeniu się *Paramecium*. Nasuwa się wobec tego przypuszczenie, że w przypadku, rozpatrywanym przez A d o l p h a, mamy do czynienia z działaniem pewnych, bliżej nieokreślonych czynników natury kosmicznej, — o ile wyłączymy możliwość nawyku protoplazmy w następstwie poprzedniego działania zmian dobowych naświetlenia i temperatury. Samo zagadnienie posiada pierwszorzędne znaczenie z punktu wi-

dzenia występowania rytmu dziennie-nocnego u organizmów pozornie niewrażliwych na zmiany naświetlenia. Zjawia się pytanie, czy powyższe zjawisko rytmów dobowych występuje i w jakim stopniu u innych gatunków pierwotniaków. Wyświetlenie tej kwestji było zadaniem niniejszej pracy. Uwaga nasza zatrzymała się przytem na wymoczku *Colpidium colpoda* Ehrbg. Po wody, które nas skłoniły do zajęcia się tym wymoczkiem, były następujące. Po-pierwsze, warunki, w jakich zachodzi mnożenie się *Colpidium*, były przez nas zbadane poprzednio (T. Vieweger '18, J. Viewegerowa '30, E. Grinwald '28), po-drugie *Colpidium* mnoży się znacznie szybciej (3 — 7 podziałów na dobę w temp. 20°), aniżeli *Paramecium* (1 — 2 podziały). Sądziłyśmy, że dzięki temu różnice w mnożeniu między okresem dziennym i nocnym mogą wystąpić wyraźniej.

Nawiasem zaznaczamy, że już w toku naszych poszukiwań ukazała się praca Wilczyńskiego ('33), dotycząca tej samej kwestji. Autor powyższy w wyniku swoich doświadczeń, dokonanych na *Paramecium*, dochodzi do wniosków całkowicie sprzecznych z wnioskami Adolpha. W pierwotnych naszych zamierzeniach leżało sprawdzenie wyników również na *Paramecium*, jednak wobec dyskusji, jaka już się wywiązała na powyższy temat, zamiaru tego poniechaliśmy.

W doświadczeniach naszych zwróciliśmy uwagę na to, ażeby wymoczki pozostawały w warunkach możliwie mało zmieniających się, dla uniknięcia interferencji szeregu różnorodnych czynników. We wszystkich serjach wymoczki przebywały w termostacie; w serji I—IV — w termostacie zwykłym w ciemności, w serji V — w termostacie oszklonym, tak że podlegały zmianom dziennie-nocnym naświetlania. Temperatura doświadczeń wynosiła: w serji I — 22° (wahania 21.6—22.8°), II — 21.8°, III — 21.5° (21.2—21.8°), IV — 22.4° (22.2—22.6°), V — 22.4° (22.2—22.6). Wahania temperatury nie przekraczały zatem 1.2° (w doświadczeniach Adolpha wahania t° dochodziły do 3°). W serji II, gdzie miał miejsce krótkotrwały (2—3 godzinny) wzrost temperatury o 2°, odnośny okres 24-godzinny wyłączyliśmy z protokołu doświadczeń.

Wymoczki użyte do doświadczeń pochodziły z linii ciągłej, którą hodowaliśmy w pracowni od dłuższego czasu. Przed rozpoczęciem serji doświadczeń oddzielaliśmy z hodowli jednego osobnika i pozostawialiśmy w 1 cm³ pożywki sianowej na okres 24-godzinny w termostacie. Osobniki, pochodzące z podziału, przenosiśmy do kloeków, zawierających 0.5 cm³ pożywki sianowej. Do sporządzenia pożywki służył nam wywar sianowy,

otrzymany przez gotowanie 50 g siana w litrze wody w przeciągu godziny. Wywar powyższy był rozcieńczany w miarę potrzeby wodą wodociągową w stosunku 1 : 10. Zazwyczaj była używana pożywka przygotowana poprzedniego dnia (jednodniowa). Powyższa metoda hodowli zapewniała optymalne warunki mnożenia się *Colpidium*. Klocki z wymoczkami pozostawały stale w termostacie i były wyjmowane jedynie na krótki okres czasu dla obliczenia ilości wymoczków. Liczenie odbywało się w odstępach 4-godzinnych (godz. 4—8—12—16—20—24—4). Po 24 godzinach pobytu w pożywce i obliczeniu ilości wymoczków w klocku, jeden z nich był przenoszony do świeżej pożywki. Ogółem wykonaliśmy 5 seryj doświadczeń. Czas trwania serji I—IV wynosił 3 doby, serji V — 2 doby. W każdej serji stosowaliśmy jednocześnie 50 klocków. Ogółem obserwowaliśmy zatem mnożenie 250 linii wymoczków. Wobec tego, że serja trwała 3 dni (V — 2), każdy zaś dzień stanowił niejako odrębny okres doświadczalny, ogólna ilość doświadczeń równała się zatem 700.

Z prac Adolpha wynika, że minimum podzielności wymoczków przypada w godzinach 12—15, maksimum — 21—22, dlatego też obraliśmy, jako punkty graniczne okresu dziennego i nocnego oraz porę przenoszenia wymoczków, godz. 16-tą, dla seryj, rozpoczynanych na wieczór, i godz. 4-tą dla seryj dziennych (p. niżej). Poszczególne serje niewiele się różniły w szczegółach wykonania z wyjątkiem serji I i V. W serji I uruchomiliśmy jednocześnie 50 klocków i rozpoczęliśmy serję o godz. 1-ej. Ogólna przeciętna mnożenia wyniosła dla okresu nocnego (16—4) — 1.89 podziałów, dla okresu dziennego — 2.47 podziałów. Wobec tego, że wprowadzenie wymoczków do pożywki miało miejsce o godz. 16-ej, nasuwało się przypuszczenie, że samo przenoszenie wymoczków z dawnej pożywki do świeżej może powodować wstrząs traumatyczny, zahamowanie podzielności w najbliższym okresie czasu i, co za tem idzie, obniżenie wartości przeciętnej za okres nocny. Dlatego też w następnych doświadczeniach prowadziliśmy równoległe 2 serje klocków, „ranną” i „wieczorową”, z których każda zawierała 25 linii wymoczków. W serji rannej wymoczkki były przenoszone o godz. 4-ej rano, w serji wieczorowej o godz. 16-ej.

Przechodzimy do rozpatrzenia wyników doświadczeń. Wobec niemożności podawania całkowitego materiału liczbowego (700 dni-linij przy 6 obserwacjach dziennie stanowi 4200 obserwacyj), w tabeli I zestawiliśmy dla każdego dnia ilości podziałów przeciętne dla 25 (wzgl. 50) linii każdej serji w kolejnych czterogodzinnych okresach. Oddzielnie podaliśmy przytem wyniki dla seryj „rannych” i „wieczorowych”. W tejże tabeli umieściliśmy przeciętne dla poszczególnych okresów 4-godzinnych z całego czasu trwania serji (2 lub 3 dni) oraz ilość podziałów [przeciętna dla 25, w serji I — 50 linii] w ciągu doby.

Tabela I.

Zestawienie liczby podziałów w kolejnych okresach czterogodzinnych. Poszczególne dane odpowiadają przeciętnej dla 50 linii w serji I, 25 linii w pozostałych serjach.

Tableau comparatif de la multiplication des Infusoires pendant les différentes périodes de la Journée. Chaque nombre correspond à la moyenne de 50 observations pour la série I, 25 observations pour la série II — V.

Serje wieczorowe — Les séries commencées à 16 heures

Godziny Heures	Serja I Série			Serja II Série			Serja III Série			Serja IV Série			Serja V Série		
	dzień jour			dzień jour			dzień jour			dzień jour			dzień jour		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III
16 — 20	0.16	0.26	0.36	0.24	0.12	0.84	0.40	0.12	0.24	0.12	0.16	0.28	0.16	0.20	0.18
20 — 24	0.20	0.85	1.04	0.36	0.56	0.26	0.39	0.36	0.36	1.15	0.62	0.40	0.40	0.32	0.38
24 — 4	0.82	1.14	0.85	0.60	0.70	0.96	0.75	0.66	0.62	0.01	0.43	0.62	0.48	0.70	0.60
4 — 8	0.71	0.93	1.01	0.88	0.36	0.91	0.59	0.62	0.68	0.66	0.63	0.58	0.77	0.82	0.72
8 — 12	0.82	0.64	0.63	0.70	0.56	0.96	1.19	0.90	0.49	0.70	0.63	0.62	0.58	0.62	0.78
12 — 16	0.52	0.69	1.47	0.89	0.48	0.91	0.50	0.78	0.77	0.61	0.72	0.92	0.64	1.04	0.98
Suma Somme	3.23	4.51	5.36	4.36	2.60	4.16	3.56	3.16	3.16	3.25	3.19	3.14	3.25	3.64	3.52

Serje ranne — Les séries commencées à 4 heures

4 — 8	—	—	—	0.12	0.04	0.04	0.07	0.20	0.24	0.12	0.19	0.26	0.15	0.24	0.22	0.16	0.20	0.18
8 — 12	—	—	—	0.52	0.56	0.32	0.47	0.52	0.36	0.44	0.44	0.24	0.36	0.43	0.34	0.64	0.40	0.52
12 — 16	—	—	—	0.46	0.62	0.70	0.59	0.78	0.60	0.54	0.64	0.70	0.73	0.74	0.72	0.62	0.74	0.68
16 — 20	—	—	—	0.60	1.12	0.88	0.87	0.66	0.66	0.46	0.59	0.53	0.85	0.70	0.69	0.59	0.43	0.51
20 — 24	—	—	—	0.60	0.70	0.46	0.59	0.65	0.46	0.92	0.68	0.66	0.57	0.76	0.66	0.64	0.78	0.71
24 — 4	—	—	—	0.57	0.53	0.88	0.66	0.54	0.84	0.72	0.70	1.11	0.93	0.82	0.95	0.82	0.90	0.86
Suma Somme	—	—	—	2.87	3.57	3.28	3.25	3.35	3.16	3.20	3.24	3.50	3.59	3.69	3.58	3.47	3.45	3.46

Tabela II.

Zestawienie procentowe liczby podziałów w okresach czterogodzinnych za cały czas trwania serji. Poszczególne liczby odpowiadają przeciętnej dla 50 linii w serji I-ej, 25 w pozostałych serjach.

La multiplication des Infusoires pendant les différentes périodes de la journée. Le nombre de divisions est exprimé en % du nombre total pendant toute la journée. Chaque nombre correspond à la moyenne de 50 observations pour la série I, 25 observations pour la série II—V.

Godziny Heures	Liczba podziałów w % ogólnej liczby podziałów <i>Le nombre de divisions en % du nombre total</i>					
	Serje wieczorowe <i>Les séries commencées à 16 heures</i>					
	Serja I Série	Serja II Série	Serja III Série	Serja IV Série	Serja V Série	Suma Somme II—V
16—20	6	11	5	6	5	27
20—24	16	11	19	11	11	52
24— 4	22	21	13	17	18	69
4— 8	20	17	20	21	14	72
8—12	16	25	20	18	22	85
12—16	21	14	23	27	29	93
Serje ranne <i>Les séries commencées à 4 heures</i>						
4— 8	—	2	6	6	5	19
8—12	—	14	14	9	15	52
12—16	—	18	20	20	20	78
16—20	—	27	18	19	15	79
20—24	—	18	21	18	20	77
24— 4	—	20	22	26	25	93

Tabela III.

Przeciętna liczba podziałów w okresach „dziennym” i „nocnym”.

Le nombre moyen de divisions pendant la période de la „journée” et de la „nuit”.

Godziny Heures	Serja I Série I	Serja II Série II	Serja III Série III	Serja IV Série IV	Serja V Série V	Przeciętna Moyenne
4—16	2.47	1.58	1.62	1.76	1.85	1.86
16— 4	1.89	1.83	1.59	1.72	1.65	1.73

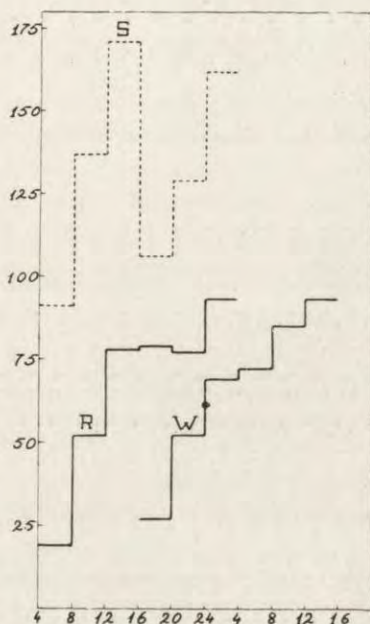
W pracach swoich A d o l p h nie podaje ilości podziałów, a procent podziałów, przypadających na poszczególne okresy; dla ułatwienia porównania naszych wyników z danymi A d o l p h a podajemy w tab. II zestawienie sumaryczne procentowe podzielności wymoczków w poszczególnych okresach. Odnośne liczby zostały otrzymane przez zsumowanie odpowiednich wyliczeń procentowych dla poszczególnych dni-linij wszystkich serji „ranych” i „wieczorowych” [z wyłączeniem serji I, która zawierała tylko linje „wieczorowe”].

Wreszcie w tabeli III zestawiliśmy przeciętne liczby podziałów z okresów „dziennych” i „nocnych”, przyczem liczyliśmy okres nocny od godz. 16 — 4, dzienny od 4 — 16. Zdajemy sobie sprawę z dowolności takiego podziału, usprawiedliwionego jedynie względami doświadczałnymi, a nie astronomicznymi. Czas wykonania doświadczeń przypadał w serji I na okres 12 — 14, II — 19 - 23 maja, III — 2 - 5 czerwca, IV — 23 - 28 września i V — 17 - 20 października. Przy sposobności zaznaczamy, że doświadczenia majowe i czerwcowe przypadają na okres „letni”, w którym występują największe różnice w nasileniu mnożenia pomiędzy dniem i nocą (A d o l p h ('33).

Z danych tabeli III wynika, że ilość podziałów w okresach „dziennym” i „nocnym” jest niemal identyczna. Nasuwa się wobec tego wniosek, że pora doby nie wpływa na przebieg mnożenia się *Colpidium*. Wnioskowi powyższemu możnaby postawić zarzut, że porównywane okresy (4 — 16 godz. i 16 — 4) nie zgadniają się z dniem i nocą kalendarzową, że rzeczywista „noc”, związana z „ciemnością”, trwa znacznie krócej. Przejrzenie danych tab. II wskazuje jednak, że i w procentowym ujęciu maksimum ilości podziałów nie przypada bynajmniej wyłącznie na godziny nocne. Występują raczej dwa „maksyma” w godzinach 12 - 16 — 171% i 24 - 4 — 162%. Doświadczenia serji V potwierdziły przytem wyniki A d o l p h a, że światło dzienne nie wpływa na przebieg mnożenia się wymoczków; serja powyższa nie wykazała różnicy w mnożeniu się *Colpidium* w porównaniu z serjami I — IV.

Nie stwierdzamy zatem istnienia rytmu dziennie-nocnego w tem ujęciu, jakie mu nadał A d o l p h. Bliższe jednak rozejrzenie się w danych tab. I i II ujawnia dla poszczególnych okresów czasu wahania w ilości podziałów, trudne pozornie do wytłumaczenia. Nasuwa się możliwość ujęcia jednego czynnika, o działaniu dość wyraźnem, a mianowicie pory przenoszenia wymoczków do świeżej pożywki. Już przy rozpatrywaniu wyników pierwszej serji wypłynęła możliwość podobnej interpretacji. Z tego właśnie względu uruchomiliśmy dwa rodzaje podseryj (przenoszenie o 4-ej i 16-ej). Zestawienie odpowiednich danych wykazuje większą ilość podziałów dla linii „rannych” w okresie nocnym, dla linii „wieczorowych” w okresie dziennym. W nie-

których serjach występuje zupełnie wyraźnie stopniowy wzrost ilości podziałów w poszczególnych okresach czasu w miarę oddalania się od pory przenoszenia wymoczków. Zjawisko powyższe występuje wyraźnie przy porównaniu danych procentowych, zestawionych w tabeli II, jak i na załączonym wykresie. Pod tym względem wyniki naszych doświadczeń nie zgadzają się z obserwacjami A d o l p h a, że pora przenoszenia nie wpływa na podzielność (porów. G r i n w a l d, '28, tab. IV).



Rys. 1. Zestawienie przeciętnych ilości podziałów dla poszczególnych czasokresów linii rannych (R) i wieczorowych (W), oddzielnie i sumarycznie (S). Na osi rzędnych zaznaczono — ilość podziałów w %-ach ogólnej liczby dziennej. Na osi odciętych — godziny.

Fig. 1. Quantité de divisions pendant les périodes consécutives de la journée, exprimée en % du nombre total de divisions. La courbe R se rapporte aux lignées commencées à 4 heures, la courbe W — à 16 h; la courbe S — correspond à la somme de W et R. Les pourcents de divisions ont été portés sur l'axe des ordonnées; sur l'axe des abscisses on a marqué les heures de la journée.

Wy tłumaczenie samego zjawiska „narastania” podzielności nie wydaje nam się proste. Nasuwa się najprawdopodobniej przypuszczenie działania „wstrząsu traumatycznego”. Można by przez stosowanie dłuższych, aniżeli 24-godzinne, okresów przebywania wymoczków w tej samej pożywce, być może, zapo-

biec powyższym wahaniom w szybkości mnożenia, jednakże takie dłuższe doświadczenia nasuwałyby inne trudności do pokonania, a mianowicie: niemożność dokładnego obliczania wymoczków wskutek skupiania się ich w zbyt dużych ilościach, wyczerpywanie się podłoża pokarmowego. Samo zjawisko „narażania” podziałów i w związku z tem znaczenie wstrząsu traumatycznego wymaga oddzielnych badań.

Sądzymy, że z naszej pracy daje się wyprowadzić całkowicie uzasadniony wniosek, że w mnożeniu się *Colpidium colpoda* rytm dzienno-nocny nie występuje. Upraszcza to oczywiście kwestję i czyni zbędne przypuszczenie oddziaływania na podzielność pewnych bliżej nam nieznanach czynników natury kosmicznej, niezależnych od zmian naświetlenia i temperatury środowiska.

Wnioski.

1°. Występowanie rytmu dzienno-nocnego nie daje się stwierdzić w mnożeniu się *Colpidium colpoda* Ehrbg.

2°. Przenoszenie wymoczków do świeżej pożywki wpływa na szybkość ich mnożenia; szybkość powyższa wzrasta w pierwszych okresach po przeniesieniu.

Piśmiennictwo.

- Adolph W. 1932. Studja nad rytmem podziału pierwotniaków. I. Rytm dobowy w rozrodzie *Paramecium caudatum*. Acta biol. exper. 7. — Adolph W. 1933. Studja nad rytmiką podziałów pierwotniaków. II. Pory roku i rytm dobowy w rozrodzie *Paramecium caudatum*. Ibidem. 8. — Adolph W. 1933. Nocna trofo-depresja w kulturach masowych *Paramecium caudatum*. Ibidem. — Dembowska W. 1922. Wpływ światła barwnego na tempo mnożenia się *Paramecium caudatum*. Prace Inst. im. Nenckiego, 6. — Grinwald E. 1928. Recherches sur les facteurs du développement des cultures de microorganismes. L'action de la substance allelocatalytique apparaît-elle dans les cultures du *Colpidium colpoda* Ehrbg. Acta biol. exper. 3. — Viewegerowa J. 1930. Badania nad mnożeniem się *Colpidium colpoda* w rozmaitych środowiskach. Arch. Hydrobiol. i Rybac. 5. Vieweger T. 1918. Linje ciągłe *Colpidium colpoda* Ehrbg. Sprawozd. Tow. Nauk. Warsz. 11. — Wilczyński J. i Lebień B. 1933. Z badań nad krzywą podziału *Paramecium caudatum* w ciągu doby. Acta biol. exper. 8.

[Zakład Patologii Ogólnej i Doświadczalnej U. J. P. w Warszawie].
Kierownik Prof. Dr. F. Venulet.

F. Goebel i St. Zb. Bartosiewicz.

**Praca gruczołów trawiennych a równowaga kwasowo-
zasadowa.**

Influence des glandes digestives sur l'équilibre acido-alcalin.

Rękopis nadesłany w dniu 30.X.1935.

La sécrétion acide du suc gastrique au cours de la digestion provoque l'ainsi dite alcalose digestive. Pendant la sécrétion du suc alcalin pancréatique et intestinal, l'équilibre acido-alcalin dans le sang subit des déplacements passagers vers l'acidose.

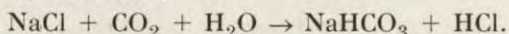
Or, les recherches qui ont été faites jusqu'à présent concernaient soit l'acte même de la digestion où les processus d'absorption alimentaire entrent cependant en jeu, soit on les effectuait sous l'influence des agents psychiques (S. Prikladovitzky, M. Brestkin).

Nos recherches ont porté sur les chiens normaux et porteurs des fistules gastriques, en provoquant leur sécrétion gastrique par l'histamine et leur sécrétion pancréatique et intestinale par la sécrétine. On déterminait dans le sang la réserve alcaline par le procédé de van Slyke et les chlorures; en même temps on déterminait l'acidité du suc gastrique d'après HCl.

Nous avons constaté que chez les chiens normaux la réserve alcaline du plasma subit une élévation considérable après l'injection intramusculaire de 1 mg d'histamine. Cette élévation persiste de 45' à 1 heure 15'; elle est suivie d'un abaissement de la réserve alcaline et on voit apparaître la deuxième phase, à savoir l'abaissement de la réserve alcaline lié à la sécrétion du suc pancréatique et intestinal.

En administrant l'histamine à un chien porteur de fistule gastrique et en faisant s'écouler son suc au dehors, on peut constater la marche tout à fait parallèle de l'élévation de la réserve alcaline et de l'acidité du suc gastrique sécrété. Evidemment l'alcalose dans le sang se maintient alors très longtemps, car 1°, le suc gastrique ne passe pas dans le duodénum et n'y excite pas la sécrétion du suc pancréatique ni intestinal, 2°, l'acide chlorhydrique emmené au dehors par l'écoulement du suc gastrique ne peut pas être absorbé.

Ces modifications de l'éq. a.—a. dépendent de la production de l'acide chlorhydrique par la muqueuse stomacale. Il s'y forme, comme on sait, au dépens des composées du chlore, surtout du chlorure de sodium, et la marche de la réaction est selon M a l y la suivante:



L'acide chlorhydrique ainsi obtenu passe par diffusion à l'estomac et le bicarbonate au sang où il donne naissance à l'alcalose. Les valeurs trouvées par nous confirment entièrement la marche de la réaction de M a l y (fig. I: Parallélisme complet entre la sécrétion de l'acide chlorhydrique par l'estomac et l'augmentation de la quantité de bicarbonates dans le sang).

Nous avons effectué aussi des expériences avec la sécrétine extraite de la muqueuse et submuqueuse du duodénum et de l'intestin adjacent. L'extraction a été opérée selon la méthode de Z u n z pour que la sécrétine obtenue soit complètement privée de substances vasodépressives. Nous en avons injecté aux chiens 5 cc. dans la veine jugulaire et examiné la réserve basique 5, 10, 15, 30, 45' etc. après l'injection. Les résultats de ces expériences ont été tout à fait analogues aux précédentes. La réserve alcaline après l'administration de la sécrétine se trouve diminuée pendant 15 à 30 minutes, puis elle regagne la normale. Cette diminution est à attribuer à l'absence d'équivalents basiques sécrétés surtout avec le suc pancréatique, car chez les chiens dépancrétés, nous n'avons jamais observé, ni dans les expériences aiguës, ni dans les chroniques, que la réserve basique subisse des variations après la sécrétine.

La sécrétion posthistaminique du suc gastrique donne naissance à une alcalose considérable: la réserve alcaline

augmente de 51.2%. Cette augmentation de la réserve alcaline est parallèle à la production du suc gastrique (selon la réaction de M a l y). Si l'on fait le suc gastrique s'écouler au dehors, l'alcalose est très persistante.

L'excitation de la sécrétion externe du pancréas par la sécrétine intestinale a pour effet une acidose compensée. Les recherches sur les chiens dépancrétés montrent que la sécrétion du suc intestinal n'y joue qu'un rôle insignifiant.

L'alcalose posthistaminique et l'acidose postsécrétoirienne constituent des troubles c o m p e n s é s de l'équilibre acido-basique, car pH dans le sang ne subit alors aucune déviation.

Kolejne wydzielanie soków trawiennych, głównie kwaśnego soku żołądkowego z jednej strony, a zasadowego soku trzustkowego z drugiej, z konieczności odbija się na równowadze kwasowo-zasadowej krwi.

W okresie pracy wydzielniczej żołądka, gdy wytwarza się w większej ilości kwas solny, we krwi występuje przesunięcie równowagi kwasowo-zasadowej w stronę zasadową. Odwrotnie, gdy wydziela się zasadowy sok trzustki oraz zasadowy sok jelitowy, dalej żółć, równowaga przesuwa się w stronę kwaśną. Wykazywano między innymi, że po przyjęciu pokarmów zwiększa się zawartość dwutlenku węgla we krwi (H a s s e l b a c h, S t r a u b i n n i). Natomiast, gdy pokarm wprowadzić z pominięciem żołądka zapomocą zgłębnika do dwunastnicy, wtedy następuje obniżenie ciśnienia dwutlenku węgla we krwi w związku z wydzielaniem zasadowego soku trzustkowego i jelitowego. Kojarzy się z tem ściśle spostrzeżenie v a n S l y k e'a, że na szczycie trawienia żołądkowego zasób zasad krwi ulega zwiększeniu.

Badania doświadczalne nad wpływem wydzielania soku żołądkowego na równowagę kwasowo-zasadową przeprowadzili P r i d l a d o w i t z k y S. i B r e s t k i n M. Stwierdzili oni u psów z przetokami przełykowymi i żołądkowymi, po rzekomem karmieniu, zwiększenie się zasobu zasad krwi. Stwierdzono zatem, że rozmaite pokarmy, w zależności od stopnia pobudza-

nia czynności wydzielniczej żołądka, wpływają na poziom zasobu zasad krwi. I tak podanie mięsa powoduje znaczne zwiększenie się zasobu zasad w ciągu jednej do dwóch godzin; spożycie chleba już w mniejszym stopniu narusza równowagę kwasowo-zasadową. Należy też uwzględnić, że oddziaływanie krwi ze swej strony wywiera wpływ na wydzielanie kwasu solnego w żołądku. Tak np. Brown stwierdził u psów, iż wdychanie dwutlenku węgla, które prowadzi do przesunięcia równowagi kwasowo-zasadowej w stronę kwaśną, wzmacnia wydzielanie kwasu solnego w żołądku; naodwrot — wskutek wzmożonego oddychania czyli hiperwentylacji, pociągającej za sobą alkalozę, produkcja kwasu solnego się zmniejsza. U ludzi podobne spostrzeżenia poczynili Mossony, L. Günther, J. Petrányi.

W badaniach naszych chodziło o wykazanie wpływu wydzielania soku żołądkowego, trzustkowego i jelitowego, wydzielanego wyłącznie w następstwie specyficznych bodźców farmakodynamicznych. W ten sposób wyłączono całkowicie w czasie pracy wydzielniczej gruczołów trawiennych proces wchłaniania pokarmów.

W pierwszej serji doświadczeń badaliśmy wpływ wydzielania soku żołądkowego po podaniu histaminy na równowagę kwasowo-zasadową.

Badania nad wpływem wydzielania soku żołądkowego po histaminie, przeprowadzono na psach normalnych i z przetokami żołądkowymi. Przetoki żołądkowe zakładano w uśpieniu chloralozowem. W 2—3 tygodnie po zabiegu operacyjnym psy używano do doświadczeń. Histaminę (Imido-, Roche) podawano domięśniowo w ilości 1 mg na psa. We krwi oznaczano zasób zasad za pomocą metody van Slyk'e'a przed podaniem histaminy, a następnie w 15, 30, 45 min., 1 godz., 1 godz. 30 min., 2 g., 2 g. 30 min., 3 g. ewentualnie i dłużej. Odczytaną objętość gazu sprowadzano do temp. 0° pod ciśnieniem barometrycznym 760 mm Hg.

Po oznaczeniu ilości wydzielonego soku żołądkowego, oznaczano ilość kwasu solnego w obecności dwumetyloaminoazobenzolu jako wskaźnika.

Jak wiadomo z badań Popielskiego, Rothlina i innych, histamina jest bodźcem specyficznym wydzielania so-

ku żołądkowego. Wydzielanie to zaczyna się już w kilka minut po podaniu histaminy i trwa 30—60 min. Szczyt wydzielania soku żołądkowego przypada zazwyczaj w 30 minut po podaniu histaminy. Jeszcze jest sprawą nierozstrzygniętą, czy histamina działa bezpośrednio na wydzielanie soku jelitowego. Prawdopodobnie działa ona dopiero pośrednio, po przejściu soku żołądkowego do dwunastnicy.

Dośw. 1. 13.XII.1934. Suka wagi 28 kg. Podano domięśniowo 1 mg histaminy. Zasób zasad uległ zwiększeniu o 20% na szczycie wydzielania soku żołądkowego. Szczyt wydzielania soku żołądkowego przypada w tym przypadku w 5 min. po zastrzyknięciu histaminy, koniec wydzielania w 1 godz. po podaniu histaminy. W fazie następnej zasób zasad ulega zmniejszeniu wskutek wydzielania soku trzustkowego.

Nr.	C z a s	Zasób zasad we krwi *)
1	przed wstrzyknięciem histaminy	35.7
2	5' po wstrzyknięciu histaminy	42.4
3	15' " " "	38.5
4	30' " " "	39.5
5	45' " " "	35.7
6	60' " " "	36.2
7	2h " " "	34.7

Dośw. 2. 15.XII.1934. Pies wagi 12.2 kg. Podano domięśniowo 1 mg histaminy, na szczycie wydzielania soku żołądkowego w 30 min. po zastrzyknięciu zasób zasad uległ zwiększeniu o 25%. Po 2 godz. 15 min. ustaje wydzielanie soku żołądkowego, zasób zasad powraca do normy, następuje wydzielanie soku trzustkowego pod wpływem przejścia soku żołądkowego do dwunastnicy. W 2 godz. 30 min. obserwujemy największe wydzielanie soku trzustkowego. W 3 godz. po zastrzyknięciu histaminy koniec drugiej fazy i powrót zasobu zasad do normy.

Nr.	C z a s	Zasób zasad we krwi
1	przed wstrzyknięciem histaminy	43.3
2	5' po wstrzyknięciu histaminy	45.3
3	15' " " "	46.2
4	30' " " "	54.8
5	60' " " "	49.0
6	1h 30' " " "	46.2
7	2h " " "	37.6
8	2h 30' " " "	43.3
9	3h " " "	43.3
10	3h 30' " " "	43.3

*) Zasób zasad we krwi w $\text{cm}^3 \text{CO}_2$ na 100cm^3 krwi.

Dośw. 3. 22.I.1935. Suka wagi 11 kg. Podano domięśniowo 1 mg histaminy. Największe wydzielanie soku żołądkowego przypada w 30 min. po zastrzyknięciu. Wydzielanie soku żołądkowego trwa 1 godz. Potem następuje wydzielanie soku trzustkowego, które trwa 2 godz. Największe wydzielanie soku trzustkowego przypada w 2 godz. po zastrzyknięciu histaminy. Powrót do normy obserwujemy po 3 godzinach.

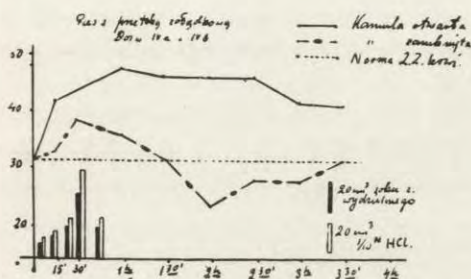
Nr.	C z a s	Zasób zasad we krwi
1	przed wstrzyknięciem histaminy	41.4
2	15' po wstrzyknięciu histaminy	43.3
3	30' " " "	48.1
4	45' " " "	47.6
5	60' " " "	42.8
6	1h 30' " " "	34.7
7	2h " " "	33.8
8	2h 30' " " "	34.7
9	3h " " "	41.4
10	3h 30' " " "	41.4

Dośw. 4. 31.I.1935. Pies wagi 16.3 kg z przetoką żołądkową. Kaniula zamknięta. Podano domięśniowo 1 mg histaminy. Wydzielanie soku żołądkowego trwało 1 godz. 30 min. Szczyt nasilenia wydzielania soku żołądkowego przypada w 30 min. po zastrzyknięciu histaminy, a w tym czasie zasób zasad krwi uległ zwiększeniu o 21.6%. W półtorej godzinie po podaniu histaminy zaczyna się wydzielanie soku trzustkowego, które trwa przez 2 godz. W 3 godz. 30 min. zasób zasad powraca do normy (rys. 1).

Nr.	C z a s	Zasób zasad we krwi
1	przed wstrzyknięciem histaminy	31.9
2	15' po wstrzyknięciu histaminy	32.8
3	30' " " "	38.6
4	60' " " "	35.7
5	1h 30' " " "	31.9
6	2h " " "	24.3
7	2h 30' " " "	28.1
8	3h " " "	28.1
9	3h 30' " " "	31.9
10	4h " " "	31.0

Dośw. 4b. Ten sam pies co w doświadczeniu poprzednim tylko z kaniulą żołądkową otwartą. Podano 1 mg histaminy domięśniowo. Sok żołądkowy uchodzi na zewnątrz. Wydzielanie soku jest obfite; szczyt wydzielania przypada w 30 min. po podaniu histaminy, następnie wydzielanie zmniejsza się i wreszcie po 48 min. ustaje zupełnie. Zasób zasad we krwi zwiększa się równolegle z wydzielaniem soku żołądkowego. Przyrost

zasobu zasad na szczycie wydzielania soku żołądkowego wynosił 31.1%. Przy kaniuli zamkniętej w doświadczeniu poprzednim na tym samym psie przyrost ten wynosił tylko 21.6%. W dalszym przebiegu doświadczenia zasób zasad ulega stałemu zwiększeniu, w 1 godz. po podaniu histaminy przyrost wynosi 53.1%, a w 3 godz. 30 min. nie mamy jeszcze powrotu do normy. W doświadczeniu tem pies stracił w ciągu 48 min. 128 cm³ soku żołądkowego o kwasowości 142.1 cm³ 1/10 n NaOH. Jest rzeczą jasną, że organizm, tracąc w stosunkowo krótkim czasie tak dużą ilość kwasów, nie może wyrównać tej straty i wskutek tego zasób zasad utrzymuje się na wysokim poziomie. Dalszym powodem, dla którego zasób zasad w tym przypadku utrzymuje się tak długo, jest to, że sok żołądkowy nie przechodząc do dwunastnicy, nie pobudza wydzielania zasadowego soku trzustkowego i jelitowego (rys. 1).



Rys. 1. pies wagi 16.3 kg.

- Norma zasobu zasad we krwi.
— — — Zasób zasad po zastrzyknięciu histaminy. Dośw. (4b). Kaniula otwarta.
█ 20 cm³ wydzielonego soku żołądkowego.
▨ 20 cm³ 1/10 N HCl, wyrażające kwasowość soku wydzielonego.
- - - Dośw. 4a. dn. 31.1.35 r. Ten sam pies z zamkniętą kaniulą.

Nr.	C z a s	Zasób zasad we krwi
1	przed wstrzyknięciem histaminy	31.9
2	15' po wstrzyknięciu histaminy	41.4
3	30' " " "	43.3
4	60' " " "	49.0
5	1h 30' " " "	47.1
6	2h " " "	47.1
7	2h 30' " " "	47.1
8	3h " " "	42.4
9	3h 30' " " "	41.4

Równoczesne wydzielanie soku żołądkowego.

Porównyując zachowanie się krzywej zasobu zasad w doświadczeniu 4a i 4b, widzimy, że w doświadczeniu pierwszym szczyt podniesienia się zasobu zasad przypada w 30 min. po podaniu histaminy, w drugim w godzinę i utrzymuje się przez czas dłuższy.

Czas	Ilość soku żołądkowego w cm ³	Kwasowość soku żołądkowego wyrażona w cm ³ N/10 NaOH
— 7'	11	13,9
7—15'	14	17,7
15'—20'	20	25,4
20'—30'	43	59,7
30'—45'	20	25,4
48'	wydzielanie ustaje	

Dośw. 5a. 20.II.1935. Pies wagi 24 kg z przetoką żołądkową. Kaniuła zamknięta. Podano domięśniowo 1 mg histaminy. W doświadczeniu tem zasób zasad utrzymuje się na wyższym poziomie przez 3 godz., przyczem szczyt nasilenia przypada w 2 h 30' i wynosi 14% stanu normalnego. Faza druga (wydzielanie soku trzustkowego i jelitowego) jest tutaj bardzo krótka i trwa 30 minut. Po 3 godz. 30 min. od czasu wstrzyknięcia histaminy poziom zasobu zasad ustala się jak na poziomie wyjściowym, nie ulegając już wychyleniom.

Nr.	C z a s	Zasób zasad we krwi
1	przed wstrzyknięciem histaminy	42,8
2	15' po wstrzyknięciu histaminy	41,9
3	30' " " "	45,7
4	60' " " "	44,7
5	1h 30' " " "	45,7
6	2h " " "	48,5
7	2h 30' " " "	49,4
8	3h " " "	41,9
9	3h 30' " " "	42,8
10	4h " " "	42,8
11	4h 30' " " "	42,8

Dośw. 5b. 4.II.1935. (Pies ten sam co w dośw. 5a, tylko z kaniułą otwartą). Pies wagi 24 kg z przetoką żołądkową, kaniuła otwarta. Podano 1 mg histaminy domięśniowo. Sok żołądkowy uchodzi nazewnątrz do naczyń. Równocześnie pobieramy krew na zasób zasad. W 30 min. po zastrzyknięciu histaminy obserwujemy podniesienie się zasobu zasad o 48,8%.

Do tej chwili pies wydzielił 121 cm³ soku żołądkowego o kwasocie, równej 155 cm³ N/10 NaOH. Poziom zasobu zasad zaczyna powoli opadać. W 2 godz. następuje dodatkowe wydzielanie niewielkiej ilości soku żołądkowego, na co organizm, który stracił już dużo kwasu, żywo reaguje, podnosząc zasób zasad we krwi o 51,2% w porównaniu z normą. Szczyt ten przypada w 3 godz. po zastrzyknięciu i następnie obserwujemy stałe opadanie poziomu zasobu zasad. W 5 godz. jest jeszcze zasób zasad wyższy o 23,5% od normy.

Nr.	C z a s	Zasób zasad we krwi
1	przed wstrzyknięciem histaminy	38.5
2	15' po wstrzyknięciu histaminy	44.3
3	30' " " "	56.7
4	60' " " "	52.8
5	1h 30' " " "	51.0
6	2h " " "	49.0
7	2h 30' " " "	53.8
8	3h " " "	58.6
9	3h 30' " " "	52.8
10	4h " " "	47.1
11	5h " " "	47.1

Równoczesne wydzielanie soku żołądkowego:

C z a s	Ilość soku żołądkowego w cm ³	O kwasowości N/10 NaOH w cm ³
— 15'	41	49.1
15'— 30'	80	106.4
30'— 45'	80	112.8
45'— 60'	15	16.3
60'—1h 20'	5	4.2
	wskutek bodźca psychicznego	
2h	10	10
2h 30'	15	15

Ogólnie pies wydzielił 245 cm³ żołądkowego soku o kwasocie, równej 313.8 cm³ N/10 NaOH.

Dośw. 6. 6.II.1935. Suka wagi 13 kg. Uśpienie zapomocą chloralozy. Po otwarciu jamy brzusznej założono na oddźwierniku zaciskacz w ten sposób, aby wydzielony sok żołądkowy nie mógł przedostawać się do dwunastnicy. Pobierano krew na zasób zasad przed uśpieniem i w pewien czas po uśpieniu, biorąc poziom zasobu zasad w narkozie za normę. Następnie podano 1 mg histaminy domięśniowo. Badając krew, stwierdza się, że zasób zasad utrzymuje się na zwiększonym poziomie przez 4 godz. Szczyt zwiększenia zasobu zasad krwi przypada w 2 godziny po podaniu histaminy (36.6%).

Składniki kwaśne soku żołądkowego zostały w czasie przebywania w żołądku wchłonięte spowrotem, bo po 4-ch godzinach kwasowość soku wynosiła w 10 cm³ soku — 5.5 cm³ N/10 NaOH (rys. 1).

Nr.	C z a s	Zasób zasad we krwi
1	przed wstrzyknięciem histaminy, przed podaniem chloralozy	37.2
2	przed wstrzyknięciem histaminy, po podaniu chloralozy	30.0
3	po wstrzyknięciu histaminy, 15' po podaniu chloralozy	33.8
4	przed wstrzyknięciem histaminy, 30' po podaniu chloralozy	35.7
5	przed wstrzyknięciem histaminy, 60' po podaniu chloralozy	35.7
6	przed wstrzyknięciem histaminy, 1h 30' po podaniu chloralozy	39.5
7	przed wstrzyknięciem histaminy, 2h po podaniu chloralozy	41.1
8	przed wstrzyknięciem histaminy, 2h 30' po podaniu chloralozy	36.6
9	przed wstrzyknięciem histaminy, 3h po podaniu chloralozy	36.6
10	przed wstrzyknięciem histaminy, 3h 30' po podaniu chloralozy	36.6
11	przed wstrzyknięciem histaminy, 4h po podaniu chloralozy	32.8

Z doświadczeń tych wynika, że:

1°, pohistaminowe wydzielanie się soku żołądkowego powoduje alkalozę, przy czem podniesienie się zasobu zasad we krwi idzie równolegle z narastaniem zarówno kwasowości soku żołądkowego, jak i jego ilości;

2°, alkalozą pohistaminową trwa godzinę do 1 godz. 30 min. od chwili podania histaminy;

3°, wydalanie nazewnątrz soku żołądkowego u psów z przetoką żołądkową powoduje długotrwałą alkalozę;

4°, sok żołądkowy, przechodząc do dwunastnicy, powoduje wydzielanie zasadowego soku trzustkowego i jelitowego, które to wydzielanie jest przyczyną następczej kwasicy, trwającej około 2-ch godzin.

Powyższe odchylenia w równowadze kwasowo-zasadowej uzależnione są od wydzielania się kwasu solnego. Kwas ten jak wiadomo

mo, powstaje w komórkach okładzinowych błony śluzowej żołądka. Do wytworzenia kwasu zostają zużyte związki chloru we krwi, głównie chlorek sodu. Reakcja ta według M a l y'ego przebiega w sposób następujący: $\text{NaCl} + \text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{NaHCO}_3 + \text{HCl}$.

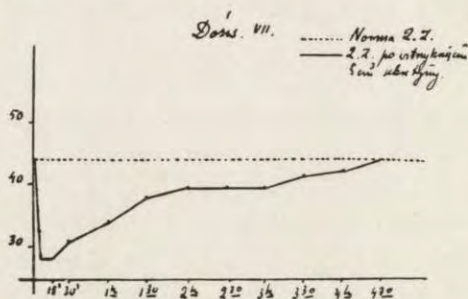
Powstały kwas solny dyfunduje do żołądka, NaHCO_3 do krwi. Stąd we krwi już w czasie wydzielniczej pracy żołądka mamy alkalozę. Natomiast, gdy sok żołądkowy przechodzi do dwunastnicy i pobudza wydzielanie alkalicznego soku trzustkowego i jelitowego, we krwi powstaje kwasica. Wiadomo dalej z badań A. O. W o i n a r a, że oddziaływanie krwi wpływa na zasadowość soku trzustkowego. Tak np., gdy — po dodaniu dożylnem kwasu solnego — zasób zasad jest zmniejszony, to wtedy zarówno ilość, jak i zasadowość soku trzustkowego jest zmniejszona. Odwrotnie zaś, po sztucznym zwiększeniu zasobu zasad po podaniu dożylnem dwuwęglanu sodu, ilość jak i zasadowość soku trzustkowego się zwiększa.

Druga serja naszych doświadczeń, obejmowała sprawy wpływu wydzielania soku trzustkowego i jelitowego po sekretynie jelitowej na zasób zasad krwi. Sekretynę jelitową otrzymaliśmy w sposób następujący: psu, natychmiast po zabiciu, wyjmuje się dwunastnicę z kawałkiem jelita cienkiego, rozcina się i po dokładnem wymyciu zdrapuje się nożem śluzówkę i podśluzówkę, rozciera się je dokładnie z piaskiem wyprażonym uprzednio, zalewa się równą ilością soli fizjologicznej i zagotowuje się, następnie sączy się. Sekretyna znajduje się w przesączu. Sekretynę zawsze przygotowywaliśmy *ex tempore*. Podawaliśmy dożylnie 5 cm³ takiego wyciągu.

Nr.	C z a s	Zasób zasad we krwi
1	przed wstrzyknięciem sekretyny	44.3
2	5' po wstrzyknięciu sekretyny	28.1
3	15' " " "	28.1
4	30' " " "	30.9
5	60' " " "	33.8
6	1h 30' " " "	37.6
7	2h " " "	39.5
8	2h 30' " " "	39.5
9	3h " " "	39.5
10	3h 30' " " "	41.4
11	4h " " "	42.4
12	4h 30' " " "	43.3

Dośw. 7. 14.III.1935. Pies wagi 14.5 kg otrzymał 5 cm³ sekretyny dożylnie. Zaraz potem obserwowano dość silny szok.

W 5 min. po podaniu sekretyny występuje znaczne obniżenie się zasobu zasad (o 36.3%), spadek ten utrzymuje się do 15 minut po zastrzyknięciu, potem zasób zasad stopniowo się podnosi, aby po 4 godz. 30 min. wrócić do normy (rys. 2).



Rys. 2. Pies wagi 14,5 kg.

Dośw. 7. dn. 14.III.35 r.

..... Norma zasobu zasad we krwi.

—— Zasób zasad po wstrzyknięciu sekretyny.

Dośw. 8. 23.V.1935. Pies wagi 22 kg Otrzymał dożylnie 5 cm³ sekretyny. Po wstrzyknięciu tym razem nie obserwowano szoku. Po 15 min. zasób zasad obniżył się o 21.8%, potem powoli powraca do normy, na której ustala się po 1 godz. 30 min. od chwili wstrzyknięcia sekretyny.

Nr.	Czas	Zasób zasad we krwi
1	przed wstrzyknięciem sekretyny	46.2
2	15' po wstrzyknięciu sekretyny	35.7
3	30' " " "	40.4
4	60' " " "	44.3
5	1h 30' " " "	46.2
6	2h " " "	46.2
7	2h 30' " " "	46.2
8	3h " " "	46.2

Dośw. 9. 1.VI.1935. Pies wagi 16.9 kg. Podano 5 cm³ sekretyny dożylnie. Ponieważ w tym doświadczeniu, jak i w poprzednim, zastrzyknięcie sekretyny przeprowadzano bardzo powoli, to również nie obserwowano wstrząsu. Maksymalne obniżenie zasobu zasad wystąpiło w 1 godz. po podaniu sekretyny. Słabe reagowanie psa uwydatnia się w procentowym odchyleniu zasobu zasad od normy, które przy największym odchyleniu wynosi około 19.4% (obniżenie). Potem dość szybko powraca do normy i już w 2 godz. po wstrzyknięciu ustala się na pierwotnym poziomie.

Nr.	C z a s	Zasób zasad we krwi
1	przed wstrzyknięciem sekretyny	41.4
2	15' po wstrzyknięciu sekretyny	41.4
3	30' " " "	36.6
4	60' " " "	32.8
5	1h 30' " " "	39.5
6	2h " " "	41.4
7	2h 30' " " "	41.4

Dośw. 10a. 6.VI.1935. Pies wagi 23 kg dostał dożylnie 5 cm³ sekretyny (zeskrobana śluzówka 1 część na 4 części soli fizjologicznej). Po zastrzyknięciu nie wykazuje zaniepokojenia i zachowuje się normalnie. Okres największego obniżenia zasobu zasad krwi przypada w 30 minut po zastrzyknięciu i wynosi 16.2% stanu normalnego, poczem bardzo wolno wraca do normy, którą osiąga w 3 godz. po wprowadzeniu sekretyny do ustroju.

Nr.	C z a s	Zasób zasad we krwi
1	przed wstrzyknięciem sekretyny	43.3
2	15' po wstrzyknięciu sekretyny	40.4
3	30' " " "	36.6
4	60' " " "	37.6
5	1h 30' " " "	41.4
6	2h " " "	41.4
7	2h 30' " " "	41.4
8	3h " " "	43.3
9	3h 30' " " "	43.3

Dośw. 10b. 13.VI.1935. Pies z dośw. 10a, waga 23 kg. W uśpieniu chloralozowym. Pobieramy krew na badanie zasobu zasad, następnie podwiązujemy wszystkie naczynia i przewody trzustkowe, poczem usuwamy trzustkę. Po tym zabiegu podajemy psu powoli dożylnie 5 cm³ sekretyny. Krew wykazuje tylko nieznaczne obniżenie poziomu zasobu zasad. Szczyt spadku zasobu zasad przypada w 30 min. od zastrzyknięcia i wynosi tylko 6.6%. Następnie w 1 godz. 30 min. zasób zasad ustala się na poziomie normy z przed zastrzyknięcia. Z tego doświadczenia widzimy, że obniżenie zasobu zasad krwi po wstrzyknięciu sekretyny odbywa się w przeważającej części pod wpływem wydzielania się zasadowego soku trzustkowego. Zatem, gdy u psa, pozbawionego trzustki, sok nie wydziela się, to nie obserwujemy znacznego obniżenia zasobu zasad. Mały spadek (6.6%) zasobu zasad, jaki w tym doświadczeniu spostrzegamy, możemy przypisać niktemu wydzielaniu również zasadowego soku jelitowego.

Nr.	Czas	Zasób zasad we krwi
1	stan przed wstrzyknięciem w chloralozie	30.5
2	15' po wstrzyknięciu w chloralozie	29.6
3	30' " " "	28.7
4	60' " " "	29.6
5	1h 30' " " "	30.5
6	2h " " "	30.5

Wobec tego, że sekretyna otrzymywana w zwykły sposób zawierać może związki obniżające ciśnienie krwi, przeto wykonaliśmy jeszcze badania dodatkowe z sekretyną, otrzymaną według metody E. Z u n z a, a pozbawioną zupełnie ciał depresyjnych.

Sekretynę taką przygotowaliśmy w sposób następujący: roztartą z piaskiem śluzówkę dwunastnicy i górnej części jelita cienkiego zadano alkoholem absolutnym i poddano wyciąganiu w aparacie S o x h l e t a. Następnie pozostałość nierozpuszczalną w alkoholu zadano 0.4% kwasem solnym, zagotowano, potem zobojętniono 1/10 n NaOH wobec lakmusu jako wskaźnika. Następnie zlekka zakwaszono kwasem octowym i przesączono.

Dośw. 11. 14.IX.1935. Pies wagi 19 kg otrzymał dożylnie 5 cm³ sekretyny, przygotowanej według E. Z u n z a. Widzimy, że zasób zasad zachowuje się zupełnie podobnie, jak w doświadczeniach poprzednich z sekretyną zwykłą. Ulega on znacznemu obniżeniu przy czym szczyt obniżenia przypada w 30 min. po podaniu sekretyny. Po godzinie nastąpił powrót do normy.

Nr.	Czas	Zasób zasad we krwi
1	przed wstrzyknięciem sekretyny	37.6
2	51' po wstrzyknięciu sekretyny	34.7
3	30' " " "	31.9
4	60' " " "	38.5
6	1h 30' " " "	39.5
6	2h " " "	38.8

Dośw. 12. 19.IX.1935. Pies wagi 17 kg pozbawiony trzustki dn. 13.IX. 1935 r. Otrzymał dożylnie 5 cm³ sekretyny Z u n z a. I w tym przypadku, podobnie jak w doświadczeniu ostrem, nie stwierdzono większych odchyżeń

w zasobie zasad krwi, co dowodzi, że wahania równowagi kwasowo-zasadowej po sekretynie zależą prawie wyłącznie od produkcji soku trzustkowego.

Nr.	C z a s	Zasób zasad we krwi
1	przed wstrzyknięciem sekretyny	34.7
2	15' po wstrzyknięciu sekretyny	34.7
3	30' " " "	35.7
4	60' " " "	34.7
5	1h 30' " " "	34.7

Zestawiając otrzymane wyniki, przechodzimy do następujących wniosków:

Pohistaminowe wydzielanie soku żołądkowego powoduje alkalozę. Zwiększenie się zasobu zasad we krwi jest równoległe z narastaniem kwasowości soku żołądkowego i jego ilością. Wydzielanie soku żołądkowego u psów z przetoką żołądkową powoduje długotrwałą alkalozę.

Pobudzenie wydzielania zewnętrznego trzustki pod wpływem sekretyny jelitowej pociąga za sobą kwasicę. Jak wykazały badania u psów beztrzustkowych, kwasica ta jest uzależniona głównie od wydzielania soku trzustkowego, wydzielanie soku jelitowego odgrywa tu tylko nieznaczną rolę. Podanie sekretyny, pozbawionej ciał obniżających ciśnienie krwi, powoduje zupełnie takie same odchylenia w zasobie zasad krwi, jak po sekretynie zwykłej.

Zarówno alkalozą pohistaminową, jak i kwasicą po sekretynie są wyrównanymi zaburzeniami równowagi kwasowo-zasadowej, gdyż pH krwi nie ulega wtedy zmianie.

P i ś m i e n n i c t w o .

Hasselbalch u. Straub. *Bioch. Zeit.* 46 (1912). — Koskowski W. *Kosmos.* 56 (1931). — Koskowski W. *Pol. Gaz. Lek.* 43 (1927). — Mosonyi J., L. Günther u. J. Petrányi. *Zeit. f. g. ex. Med.* 95 (1935). — Prikladowitzky S. u. M. Brestkin. *Zeit. f. ges. exp. Med.* 64 (1929). — Popielski L. *Arch. f. ges. Physiol.* 120 (1907). — Skarzyńska M. *Med. Dośw. i Społ.* 2 (1924). — Straub H. *Dtsch. Archiv. klin. Med.* 153 (1915). — Woinar A. O. *Zeit. exp. Biol. u. Med.* 10 (1928). — Woinar A. O. *Pflüg. Arch.* 221 (1928). — Zunz E. *Arch. inter. de Physiol.* 7 (1909).

[Biochemical Laboratory, Medical Faculty, Pilsudski University, Warsaw].

R. Truszkowski and S. Gubermanówna

**Isolation and nature of active products from
uricase extracts.**

Received for publication: 17.XII.1935.

The results of a study of the conditions of preparation of extracts of uricase were described in Part VIII of this series ('35); the present paper will be devoted to a description of methods of reprecipitating uricase, and of the chemical nature of the precipitates. As will appear from the following, the problem of precipitation presents certain analogies to that of extraction, inasmuch as the activity of the extracts is the resultant of the two opposing processes of dissolution and inactivation by alkali, whilst that of the precipitates is the resultant of precipitation and inactivation by acid. The products obtained are therefore in both cases contaminated with products of inactivation of the enzyme as well as with other, primarily inactive substances.

General experimental methods

Ox-kidney powder was prepared according to the methods described in Part VII (Method I) or VIII (Method II) of this series. The activity of the enzymic preparations was determined under the standard conditions described in the same paper. Uric acid solutions were prepared by dissolution in boiling aq. NaOH (65 ml. 0.1 N-NaOH per g. of uric acid). Uric acid was determined by the colorimetric method of Folin and Denis.

Results

1. Precipitation by acetic acid.

On gradual addition of 1% acetic acid to the clear extract of uricase the solution becomes progressively more turbid, and, at the point of maximum turbidity a voluminous, flocculent precipitate separates, leaving a clear, light yellow supernatant liquid when centrifuged, or allowed to settle. Further addition of acid leads to the re-dispersion of the precipitate, to yield finally an opalescent solution, addition of 0.2% Na_2CO_3 to which leads to the same changes, in the inverse order.

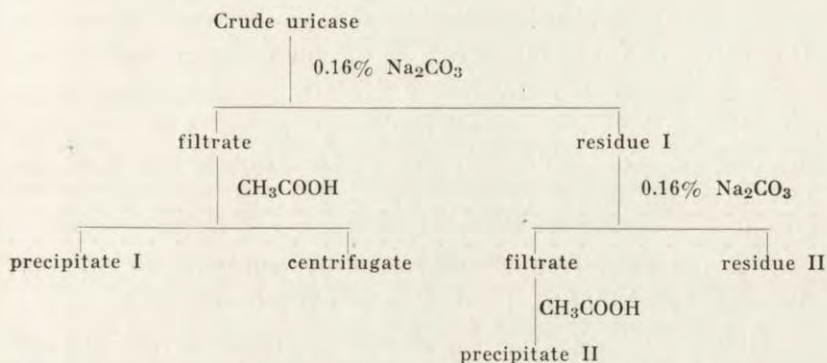
This preliminary experiment indicates that some amphoteric substance is present, and that its precipitation takes place at the isoelectric point.

Chemical nature of the precipitate.

6 g. of kidney powder (prepared according to the method described in Part VII) were suspended in 300 ml. of 0.16% Na_2CO_3 , and the suspension was filtered after 48 hr. at 37°. 0.6% AcOH was added to the filtrate (270 ml.) to attainment of maximum turbidity, the solution was allowed to stand for 3 hr., the clear supernatant fluid was siphoned off, the voluminous precipitate was centrifuged, and washed on the centrifuge three times with 96% alcohol, and three times with dry ether, excess of which was removed in a vacuum oven at 30°, when 0.38 g. of a white powder remained. 0.05 g. of the powder, dissolved in 20 c.c. of 0.1% uric acid, catalysed the oxidation of the entire uric acid content after 24 hr. at 37°.

The residue remaining after filtering the first extract was re-extracted, the filtrate was again precipitated with acetic acid, and the ppt. was dried as above, after dehydration with alcohol and ether. The residue was washed with water, and dried similarly. The various products were then analysed for N and P (micro-Kjeldahl and Lohmann-Jendrasik methods). The P content was further in most cases determined according to a method described by Needham ('30) separately for

alkali-labile, presumably phosphoprotein P (p.-p.P) and alkali-stable, presumably nucleoprotein P (n.-p.P).



The procedure is illustrated by the above scheme, and the analytical results (each value is the mean of 2—3 concordant determinations) are given in Table I.

Table I.

Nitrogen and phosphorus content of various preparations derived from ox-kidney uricase.

Nature of preparation	N content %	Total P content %	p. - p. P %	n. - p. P %
Crude uricase	13.32	1.1	0.54	0.53
Centrifugate		contains	1.9 mg. P	
Ppt. I	13.46	1.76	0.65	1.07
Ppt. II	—	1.285	0.344	0.939
Residue II	—	0.435	0	0.44

The analytical data (Table I) show that the nitrogen content of the crude uricase differs little from that of precipitate I, and is not incompatible with the view that these products consist chiefly of proteins. The total P content is greatest for precipitate I, as is also the p.-p.P, which is absent from residue II. The material extracted by aq. Na_2CO_3 is richer in total and in n.-p.P than is the original powder. The activity of the preparations varies roughly parallel with their p.-p.P content.

The conclusion might be drawn that the acidic constituents of kidney tissue soluble in aq. Na_2CO_3 consist largely of phosphorus-containing proteins, represented chiefly by nucleoproteins. The possibility that the phosphoprotein fraction is identical with uricase is supported by the following considerations:

1. The most active preparation is ppt. I, possessing the highest p.-p.P content, whilst residue II, which is inactive, does not contain alkali-labile phosphorus. Precipitate II, which has half the labile P content of ppt. I, has also roughly half its activity.

2. The inactivation of uricase by solutions of high pH might be ascribable to elimination of phosphorus.

This possibility was tested by comparing the activity and the inorganic P content of a number of systems containing uricase, uric acid, and glycine-NaOH buffers (Sørensen) of pH 6.7—10.7. 2.5 g. of dry uricase (Method I) were suspended in 250 ml. of 0.1 Na_2CO_3 , toluene was added, and the suspension was filtered after 48 hr. at 37° , 225 ml. of filtrate being obtained. 45 ml. of 0.6% acetic acid were added, the resulting suspension was centrifuged, and water was added to the combined residues to afford a dense emulsion (12 ml.), 1 ml. of which was added to a series of 15 ml. centrifugal tubes containing 10 ml. of buffer solution and 4 ml. of 0.2% uric acid. Toluene (5 drops) was added to the tubes, which were mixed by inversion, and incubated for 16 hr. at 37° ; the contents of the tubes were again mixed and uric acid was determined. 1.5 ml. of 45% trichloroacetic acid were added to each of the tubes, the solutions were mixed, and centrifuged. The inorganic P content of 10 ml. of each centrifugate was then determined, and the results were calculated for 15 ml. of the original solution (correction for the volume taken for uric acid determination, and for the 1.5 ml. of trichloroacetic acid added). The control systems consisted of 10 ml. of buffer solutions, 4 ml. of uric acid solution, and 1 ml. of water.

The experimental results given in Table II are representative of a number of similar experiments. Phosphorus elimination is at all pH values taken considerably less than the maximum

possible (0.11 mg.), and tends on the whole to fall with increasing pH; no connexion between inactivation of uricase and elimination of P is apparent.

Table II.

Elimination of phosphoric acid and activity in systems of different pH.

No. of. ml. of		pH	M g. uric acid			mg. inorg. P.
0.1 N-NaOH	0.1 N-glycine		in control	in system	oxidised	
0	10	6.77	8.25	5.1	3.15	0.051
0.5	9.5	7.81	8.25	4.05	4.2	0.042
2	8	8.63	8.25	3.37	4.88	0.033
4	6	9.00	8.25	2.91	5.34	0.032
5	5	9.30	7.5	3.5	4.0	0.040
6	4	9.50	7.2	5.2	2.0	0.036
9	1	10.75	7.2	6.3	0.9	0.018

Ro ('31) stated that trypsin does not inactivate uricase. This question was reinvestigated, using Merck's „pancreatin", as follows. 0.5 g. of pancreatin was dissolved in 50 ml. of a 2% extract of uricase, 2 ml. of the solution were immediately added to 10 ml. of 0.11% uric acid solution, and uric acid was determined after 18 hr. at 37°; 3.7 mg. were found, as compared with 11.0 mg. initially. The activity of the extract was again determined after incubation at 37° for 24 hr. (10.5 mg. of uric acid were found). It follows that the activity of uricase is reduced practically to zero by tryptic digestion, pointing to the proteinic nature of the active principle.

Conditions of precipitation of uricase.

The preliminary experiments described in section I of this paper are not on the whole, incompatible with the view that uricase is an acid protein, possibly a phosphoprotein. Further work on the chemical nature of uricase required a more complete study of the optimum conditions of precipitation of uricase from its solutions; the following precipitants were studied: acetic acid, carbon dioxide, ammonium sulphate, and calcium chloride.

Acetic acid.

The following experiments show that the activity of the precipitate rises with increase in the quantity of acid added to a maximum, corresponding with the point of maximum turbidity; the activity of the centrifugate falls continuously, whilst both the precipitate and the centrifugate are inactivated by addition of excess of acid.

A 2% suspension of dry uricase in 0.16% Na_2CO_3 was filtered after 24 hr. at 37°, 2 ml. of the filtrate were added to 10 ml. of 0.1% uric acid, and uric acid was determined after 20 hr. at 37°. Various volumes (0.6—2.0 ml.) of 2% acetic acid were added to 10 ml. portions of the filtrate in 15 ml. centrifuge tubes, 2 ml. of the resulting suspensions were taken for determination of activity as before, the suspensions were centrifuged, the precipitates suspended in the same volume of water as that of the suspensions before centrifuging, and 2 ml. of the suspensions and centrifugates were taken for determination of activity. The N contents of the various fractions were determined, and the pH of the centrifugates. The results, given in Table III, are corrected for the volume changes involved in adding acetic acid; thus 2 ml. of the original filtrate are equivalent to 2.2 ml. of the suspension obtained by adding 1 ml. of acetic acid to 10 ml. of filtrate, and the N content and number of mg. of uric acid oxidised were accordingly multiplied by 1.1.

The clear filtrate becomes turbid after addition of 0.6 ml. of 2% acetic acid, but no precipitate forms; for this reason the activity of the centrifugate is equal to that of the suspension. At the same time, it appears that the activity of the preparation is not affected (apparently even enhanced) by addition of acetic acid to pH 7.89 and 7.48. At pH 7.48 a precipitate forms, of low activity. The most active precipitate is obtained at pH 6.96, but the activity of the suspension is somewhat lower than that of the original filtrate, and that of the centrifugate considerably more so. The activity of all fractions falls rapidly with increasing acidity, approaching zero when 1.0 ml. of 2% acetic acid per 10 ml. of filtrate are present. It will be seen that in this case the activity of the suspension is considerably greater than

that of the precipitate, whilst the centrifugate is completely inactive; this apparent discrepancy may be ascribed to the shorter duration of action of acetic acid for the suspension as a whole (13 min.), than for the precipitate and centrifugate before samples were taken for testing activity (about 60 min., necessary for counterpoising and centrifuging the suspensions). Activity is practically nil with 1.4 ml. of acid, and is totally absent at higher acidities.

The original N content corresponds with 0.668 mg. of 2 ml. of filtrate; on progressive addition of acid the N distributes itself in the approximate ratio of 3.5 : 1 in the centrifugates and precipitates. The activity, calculated per mg. of N, rises for the precipitates to a maximum for 0.8 ml. of acid (pH 6.96), thereafter falling below the original figure; the greatest increase in activity is almost exactly three-fold. It is of interest that most of the precipitate N is obtained at pH 7.48; it is probable that this consists largely of inert material together with a small amount of adsorbed uricase. Precipitation is not complete at the pH at which inactivation commences.

The chief conclusions to be drawn from the above results are that the filtrates contains a mixture of active and inactive substances; about a third of the protein constituents are precipitable by acetic acid, and the precipitate consists chiefly of originally inactive substances, in addition to those inactivated by the acid. The remaining active constituents are, however, present in a concentration roughly three times greater than in the original filtrate proteins. The active principle is extraordinarily susceptible to acids, commencing inactivation being observable at a pH little different from that of neutrality, and practically total inactivation at pH < 5.8.

A more direct comparison of the activity of the various preparations was effected in the following way. 4 g. of dry uricase (Method II) were suspended in 200 ml. of 0.16% Na_2CO_3 , the activity of the suspension was determined immediately, and after 24 hr. at 37°, when it was filtered, 14 ml. of 2% acetic acid were added to 130 ml. of filtrate, 18 ml. of the resulting suspension were placed in a centrifuge tube, and

Table III.

Activity and N content of the products obtained by adding acetic acid to solutions of uricase.

2% CH ₃ CO ₂ H added per 10 ml. of filtrate ml.	Enzymic preparation taken	pH of centrifugate	N content of 2 ml. of prep. (corrected) mg.	Mg. of uric acid after 20 hr. at 37°				No. of mg. uric acid oxidised per mg. of N
				in control	in system	oxidised	Oxidised (corrected)	
0	filtrate	9.9	0.668	9.6	0.6	9.0	9.0	13.08
0.6	suspension	—	—	„	0.84	8.76	9.29	—
	precipitate	—	—	„	9.6	0	0	—
	centrifugate	7.89	0.662	„	1.08	8.52	9.03	13.64
0.7	suspension	—	—	„	0.84	8.76	9.37	—
	precipitate	—	0.132	„	8.4	1.2	1.28	9.7
	centrifugate	7.48	0.598	„	3.48	6.12	6.55	10.95
0.8	suspension	—	—	„	1.8	7.8	8.42	—
	precipitate	—	0.150	„	4.08	5.52	5.96	39.8
	centrifugate	6.96	0.532	„	7.2	2.4	2.59	4.86
0.9	suspension	—	—	„	4.68	4.92	5.36	—
	precipitate	—	0.122	„	6.48	3.12	3.4	27.8
	centrifugate	6.14	0.532	„	6.96	2.64	2.87	5.39
1.0	suspension	—	—	„	4.56	5.04	5.54	—
	precipitate	—	0.122	„	8.4	1.2	1.32	10.82
	centrifugate	5.83	0.532	„	9.6	0	0	—
1.4	suspension	—	—	8.4	7.92	0.48	0.54	—
1.5	} i n a c t i v e							
1.6								
2.0								

Table IV.

Relative activity of various preparations of uricase.
All systems contain 10 ml. of uric acid solution.

No. of experiment	Nature and amount of uricolytic preparation	Mg. of uricolytic prep. present	Mg. of uric acid after 20 hr. at 37°					Rel. activity	Fraction of original activity
			in control	in system	oxidised				
					in system	per ml. of prep.	per mg. of prep.		
1	0.3 ml. of original suspension	6	7.21	3.3	3.91	13.3	0.65	1	1
2	1 ml. of final suspension	20	7.15	1.32	—	5.83	0.291	0.45	0.44
3	1 ml. of solution of precipitate	—	7.15	1.98	—	5.17	—	—	0.39
4	1 ml. of filtrate	0.35	7.15	5.28	—	1.87	5.34	8.21	0.14
5	1 ml. of centrifugate	—	7.15	6.27	—	0.88	—	—	—
6	2 ml. of solution of dry precipitate	2.86	6.96	3.24	3.72	1.86	1.30	2	0.035

together with the remainder, centrifuged. The precipitate from the first tube, representing one-eighth of the original 130 ml. of filtrate, was dissolved in 16 ml. of 0.16% Na_2CO_3 , and the activity of the solution was determined. The remaining residues (representing seven-eighths of the original filtrate) were combined, washed 3 times on the centrifuge with 96% alcohol, and 3 times with dry, alcohol-free ether, and dried in a vacuum oven at 30° , when 40 mg. of a white powder were obtained. The powder was dissolved in 28 ml. of 0.04% Na_2CO_3 , and its activity was determined.

The results are given in Table IV. The figures relating to the number of mg. of preparation present in the systems were arrived at as follows: (Exp. 1) 0.3 ml. of suspension were taken, containing 6 mg. of powder, (Exp. 2) 1 ml. cont. 20 mg. of powder, (Exp. 4) seven-eighths of the filtrate, representing $13/20$ of the total extract, yielded 40 mg. of dry precipitate, whence it follows that the whole 200 ml. of solution would have yielded 70.2 mg., and that the 1 ml. of dissolved precipitate contained 0.35 mg. of dry preparation, (Exp. 6) the 2 ml. of solution of the dry residue taken contained $40 \times 2/28 = 2.86$ mg. of preparation. The relative activities are calculated by taking the activity (no. of mg. of uric acid oxidised per mg. of prep.) of the original suspension as 1, and the fractions of original activity by taking the no. of mg. of uric acid oxidised per ml. of the original suspension as the basis of comparison with equivalent amounts of the various derived preparations.

The results are best illustrated by the last two columns, from which it appears that the final product is only twice as active as the original one, and that the total loss in activity involved in obtaining this product amounts to 96.5%; 56% of the activity of the original product is lost during the process of extraction, and 11% of the activity of the final suspension remains in the residue. Only 35% of the activity of the filtrate is in the acetic acid precipitate, the remainder being partly destroyed by acid, and partly remaining in the centrifugate. Finally, the process of drying with alcohol and ether, together with possible mechanical losses associated with incomplete

collection of the precipitates, accounts for the loss of 75% of the activity of the wet precipitate.

It follows that purification of the enzyme by extraction with alkaline solutions, followed by precipitation with acetic acid gives eventually products little more active than is the original uricase at the cost of over 96% of its activity.

Carbonic acid.

Uricase extracts become turbid when saturated with CO_2 , but no precipitate is formed on centrifuging. The action of higher concentrations of CO_2 was examined by saturation under pressure, in a „Sparklet” siphon. Under these conditions, a sediment formed, which, however, underwent redispersion on releasing the pressure. The solutions were inactivated by the CO_2 , as 2 ml. of the product added to 10 ml. of 0.1% uric acid oxidised only 0.72 mg., as compared with 6.78 mg. of uric acid oxidised during the same time by the original filtrate.

Ammonium sulphate.

A copious precipitate is formed when $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ is added to half-saturation to a solution of uricase. The activity of the ppt., and of those obtained by adding 0.8 ml. of acetic acid, and by adding 0.5 ml. of acetic acid and $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ to $\frac{1}{5}$ — $\frac{1}{2}$ saturation to 10 ml. portions of filtrate was investigated. The solutions containing higher concentrations of $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ did not deposit the suspended precipitate on standing or when centrifuged (probably owing to the high specific gravity of the medium); in these cases satisfactory separation was attained by adding 1 ml. of toluene, shaking, and centrifuging, when the suspended material collected as a pellicle on the surface of the liquid. The contents of the tubes were then filtered, the residues on the papers were washed into a flask with 10 ml. of H_2O , and 2 ml. were taken for determination of activity. The results, given in Table V, indicate that 64% of the activity of the filtrate is present in the precipitate obtained by adding $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ to $\frac{1}{2}$ saturation, and that no advantage is gained by adding

CH_3COOH in concentrations which do not ordinarily inactivate uricase.

Table V.

Precipitation of uricase by ammonium sulphate.

All flasks contain 10 ml. of 0.7% uric acid, and 2 ml. of enzymic preparation

Precipitant	Mg. of uric acid after 17 hr. at 35°			
	in control	in system	oxidised	
None (filtrate)	7.08	1.26	5.82	
0.8 ml. of CH_3COOH	"	5.88	1.20	
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ to half saturation	"	3.36	3.72	
0.5 ml. of $\text{CH}_3\text{COOH} + (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ to	$\left. \begin{array}{l} 1/5 \text{ sat.} \\ 1/4 \text{ "} \\ 1/3 \text{ "} \\ 1/2 \text{ "} \end{array} \right\}$	"	6.48	0.60
		"	5.52	1.56
		"	4.68	2.40
		"	3.72	3.36

Calcium chloride.

It was thought that the reaction of the extracts could be made neutral by adding CaCl_2 in amount equivalent to the Na_2CO_3 present, when the uricase should be precipitated together with CaCO_3 .

2 g. of uricase (Method II) were extracted with 100 ml. of 0.15% Na_2CO_3 during 48 hr. at 25°, 6.8 ml. of 0.11 M- CaCl_2 were added to 50 ml. of filtrate, the resulting suspension was centrifuged, the precipitate was suspended in 50 ml. of 0.1% Na_2CO_3 , and the activity of the various preparations was determined by incubating 2 ml. of the suspensions or solutions with 10 ml. of 0.084% uric acid, at 37° for 19 hr. The amount of uric acid oxidised was 7.1 mg. by the filtrate, 6.9 mg. by the filtrate + CaCl_2 , 6.7 mg. by the centrifugate, and 0.6 mg. by the extract of the precipitate.

Under the given conditions, CaCl_2 cannot be considered to be a satisfactory precipitant.

Discussion.

The purification of uricase by means of extraction of kidney-powder, followed by precipitation from the extract involves considerable, almost total, loss of activity, with the production

of a final product barely twice as active as the original one; the problem cannot be considered to have been finally solved by any of the methods described, although the most promising method of precipitation would appear to be that using ammonium sulphate. The chief difficulties lie in the extraordinarily great sensitivity of the enzyme towards acids (appreciable inactivation at pH 6.99), towards alkalis (total inactivation at pH > 10), and, to a lesser degree, towards other reagents (alcohol, ether). Since both chemical and physical evidence point to the probability that the enzyme is, if not actually a protein, at least very closely associated with proteins, the problem of purification is essentially one of separating a mixture of proteins. Since, however, each operation involves inactivation of a considerable portion of the enzyme, this mixture is one of changing composition, consisting as it does, of originally inactive impurities, of the inactive products of alkali and acid decomposition of the enzyme, and of the enzyme itself.

Two groups of inactive constituents are removed from the kidney in the initial stages, viz., water-soluble and alcohol-ether soluble constituents. The remaining powder contains about 13.5% of N, and 1% of P, of which roughly half is nucleoprotein P, whilst the remainder is readily split off by 2% NaOH, and enters probably into the composition of some phosphoprotein. The product of extraction and precipitation has the same N content as the original powder, but it has a distinctly higher P content, due chiefly to non-labile P, but also partly to labile P. No very definite relationship was established between uricolytic activity and labile P content, so that the question of the significance of this fraction remains open.

In any case, the properties of uricase could not be explained solely on the assumption that it is a phosphoprotein, since this would not account for its remarkable sensitivity towards acid; indeed, no known chemical grouping behaves in this respect in any way similarly to uricase. The irreversibility of the inactivation suggests that the action of acids is on the chemical structure, rather than on the physical state of the enzyme.

The inactivation of uricase by pancreatic digestion must be considered to be evidence in support of the protein nature of the enzyme. In view of this conclusion, Kleinmann's paper ('34), in which he proposes to apply injections of protein-free uricase solutions to the treatment of uric acid diatheses, becomes somewhat difficult to understand, the more so in that he also found that proteolytic enzymes inactivate uricase. Unfortunately, his paper describes only a number of unsuccessful attempts to obtain protein-free uricase, followed by the announcement that a method was finally discovered, but without giving any information as to this method.

It is not probable that the use of acids other than acetic acid would give better results; possibly CO_2 in some concentration between that of saturation under atmospheric pressure, and that obtained in the „Sparklet” siphon might give slightly smaller inactivation — this possibility requires further investigation. The same applies to precipitation by CaCl_2 , which has been only imperfectly studied. Ammonium sulphate is undoubtedly the best precipitant in so far as the low inactivation involved is concerned, but it is questionable whether its action is selective, i. e., the precipitate obtained probably contains the same impurities as were present in the filtrate.

In conclusion, it might be stated that, whilst no very considerable concentration of the enzyme has been gained by the method of extraction, and precipitation, yet soluble products, 2—8 times as active as the original one, have been obtained. Re-solution of these products affords solutions of any desired concentration; thus a precipitate containing 30% of the activity of 200 ml. of extract may be dissolved to yield 5 ml. of solution which is 14 times as active as was the original filtrate.

Summary.

1°. Progressive addition of acetic acid to solutions of uricase leads to the production of an active precipitate, followed by its redispersion.

2°. The most active precipitates are obtained by adding CH_3COOH to pH 6.99, when about $\frac{1}{3}$ of the total nitrogen of the extracts is in the precipitate, and the remainder in the feebly active solution.

3°. The enzyme is partly inactivated at pH 6.99, and totally at $\text{pH} < 5.8$.

4°. The most active preparation obtained was 8 times as active as the original one; drying with alcohol and ether reduced its activity to twice the original.

5°. The N content of the original kidney powder and of the precipitate obtained from the extract is 13.5%; the P content of the precipitate is higher than that of the original powder.

6°. Approximately half of the P content of the original powder is eliminated by 2% NaOH, pointing to its phosphoproteid character; the labile P content of various preparations is very roughly proportional to their activity.

7°. Inactivation of uricase by alkaline solutions is not paralleled by P elimination.

8°. Soluble uricase is inactivated by digestion with pancreatin.

9°. Ammonium sulphate precipitates uricase from its solutions with comparatively slight inactivation.

10°. CO_2 at atmospheric pressure does not precipitate uricase; under higher pressures it inactivates it.

11°. Addition of CaCl_2 in amount equivalent to the Na_2CO_3 content does not precipitate uricase.

12°. The view is advanced that uricase is a substance of protein nature.

The authors wish to express their gratitude to Dr. D. A s s e n h a j m for performing the phosphorus determinations, and to Prof. St. J. P r z y ł ę c k i for his unfailing help and advice.

References.

- Kleinman. 1934. Bull. Soc. Chim. Biol., 16 (1252). — Needham J. and D. M. 1930. J. Exp. Biol., 7 (317). — Ro. 1931. J. Biochem. Japan., 14 (361). — Truszkowski. 1934. Biochem. J., 28 (64).

[Zakład Fizjologii na Wydziale Lekarskim Uniwersytetu J. Piłsudskiego
w Warszawie].

Kierownik Prof. Dr. Fr. Czubałski.

E. J. Bienka i Cz. Szczepański.

**Skład i właściwości śliny w zależności od charakteru
i siły bodźca.**

*Die Abhängigkeit der Zusammensetzung und der Eigenschaften des
Speichels von der Art und Intensität des Reizes.*

Rękopis nadesłany w dniu 20.XII.1935.

Einleitung.

In der Physiologie der Verdauung spielen eine erhebliche Rolle die von Pawlow und seinen Lehren eingeführten Auffassungen über die Sonderheiten der Reize und der diesen Reizen entsprechenden Verdauungssäfte. Nach Pawlow ist der über die Qualität und Quantität des Saftes entscheidende Faktor nur die Art des fraglichen Reizes. Jedoch haben schon die Versuche von Popielski und Mazurkiewicz Unterschiede in den physikalisch-chemischen Eigenschaften verschiedener Portionen Saft ergeben, welche von der Intensität des Reizes abhängig sind, sowie die dadurch bedingte Beschleunigung der Absonderung in einer Zeiteinheit.

Die neusten Forschungen von Czubałski über Pankreassaft ergaben, dass die Zusammensetzung des BauchspeicheldrüSENSaftes im chemischen Bereich sowie der Verdauungsintensität Schwankungen unterliegt, was jedoch nicht von der Spezifität — also nicht von der Art des Reizes — sondern von seiner Intensität abhängig ist. Die durch die Intensität des Reizes bedingte Schnelligkeit der Absonderung beeinflusst die vorhandenen organischen und mineralen Bestandteile des Saftes, sowie auch seine chemische Reaktion.

Auf Grund einer solchen Auffassung entstand die Frage, ob die von Cz u b a l s k i festgestellte Abhängigkeit bei Pankreassaft ebenfalls auch in bezug auf andere Verdauungssäfte besteht.

Dies war der Ausgangspunkt unseres Aufsatzes über Speichel, welcher durch die chronische Fistel der Ohrspeicheldrüse eines Hundes abgesondert wird; der Zweck vorliegenden Aufsatzes dagegen ist die Feststellung, ob zwischen der Schnelligkeit der Speichelabsonderung — bedingt durch den Charakter und die Intensität des Reizes einerseits — und den physikalisch-chemischen Eigenschaften des Speichels, — ein Abhängigkeitsverhältnis besteht.

Schlüsse.

Bei unseren Untersuchungen über die Absonderungen der Ohrspeicheldrüse, was sich auf die physikalisch-chemischen Veränderungen in den Bestandteilen ihre Absonderungen bezieht, abhängig von der Intensität und Beschaffenheit des Reizes, — erhielten wir folgende Ergebnisse:

1°. Bei der Speichelabsonderung kann man, abhängig von der Intensität des Reizes, unterscheiden: eine anfangs beschleunigte Speichelabsonderung, welche später mit der Verminderung der Intensität des Reizes infolge Verdünnung durch den Speichel oder durch Uebergang der Inhalt in weitere Abschnitte des Verdauungskanals, endlich durch Ausscheidung der Inhalt oder durch Angewohnheit, abnimmt.

2°. Auf die Beschleunigung der Speichelabsonderung wirken am stärksten solche chemische Substanzen wie: Säuren, Basen, weiter pulverisierte Nahrungsmittel (welche mechanisch und chemisch reizen), hierauf verschiedene Sandarten, ferner gewöhnliche Nahrungsmittel — wobei hier die Kohlenhydrate den stärksten Einfluss auf die Absonderung ausüben, — endlich Eiweiss und Milch; in noch schwächerem Masse beeinflussen die Beschleunigung der Speichelabsonderung Extraktionssubstanzen, wie Brühe oder solche wie T-ra Gentianae.

3°. Im schneller abgesonderten Speichel, im Verhältnis zum langsamer abgesonderten, stellen wir eine grössere Menge Chloride und eine Herabsetzung von pH fest; im langsamer abgesonderten Speichel sind die Chloridenmengen kleiner und pH höher. — Also: die Intensität des Reizes, unabhängig von seinem Charakter und die durch die Intensität bedingte Beschleunigung der Speichelabsonderung, wirkt offenbar nicht nur auf die Menge des in einer Zeiteinheit abgesonderten Speichels, sondern auch auf das in ihm enthaltene Salzen und die chemische Reaktion.

4°. Die Anregung eines Tieres zur Speichelabsonderung mit mechanisch wirkenden Mitteln beeinflusst die Beschleunigung der Absonderung im geraden Verhältnis zum Zerkleinerungsgrade der betreffenden Substanz, mit welcher wir auf die Schleimhaut der Mundhöhle einwirken. Die Mengen von Chlorid und pH, abhängig von der Schnelligkeit der Absonderung, gestalten sich hierbei, wie vorhin erwähnt.

5°. Der Vergleich der Schnelligkeit der Speichelabsonderung unter dem Einfluss von chemischen Mitteln, — mit der Schnelligkeit der Speichelabsonderung unter dem Einfluss mechanischer Faktoren, ergibt eine grössere Beschleunigung der Absonderung im ersteren Falle als im zweiten, wenn das Tier sich des Reizes mechanisch (mit der Zunge, den Lippen) entledigen kann.

6°. Der Speichel — nach Anwendung chemischer Reize, welche eine saure Reaktion haben, — besitzt im allgemeinen geringere Werte für Chloride und höhere pH; umgekehrt finden wir höhere Mengen Chloride und geringere pH bei Anwendung von Reizen chemischer Substanzen mit alkalischer Reaktion.

7°. Die Mittel, welche auf die Beschleunigung der Speichelabsonderung auf beiderlei Art — also chemisch und mechanisch gleichzeitig — einwirken, stellen ein grösseres Reizmittel für die Speichelabsonderung dar, als die rein chemischen und rein mechanischen.

Wstęp.

Szkoła Pawłowa na podstawie klasycznych doświadczeń wprowadziła w dziedzinę fizjologii trawienia pojęcie specyficzności podniet i soków trawiennych, odpowiadających owym podnietom. Pod wpływem działania różnych bodźców wydziela się, według Pawłowa, każdorazowo różny sok trawien-ny, a przystosowany pod względem swych własności fizykochemicznych, jak również siły trawiennej, do jak najlepszego za-działania w stosunku do danego bodźca w sensie jego rozkładu i trawienia. Teza Pawłowa, rozciągająca się na wszystkie prawie soki trawienne, traktuje funkcje wydzielnicze jako wy-raz przystosowania każdorazowej czynności gruczołów do po-trzeb organizmu i przyjmuje jako jedyny czynnik decydujący o jakości i ilości soku — rodzaj danej podniety.

Już jednak badania Popielskiego i jego szkoły zachwiały twierdzeniami Pawłowa. W pracy Wł. Mazurkiewicza znajdujemy odnośnie soku trzustkowego stwierdzenie różnic w zawartości części stałych oraz składników organicznych i mineralnych poszczególnych porcyj soku, zależnych nie od rodzaju, lecz od siły bodźca i uwarunko-wanej tem szybkości wydzielania w jednostce czasu. Najnowsze zaś bada-nia Czubalskiego nad sokiem trzustkowym całkowicie potwierdziły słuszność tego poglądu. Czubalski w swej pracy pod tytułem: „Zmia-ny chemizmu, stężenia jonów wodorowych i siły trawiennej soku trzustko-wego, zależne od charakteru i siły bodźca fizjologicznego” dowiódł, że skład i charakter soku trzustkowego ulega wahaniom w zakresie chemizmu i siły trawiennej w zależności nie od specyficzności bodźca, a od jego siły. Uwarunkowana siłą bodźca szybkość wydzielania wpływa na zawartość czę-ści organicznych i mineralnych soku. Zależności te kształtują się przytem w ten sposób, że w soku trzustkowym szybko wydzielanym znajduje się mniej chlorków, a więcej połączeń o typie węglanów względnie dwuwęglan-ów, przyczem pH jest wyższe (8.23—8.64). W soku natomiast wolno wy-dzielanym ilości chlorków są większe, połączeń kwasu węglowego jest mniej i pH zbliża się bardziej do oddziaływania obojętnego (7.06—8.45). Równocześnie Czubalski wykazał, że sok trzustkowy, zawierający więk-sze ilości chlorków, odznacza się znaczniejszą siłą trawienną w stosunku do białka i węglowodanów. W późniejszej jeszcze pracy Czubalskiego i Zawadzkiego ('34), p. t.: „Wpływ stężenia jonów chlorowych, jon-ów wodorowych i fermentów na siłę trawienną soku trzustkowego” — znaj-dujemy wyjaśnienie, że „zmiennosc siły trawiennej soku trzustkowego o różnej szybkości wydzielania zależy przede wszystkim od niejednakowej

koncentracji fermentów w tych sokach. Sok, szybko się wydzielający, z małą zawartością chlorków i części stałych, bardziej alkaliczny, trawi słabiej, gdyż jest bardziej rozcieńczony także pod względem fermentów, i odwrotnie”.

Wobec takiego postawienia kwestji nasuwało się pytanie, czy stwierdzone przez Czubalskiego zależności dla soku trzustkowego istnieją również w odniesieniu do innych soków trawiennych. To było punktem wyjścia naszej pracy nad śliną, wydzielaną przez gruczoł przyuszny. Celem zaś pracy niniejszej było stwierdzenie, czy istnieje zależność między szybkością wydzielania się śliny, uwarunkowaną charakterem i natężeniem bodźca, a jej właściwościami fizyczno-chemicznymi.

Metodyka i bieg doświadczeń.

Doświadczenia w liczbie 53 przeprowadziliśmy na psie z chroniczną przetoką prawego przewodu ślinianki przyusznej, zoperowanego metodą Pawłowa. Kilka zaś doświadczeń przeprowadziliśmy na ślinie ludzkiej. Ślinę z przetoki od naszego psa doświadczalnego pobieraliśmy zapomocą specjalnie dostosowanego lejka, który przyklepaliśmy do skóry w otoczeniu przetoki przewodu ślinowego, po jej uprzednim ogoleniu i oczyszczeniu wodą i eterem, zapomocą kleju o składzie: kalafonji 4 części, minji $1\frac{3}{5}$ cz., wosku żółtego 1 cz. plus kilka kropel oleju lnianego. Wypływającą z lejka ślinę chwytałyśmy do czystego naczynka z podziałką. Żeby przytem ślina nie ulegała zanieczyszczeniu lub nie następowała utrata dwutlenku węgla, łączyliśmy lejek z naczynkiem do zbierania śliny zapomocą kauczukowej rurki. Stosując bodźce pokarmowe, jak białka, węglowodany, tłuszcze oraz substancje wyciągowe i ciała chemiczne, a także bodźce czysto mechaniczne, pobieraliśmy przy działaniu każdej podniety dwie frakcje śliny: frakcje szybko i wolno wydzielanej śliny do dwóch odrębnych naczyń. Jako przejście od frakcji szybkiej do wolnej przyjęliśmy moment, w którym wydzielanie śliny, początkowo w postaci strumienia lub kropel, przechodzi w wydzielanie powolne, prawie nieuchwytnie wzrokiem. Każdorazowo notowaliśmy czas pobierania frakcji szybkiej i wolnej. W zakresie jednego bodźca przeprowadzaliśmy kilkakrotnie drażnienie w pewnych odstępach czasu dla uzyskania ilości śliny, niezbędnej do wykonania badań. Rozdział śliny na frakcję szybką i wolną przyjęliśmy, wychodząc z następującego założenia: bodziec działa najsilniej w chwili jego bezpośredniego zetknięcia się ze śluzówką jamy ustnej i wywołuje wydzielanie śliny o największej szybkości, czego wyrazem jest właśnie frakcja szybka śliny. Z chwilą, gdy tenże bodziec spowoduje rozcieńczenia śliną, czy przesuwania treści do dalszych odcinków przewodu pokarmowego, czy wydalania nazewnątrz lub przyzwyczajenia — traci na sile swego działania i pozostawia wrażenia smakowe,

których natężenie słabnie w miarę dalszego procesu wydzielniczego, zmniejsza się, odpowiednio do malejącego natężenia bodźca, szybkość wydzielania śliny i otrzymujemy frakcję wolną.

Ślinę ludzką do badań otrzymywaliśmy jako ślinę mieszaną z jamy ustnej bez wszelkich podnieć, ewentualnie przy drażnieniu pośrednim przez wdychanie kwasu octowego. Ślina ta nie była całkowicie czysta, choć jamę ustną przed jej pobieraniem dokładnie płukano, ale dla tych pomiarów, które wykonywaliśmy ze śliną ludzką, wystarczała.

W tak uzyskanych porcjach śliny zwracaliśmy uwagę na stosunek składników mineralnych, stężenie jonów wodorowych oraz siłę trawienną śliny w stosunku do szybkości wydzielania i rodzaju bodźca. Celem określenia ilości chlorków używaliśmy metodę Whitehorn'a, dla oznaczenia pH — metodę elektrometryczną w modyfikacji Michaelis'a, a dla wykazania siły trawiennej ptaliny metodę Wohlgemuth'a.

Oznaczenie chlorków podług Whitehorn'a.

Wykonanie: 1. Pipetą wziąć 1 cm³ badanej (wolnej od protein) cieczy. Dodać 5 cm³ AgNO₃ i dobrze skłócić. Dodać następnie 5 cm³ stęż. HNO₃ i po silnym skłóceniu pozostawić w spokoju na 5 minut. Następuje reakcja podwójnej wymiany, strąca się AgCl.

2. Do otrzymanej mieszaniny dodaje się ok. 0.3 g. FeNH₄(SO₄)₂ i miareczkuje nadmiar AgNO₃ M/35.46 roztworem KCNS aż do chwili trwałego zabarwienia, pozostającego 15 sek.

Obliczenie: Ilość cm³ AgNO₃ mniej ilość cm³ KCNS daje ilość mg Cl.

Odczynniki: 1. Azotan srebra M/35.46:4.791 g AgNO₃ w 1 lit. wody.
2. Rodanek potasu KCNS M/35.46 : ok. 3 g KCNS w 1 lit. wody.

Metoda Wohlgemuth'a.

Zapomocą tej metody oznaczamy ilość cm³ roztworu skrobi 1%, strawionej w przeciągu oznaczonego czasu przez dany roztwór fermentu do achrodekstryny.

Sposób wykonania. Sporządzamy w 12 (komplet) próbkach wzrastający ilościowo roztwór fermentu w sposób następujący: nalewamy, począwszy od drugiej do XII próbki po 1 cm³ wody dest., następnie do pierwszej i drugiej próbki dolewamy po 1 cm³ badanej cieczy. Zawartość drugiej próbki (1 cm³ wody dest. i 1 cm³ badanego płynu) mieszamy dokładnie i pobieramy z niej 1 cm³ płynu, przelewamy do 3-ciej próbki, mieszamy, pobieramy 1 cm³, przelewamy do 4-tej próbki, mieszamy, pobieramy 1 cm³ płynu, przelewamy do 5-tej i t. d. aż dojdziemy w ten sposób do próbki XII-tej; z tej również pobieramy 1 cm³ płynu, który dla nas jest bezużyteczny.

W ten sposób otrzymamy w każdej następnej próbce o połowę mniejszą ilość badanego płynu, niż w poprzedniej (a tem samem i zawar-

tych w nim fermentów). Jednakowa ilość (1 cm³) płynu umożliwi nam przekonanie się, że nie popełniliśmy błędu.

Dokładnie w każdej próbówce mamy następujące ilości badanego płynu: I — 1 cm³; II — 0.5 cm³; III — 0.25 cm³; IV — 0.125 cm³; V — 0.0625 cm³; VI — 0.03125 cm³; VII — 0.015625 cm³; VIII — 0.078125 cm³; IX — 0.003906 cm³; X — 0.00195 cm³; XI — 0.000975 cm³; XII — 0.0004875 cm³.

Do każdej próbówki dolewamy po 5 cm³ 1%-owego roztworu skrobi (amylum solubile) i wstawiamy na pół godziny do termostatu o temperaturze 38° C. Po upływie tego czasu wyjmujemy próbówki z termostatu i dolewamy do każdej 1%-ego płynu Lugola.

Stwierdzamy, że, idąc od próbówki ostatniej do pierwszej, mamy przejście zabarwienia ciemno-fioletowego (zależnego od skrobi niestrawionej) poprzez czerwono-brunatne (zależnego od dekstryn) w zabarwienie, zależne od barwy samego płynu Lugola.

Wartość trawienną amylazy przeliczamy z próbówki, w której nastąpiło jeszcze strawienie 5 cm³ 1%-owego roztworu skrobi do achrodekstryn. Na próbówkę tę wskazuje raptowna zmiana zabarwienia fioletowego na czerwono-brunatne. Przypuścimy, że otrzymaliśmy zmianę zabarwienia w VIII-iej próbówce, wówczas zdolność trawienną amylazy przeliczamy z tejże próbówki. W próbówce tej mieliśmy 0.0079 cm³ badanego płynu. W celu obliczenia siły trawiennej amylazy, zawartej w 1 cm³ danego płynu, układamy następującą proporcję:

$$0.0079 : 5 \text{ (ilość 1\%-owej skrobi)} = 1 : x$$

$$x = \frac{5}{0.0079} = 633 \text{ cm}^3 \text{ 1\%-ego roztworu skrobi,}$$

to znaczy, że 1 cm³ badanego płynu w danej porcji jest w stanie strawić 633 cm³ 1%-ego roztworu skrobi, czyli $633 \times 0.01 = 6.33$ g.

O z n a c z a n i e p H.

Metoda elektrometrycznego oznaczania pH opiera się na mierzeniu potencjału, występującego na powierzchni zetknięcia wodoru, zawierającego wolne jony wodorowe i wodoru w postaci atomów obojętnych. Określenie opiera się na obliczeniu siły elektromotorycznej ogniwa gazowego według znanego wzoru. Obliczenie to dokonywa się metodą kompensacyjną Poggendorffa, uwzględniającą istnienie dwóch obwodów prądu: obwodu głównego i bocznego. Z chwilą skompensowania obwodów oblicza się siłę elektromotoryczną w woltach z ilości omów, użytych do skompensowania obwodów. Do pomiarów używaliśmy U-elektrody Michaelisa.

Blizsze szczegóły obliczania pH powyższą metodą można znaleźć w podręcznikach Michaelisa, Mislowitzera, Kordatzkiefego i innych.

Wszystkie doświadczenia wykonaliśmy w pokoju możliwie izolowanym, przyczem pies przed każdorazowym doświadczeniem był pozostawiony naczem już od wieczornego posiłku z dnia poprzedniego. To nam umożliwiło jednakowe warunki pracy i przez to uniknięcie możliwych błędów.

W y n i k i b a d a ń.

Spowodu dużej liczby doświadczeń nie możemy przytaczać w całości protokółów z przebiegu tych doświadczeń i musimy się ograniczyć do wykazania wyników, zebranych na podstawie owych badań. Poza tem przytaczamy tabele, w których zebraliśmy dane, uzyskane po stosowaniu specjalnych bodźców bądź też opracowane na podstawie charakterystycznych wyników doświadczeń.

Przystępując do pracy, przedewszystkiem musieliśmy zdać sobie sprawę z rodzaju śliny, którą nasz pies doświadczalny wydzieliał w normie: a więc naczczo i bez wszelkiego drażnienia. W takiej, pobieranej co pewien czas, ślinie określaliśmy wszystkie te charakterystyczne dla nas wielkości, z którymi następnie mogliśmy porównywać wyniki, otrzymane w poszczególnych doświadczeniach.

Tabela I przedstawia w chronologicznym porządku wyniki doświadczeń. W tabeli II zebrane są średnie wyniki szybkości wydzielania według siły bodźca, a w tabeli III zestawione są największe szybkości wydzielania przy stosowaniu danego bodźca z uwzględnieniem ilości chlorków i pH. Tabela IV oraz tabela V wykazują skojarzone działanie mechaniczno - chemiczne danego bodźca na wydzielanie śliny, przyczem tabela IV zestawiona jest na podstawie otrzymanych najwyższych wyników po zastosowaniu danego bodźca, a więc podobnie jak tabela III, natomiast tabela V ułożona jest według średnich wyników, otrzymanych po zastosowaniu danego bodźca, zatem podobnie jak tabela II. Wreszcie w tabeli VI mamy porównanie wpływu bodźca mechaniczno-chemicznego na szybkość wydzielania śliny pod wpływem podnień czysto chemicznych lub czysto mechanicznych, odpowiadających danym bodźcom mechaniczno-chemicznym.

D y s k u s j a.

Przeglądając wyniki naszych doświadczeń, które teraz kolejno będziemy omawiać, spostrzegamy, że niezawsze otrzymaliśmy przy drażnieniu psa celem wydzielania śliny jednakowo szybki jej wpływ oraz jednakową ogólną jej ilość. Jeżeli prze-

Tabela I.

Data	Podnieta	Szybkość wydzielenia w cm ³ /5'	Ilość chlorków w mg na 100 cm ³	pH	Amylaza Amylase	Uwagi
Datum	Anreger	Sekretionsgeschwindigkeit in ccm/5'	Chloridmenge in mg in 100 ccm			Bemerkung
29.III.33	Norma	0.05	204	7.95	—	Waga psa Gewicht des Hundes 28,5 kg
30.III.33	2% CH ₃ COOH	a) 5.8 b) 0.41	270.48 227.85	8.05 8.16	—	
21.IV.33	10% cukier trzcinowy 10% Rohrzucker	a) 0.92 b) 0.2	297.92 284.2	8.19 8.24	—	
24.IV.33	T-ra Gentianae 5,0/100,0	a) 1.4 b) 0.17	291.06 216.58	7.89 8.03	—	
26.IV.33	Piasek Sand	a) 1.7 b) 0.24	294.6 274.4	8.19 8.24	—	
1.V.33	0.25% NaOH	a) 1.8 b) 0.28	327.32 287.32	7.86 8.05	—	
2.V.33	10% NaHCO ₃	a) 2.8 b) 0.35	332.22 296.94	7.95 8.11	—	
6.V.33	Norma	0.1	244.02	7.92	—	
8.V.33	Norma	0.44	213.64	—	—	Waga psa Gewicht des Hundes 28,5 kg
11.V.33	Norma	0.23	252.84	—	—	
16.V.33	Chleb razowy Schwarzbrot	a) 2.45 b) 0.5	297.92 272.64	8.103 8.189	—	
18.V.33	Chleb biały Weisbrot	a) 4.75 b) 0.3	266.56 258.72	8.07 8.197	—	
22.V.33	Mleko Milch	a) 2.17 b) 0.26	275.38 264.6	7.99 8.11	—	
23.V.33	Proszek mięsny Pulverfleisch	a) 6.92 b) 0.56	276.36 250.14	8.12 8.22	—	
30.V.33	Mięso gotowane Ausgekochtes Fleisch	a) 2.81 b) 0.5	270.48 196.05	8.149 8.198	—	
1.VI.33	10% śmietanka 10% Sahne	a) 4.2 b) 0.37	291.6 238	8.189 8.207	—	
7.VI.33	Rosół Brühe	a) 3.65 b) 0.49	279.3 245	7.80 7.90	—	
20.VI.33	1% CH ₃ COOH	a) 8.5 b) 0.75	275 209	7.85 7.95	—	
20.VI.33	4% CH ₃ COOH	a) 16 b) 1.5	200 180	8.004 8.098	—	
22.VI.33	0.5% NaOH	a) 12 b) 1.0	280 175	7.94 8.04	—	
28.VI.33	0.5% HCl	a) 14 b) 1.5	275 160	7.97 8.0	—	
28.VI.33	1% HCl	a) 15 b) 1.5	255 213	7.92 8.013	—	
30.VI.33	10% NaCl	a) 6.6 b) 0.7	268 235	7.85 7.87	—	

a) Ślina szybko
wydzielana
si, hnetl abgeseonderte
Speichel
b) Ślina wolno
wydzielana
Langsam abgeseonderte
Speichel

Data	Podnięta	Szybkość wydzielenia w cm ³ /5'	Ilość chlorowców w mg na 100 cm ³	pH	Amylaza Amylase	Uwagi
Datum	Anreger	Sekretion Schnelligkeit in cm ³ /5'	Chloriden menge in mg in 100 cm ³			Bemerkung
30.VI.33	15% NaCl	a) 9.6 b) 0.9	250 220	7.82 7.92	—	
3.II.34	Chleb czarny <i>Schwarzbröt</i>	a) 4.0 b) 0.58	400 350	8.101 8.28	—	Waga psa Gewicht des Hundes 28.5 kg
3.II.34	Chleb biały <i>Weissbröt</i>	a) 6.75 b) 0.68	405 385	6.86 8.18	—	
6.II.34	Piasek <i>Sand</i>	a) 2.5 b) 0.37	410 385	8.07 8.17	—	
6.II.34	10% cukier trzcinowy <i>10% Rohrzucker</i>	a) 3.16 b) 0.13	400 389	8.23 8.16	—	
19.V.34	10% śmietanka <i>10% Sahne</i>	a) 5.0 b) 2.5	410 330	8.11 8.21	—	
19.V.34	Chleb biały <i>Weissbröt</i>	a) 7.5 b) 2.5	422 375	8.05 8.15	—	
29.V.34	Chleb czarny <i>Schwarzbröt</i>	a) 8.5 b) 0.73	441 404	7.89 7.96	—	
29.V.34	Mięso gotowane <i>Ausgekochtes Fleisch</i>	a) 4.9 b) 0.45	399 390	7.9 8.01	—	
30.V.34	2% CH ₃ COOH	a) 9.2 b) 1.3	421 414	7.82 7.93	—	
30.V.34	0.25% NaOH	a) 7.8 b) 0.9	412 405	7.91 8.01	—	
10.IX.34	Piasek <i>Sand</i>	a) 3.95 b) 0.38	435 410	7.32 7.40	—	
10.IX.34	Proszek z bułki <i>Geriebene Semmel</i>	a) 8.6 b) 1.2	416 390	7.7 7.81	—	
13.IX.34	Piasek <i>Sand</i>	a) 7.25 b) 0.59	422 384	7.28 7.45	—	
13.IX.34	Proszek mięsny <i>Pulverfleisch</i>	a) 11.5 b) 1.5	407 380	7.8 7.86	—	
14.IX.34	Piasek najdrobniejszy <i>Winzig kleiner Sand</i>	a) 7.25 b) 1.0	425 411	7.54 7.68	—	
14.IX.34	Żwir <i>Kies</i>	a) 5.15 b) 0.6	420 390	7.59 7.82	—	
15.IX.34	Norma <i>Norm</i>	0.45	395	8.17	—	
27.IX.34	Świeże mięso <i>Frisches Fleisch</i>	a) 5.22 b) 1.13	394 391	7.24 7.51	—	
27.IX.34	Mięso gotowane <i>Ausgekochtes Fleisch</i>	a) 3.92 b) 0.74	387 384	7.62 7.66	—	
27.IX.34	Rosół z mięsa wygot. <i>Brühe aus dem ausgekochtem Fleisch</i>	a) 3.28 b) 0.42	385 381	7.94 8.01	—	
29.IX.34	Chleb biały <i>Weissbröt</i>	a) 8.2 b) 1.22	388 381	7.73 7.98	—	
29.IX.34	Piasek <i>Sand</i>	a) 4.1 b) 0.32	384 378	7.99 8.02	—	Waga psa Gewicht des Hundes 28.6 kg
29.IX.34	Chleb biały + piasek <i>Weissbröt + Sand</i>	a) 9.3 b) 1.44	397 389	7.67 7.72	—	

Tabela II.

Średnie wyniki szybkości wydzielania według siły bodźca.

Die Durchschnittsergebnisse der Sekretionschnelligkeit in Anbetracht auf die Stärke des Anregers.

Podnieta	Przeciętna szybkość wydziela. w $\text{cm}^3/5'$		Podnieta	Przeciętna szybkość wydziela. w $\text{cm}^3/5'$	
	Durchschnitts-speichelsekretion-schnelligkeit in $\text{cm}^3/5'$			Durchschnitts-speichelsekretion-schnelligkeit in $\text{cm}^3/5'$	
Anregger	Szybkie wydzielanie	Wolne wydzielanie	Anregger	Szybkie wydzielanie	Wolne wydzielanie
	Schnelle Sekretion	Langsame Sekretion		Schnelle Sekretion	Langsame Sekretion
4% CH_3COOH	16	1.5	0.25% NaOH	5.58	0.55
1% HCl	15	1.5	Świeże mięso	5.22	1.13
0.5% HCl	14	1.5	Frisches Fleisch		
0.5% NaOH	12	1	Żwir	5.15	0.6
15% NaCl	9.6	0.9	Kies		
Proszek mięsny			Chleb czarny	4.98	0.61
Pulverfleisch	9.21	1.065	Schwarzbrot		
Proszek z bułki			10% śmietanka	4.6	1.43
Geriebene Semmel	8.6	1.2	10% Sahne		
1% CH_3COOH	8.5	0.75	Mięso gotowane	3.85	0.47
2% $\text{CH}_3\text{COO.I}$	7.5	0.85	Ausgekochtes Fleisch		
Piasek najdrobniejszy			Piasek	3.84	0.42
Winsig kleiner Sand	7.25	1	Sand		
Chleb biały			Rosół	3.77	0.41
Weissbrot	7.14	1.04	Brühe		
10% NaCl	6.6	0.7	10% NaHCO_3	2.8	0.35
			Mleko	2.17	0.26
			Milch		
			Rosół z kaszą	1.9	0.23
			Brühe mit Grütze		
			10% cukier trzcinowy	1.64	0.16
			10% Rohrzucker		
			T-ra Gentianae	1.4	0.17

ciętnie w normie pies wydzielał w naszych doświadczeniach ślinę z szybkością 0.25 cm^3 na 5 minut, to w poszczególnych przypadkach określania szybkości wydzielania śliny przy drażnieniu różnymi bodźcami otrzymywaliśmy wyniki różne, jak np. wskazuje to załączona tabela A. Różnice więc w działaniu poszczególnych bodźców są wyraźne. Zarówno z danych tabeli A, jak i z tabel ogólnych I, II i III, widzimy, że najszybciej wydziela się ślina pod wpływem kwasów i zasad, słabiej działają sproszkowane pokarmy—drażniące w sposób złożony: mechanicznie i chemicznie —

Tabela III.

Największa szybkość wydzielania przy stosowaniu danego bodźca z uwzględnieniem ilości chlorków i pH.

Die grösste Sekretionschnelligkeit bei der Anwendung eines Anregers, jedoch mit der Berücksichtigung auf die Chloridenmenge und pH.

Podnieta Anregger	Szybkość wydzielania w $\text{cm}^3/5'$ Sekretionschnelligkeit in $\text{ccm}/5'$		Ilość chlorków w mg na 100 cm^3 Chloridenmenge in mg in 100 ccm		pH	
	Szybkie wydzielanie Schnelle Sekretion	Wolne wydzielanie Langsame Sekretion	Szybkie wydzielanie Schnelle Sekretion	Wolne wydzielanie Langsame Sekretion	Szybkie wydzielanie Schnelle Sekretion	Wolne wydzielanie Langsame Sekretion
4% CH_3COOH	16	1.5	200	180	8.041	8.098
1% HCl	15	1.5	255	213	7.92	8.013
0.5% HCl	14	1.5	275	160	7.97	8.0
0.25% NaOH	12	1	280	175	7.94	8.04
Proszek mięsny <i>Putverfleisch</i>	11.5	1.55	407	380	7.807	7.86
Chleb biały <i>Weissbrot</i>	10	0.7	259	243	8.06	8.1
15% NaCl	9.6	0.8	250	220	7.82	7.91
2% CH_3COOH	9.2	1.3	421	414	7.82	7.93
Proszek z bułki <i>Geriebene Semmel</i>	8.6	1.2	416	390	7.704	7.71
1% CH_3COOH	8.5	0.73	441	404	7.89	7.96
Chleb czarny <i>Schwarzbrot</i>	8.5	0.75	275	209	7.85	7.95
0.25 NaOH	8.42	0.62	294	193	8.19	8.44
Piasek najdrobniejszy <i>Winzig kleiner Sand</i>	7.25	1	425	411	7.54	7.68
Piasek <i>Sand</i>	7.25	0.59	422	384	7.28	7.45
10% NaCl	6.6	0.7	268	235	7.85	7.87
Świeże mięso <i>Frisches Fleisch</i>	5.22	1.13	394	391	7.42	7.51
Żwir <i>Kies</i>	5.15	0.6	420	390	7.59	7.82
10% śmietanka <i>10% Sahne</i>	5	2.5	410	330	8.1	8.21
Mięso gotowane <i>Ausgekochtes Fleisch</i>	4.9	0.45	399	390	7.9	8.01
Rosół <i>Brühe</i>	3.8	0.35	279	245	7.84	7.9
10% cukier trzcinowy <i>10% Rohrzucker</i>	3.16	0.13	400	289	8.23	8.16
10% NaHCO_3	2.8	0.35	332	296	7.95	8.11
Mleko <i>Milch</i>	2.17	0.26	275	264	7.99	8.11
Rosół z kaszą <i>Brühe mit Grütze</i>	1.9	0.23	250	205	8.24	8.29
T-ra Gentianae	1.4	0.17	294	274.4	8.19	8.24

Tabela IV.

Podniety, działające w sposób złożony: mechanicznie i chemicznie. Siła działania, jak w tab. III.

Anreger, die einen Einfluss in zusammengesetzter Weise haben; also mechanisch und chemisch sind. Die Wirkungskraft nach Tab. III.

Podnieta	Szybkość wydzielenia w $\text{cm}^3/5'$ Sekretionschnelligkeit in $\text{ccm}/5'$		Ilość chlorków w mg na 100 cm^3 Chloridenmenge in mg in 100 ccm		pH	
	Szybkie wydzielenie Schnelle Sekretion	Wolne wydzielenie Langsame Sekretion	Szybkie wydzielenie Schnelle Sekretion	Wolne wydzielenie Langsame Sekretion	Szybkie wydzielenie Schnelle Sekretion	Wolne wydzielenie Langsame Sekretion
Proszek mięsny Pulverfleisch	11.5	1.5	407	380	7.807	7.86
Chleb biały Weissbrot	10	0.7	259	243	8.06	8.1
Proszek z bułki Geriebene Semmel	8.6	1.2	416	390	7.704	7.712
Chleb czarny Schwarzbrot	8.5	0.73	441	404	7.89	7.96
Mięso gotowane Ausgekochtes Fleisch	4.9	0.45	399	390	7.9	8.01
Rosół z kaszą Brühe mit Grütze	1.9	0.23	250	205	8.24	8.29

Tabela V.

Szybkość wydzielenia pod wpływem podniety mechaniczno-chemicznych. Siła działania według tab. II.

Die Sekretionschnelligkeit unter dem Einfluss mechanisch-chemischer Anreger. Die Wirkungskraft nach Tab. II.

Podnieta	Szybkość wydzielenia w $\text{cm}^3/5'$ Sekretionschnelligkeit in $\text{ccm}/5'$	
	Szybkie wydzielenie Schnelle Sekretion	Wolne wydzielenie Langsame Sekretion
Proszek mięsny Pulverfleisch	9.21	1.065
Proszek z bułki Geriebene Semmel	8.6	1.2
Chleb biały Weissbrot	7.14	1.045
Chleb czarny Schwarzbrot	4.98	0.61
Mięso gotowane Ausgekochtes Fleisch	3.85	0.475
Rosół z kaszą Brühe mit Grütze	1.9	0.235

Tabela VI.

Podniety, działające w sposób złożony: mechaniczno-chemicznie oraz odpowiadające im podniety, działające tylko chemicznie lub mechanicznie. Siła bodźca jak w tab. II.

Anreger, die einen Einfluss in zusammengesetzter Weise haben; also mechanisch-chemische sind und deren entsprechende Anreger, die nur chemischen oder mechanischen Einfluss ausüben.

Podnieta	Szybkość wydzielenia w $\text{cm}^3/5'$ Sekretionschnelligkeit in $\text{ccm}/5'$	
	Szybkie wydzielenie Schnelle Sekretion	Wolne wydzielenie Langsame Sekretion
Proszek mięsny Pulverfleisch	9.21	1.065
Proszek z bułki Geriebene Semmel	8.6	1.2
Piasek najdrobniejszy Winzig kleiner Sand	7.25	1
Chleb biały Weissbrot	7.14	1.045
Żwir Kies	5.15	0.6
Chleb czarny Schwarzbrot	4.98	0.61
Mięso gotowane Ausgekochtes Fleisch	3.85	0.47
Piasek Sand	3.85	0.421

Tabela A.

Podnieta — A n r e g e r	Szybkie wydzielanie śliny w cm ³ w ciągu 5 min. <i>Schnelle Speichelsekretion in cm³/5'</i>	Wolne wydzielanie śliny w cm ³ w ciągu 5 min. <i>Langsame Speichelsekretion in cm³/5'</i>
4% CH ₃ COOH	16	1,5
1% NCl	15	1,5
0,5% NaOH	12	1,0
Proszek mięsny — <i>Fleischpulver</i>	11,5	1,55
Chleb biały — <i>Weissbrot</i>	10,0	0,7
Bułka sproszkowana — <i>Geriebene Semmel</i>	8,6	1,2
Chleb czarny — <i>Schwarzbröt</i>	8,5	0,75
Piasek najdrobniejszy — <i>Winzig kleiner Sand</i>	7,25	1,0
Piasek — <i>Sand</i>	7,25	0,6
Mięso surowe — <i>Frishes Fleisch</i>	5,22	1,13
Żwir — <i>Kies</i>	5,15	0,6
Mięso gotowane — <i>Ausgekochtes Fleisch</i>	4,9	0,45
Rosół — <i>Brühe</i>	3,8	0,35
10% rozc. cukru trzcin. — 10% <i>Rohrzucker</i>	3,16	0,13
Mleko — <i>Milch</i>	2,17	0,26
T-ra <i>Gentianae</i>	1,4	0,17

jeszcze słabiej działa piasek, poczem skolei pokarmy zwykłe, i tu najsilniej wpływają na wydzielanie śliny węglowodany (chleb), następnie białka (mięso) i wkońcu mleko; nieco słabiej od pokarmów stałych wpływają na wydzielanie śliny ciała wyciągowe, jak rosół, potem rozczyiny cukru, czy też wreszcie takie ciała, jak Tinc. *Gentianae*. Kwasy i zasady są, jak wiadomo, tak silnym bodźcem dla wydzielania śliny niewątpliwie dlatego, że mamy w nich do czynienia z wolnymi jonami H⁺ i OH⁻, które, jako chemicznie czynne, wybitnie podrażniają śluzówkę jamy ustnej. Silniejsze zaś pobudzanie jonu H⁺ tłumaczyłoby się może większą wrażliwością powierzchni czuciowej jamy ustnej na bodźce kwaśne, jako częściej spotykane w pokarmach. Wybitnie intensywne wydzielanie śliny pod wpływem kwasu octowego, który jest przecież słabym kwasem, tłumaczy się zapewne tem, że jest on, jak wykazują pewne dane, kwaśniejszy na smak, niż np. HCl. Wynika to być może ze zdolności przenikania niezdysojowanych cząsteczek słabych kwasów wgłąb komórek, gdzie dopiero następuje rozpad na wolne jony, które wówczas wywierają swoje działanie. W tem więc ujęciu możnaby mówić o przedłużeniu okresu działania kwasu słabego w porównaniu z kwasem silnym. Do wzmożenia działania kwasu octowego na wydzielanie śliny

przyczynia się również wpływ jego na błonę śluzową nosa, przez co zsumowanie podrażnienia bezpośredniego na śluzówkę jamy ustnej i pośredniego na błonę śluzową jamy nosowej daje w efekcie obfitsze wydzielanie śliny. Substancje zaś, nie działające zupełnie przy pomocy wolnych jonów, a tylko w sposób czysto mechaniczny (piasek, żwir), dają wydzielanie śliny powolniejsze i krócej trwające. W jaki sposób te substancje wpływają na wydzielanie śliny, widać z przytoczonej tab. A. Ilustruje ona nam zjawisko wolniejszego wydzielania się śliny wówczas, gdy zapotrzebowanie na nią jest mniejsze, a więc kiedy zwierzę może usuwać daną substancję, działającą jako bodziec, zapomocą ruchów języka, czy warg; szybsze zaś i obfitsze, kiedy te czynniki przy większym rozdrobnieniu danej substancji nie mogą odgrywać wybitniejszej roli. Wskazuje to, że szybkość wydzielania śliny przy drażnieniu mechanicznem jest wprost proporcjonalna do stopnia rozdrobnienia danego bodźca mechanicznego, co zresztą stwierdziła już szkoła P a w ł o w a.

Wpływ pokarmów na szybkość wydzielania śliny jest uzależniony od różnorodnych czynników. Wchodzą tu niewątpliwie w grę smak i właściwości chemiczne danego pokarmu oraz jego konsystencja i stan rozdrobnienia. W każdym bądź razie znamienny jest słaby wpływ ciał takich, jak rosół lub goryczka na wydzielanie śliny. Jak wiadomo, pobudzają one silnie wydzielanie soku żołądkowego, lecz wpływ ich pobudzający na wydzielanie śliny jest słaby. W naszych doświadczeniach stwierdzaliśmy przytem jako moment charakterystyczny, że mięso surowe lub też gotowane, jak to wskazuje tab. A, silniej działało na szybkość i ilość wydzielonej śliny, niż rosół. A więc odgrywa tu niewątpliwie znaczną rolę jeszcze czynnik mechanicznego podrażnienia śluzówki jamy ustnej.

Wszystkie powyższe wywody dotyczą jedynie wpływu różnego rodzaju bodźców na szybkość wydzielania oraz ilość wydzielonej śliny. Teraz przejdziemy do najbardziej nas interesującej kwestji, ze względu na wyniki prac Cz u b a l s k i e g o nad sokiem trzustkowym, — wpływu siły bodźca na zmiany ilościowe niektórych składników nieorganicznych śliny (chlorki) oraz na jej oddziaływanie. Jak to już stwierdził w swej pracy Cz u b a l s k i w odniesieniu do soku trzustkowego, a co my

również zauważyliśmy w ślinie, ilość chlorków w ślinie normalnie waha się w dość znacznych granicach (160 — 441 mg w 100 cm³). Ten tak zmienny wyjściowy poziom chlorków jest niewątpliwie wyrazem pewnych przesunięć w ilości rezerw chłorowych krwi lub całego ustroju w każdym poszczególnym badanym przypadku. Na poziom chlorków we krwi może między innymi przyczynami wpływać praca gruczołów przewodu pokarmowego, a przede wszystkim gruczołów żołądkowych i związana z tem produkcja kwasu solnego. W tych warunkach doszukiwaliśmy się zmian w ilości chlorków w ślinie, wywołanych działaniem różnych bodźców, drogą porównania zawartości chlorków w porcjach śliny szybko i wolno wydzielanej, uzyskanej po zadrażnieniu danym bodźcem. Interesujące bowiem nas zagadnienie dotyczyło zmian chemicznych śliny w każdym doświadczeniu, niezależnie od charakteru chemicznego czy fizycznego bodźca, a uzależnionych jedynie od siły tego bodźca i wywołanej przez niego różnicy szybkości wydzielania w dwóch kolejnych porcjach. Ślina, wydzielana w naszych doświadczeniach, zawierała pod wpływem stosowanego w danym przypadku bodźca i to bez względu na jego rodzaj, różne ilości chlorków zależnie od szybkości, z jaką się ta ślina wydzielala. Przy uwzględnieniu tego sposobu patrzenia na nasze doświadczenia jasno przedstawia się zależność od siły bodźca, bez względu na jego charakter, ilości chlorków w wydzielonej w danym doświadczeniu i danego dnia ślinie. Załączona tabela B ilustruje te stosunki.

Przedmiotem naszych badań, jak już wspomniano wyżej, były również zmiany w oddziaływaniu śliny, zależne od siły bodźca i związanej z nim szybkości wydzielania się śliny. W badaniach tych zauważyliśmy również pewną prawidłowość w odniesieniu do zmian w oddziaływaniu śliny, które pozostawały w stałym stosunku do szybkości wydzielania się śliny. Zależności te kształtowały się w ten sposób, że w ślinie szybciej wydzielanej oddziaływanie jej przesunalo się w kierunku zakwaszenia, podczas gdy w ślinie wolniej wydzielanej oddziaływanie stawało się bardziej zasadowe. Zależności te ilustruje przytoczona wyżej tab. B.

Tabela B.

Podniecia Anreger	Szybkość wydziela- nia w cm ³ w ciągu 5' <i>Sekretionschnelligkeit in cem 5'</i>		Ilość chlorków w mg w 100 cm ³ <i>Chloridenmenge in mg in 100 cem</i>		pH	
	Szybkie wydziela- nie <i>Schnelle Sekretion</i>	Wolne wydziela- nie <i>Langsame Sekretion</i>	Szybkie wydziela- nie <i>Schnelle Sekretion</i>	Wolne wydziela- nie <i>Langsame Sekretion</i>	Szybkie wydziela- nie <i>Schnelle Sekretion</i>	Wolne wydziela- nie <i>Langsame Sekretion</i>
	4% CH ₃ COOH	16	1.5	200	180	8.004
1% HCl	15	1.5	255	213	7.92	8.013
0.5% NaOH	12	1.0	280	175	7.94	8.04
Proszek mięsny <i>Fleischpulver</i>	11.5	1.5	407	380	7.8	7.86
Bułka sproszkowana <i>Geriebene Semmel</i>	8.6	1.2	416	390	7.704	7.712
Chleb biały <i>Weissbrot</i>	7.5	2.5	422	375	8.05	8.150
Piasek najdrobniejszy <i>Winsig kleiner Sand</i>	7.25	1.0	425	411	7.54	7.68
Piasek <i>Sand</i>	7.25	0.59	422	384	7.28	7.45
Mięso surowe <i>Frisches Fleisch</i>	5.22	1.13	394	391	7.42	7.51
Żwir <i>Kies</i>	5.15	0.6	420	390	7.59	7.82
10% śmietanka <i>10% Sahne</i>	5.0	2.5	410	330	8.1	8.21
Rosół <i>Brühe</i>	3.65	0.49	279.3	245	7.8	7.9
10% rozczyn cukru trzeci- nowego <i>10% Rohrzucker</i>	3.161	0.13	400	289	8.23	8.16
Mięso gotowane <i>Ausgekochtes Fleisch</i>	3.81	0.5	270.48	196	8.149	8.198
Mleko <i>Milch</i>	2.17	0.26	275.38	264.6	7.99	8.11
T-ra <i>Gentianae</i>	1.4	0.17	291.06	216.58	7.89	8.03

Uwzględniając zależności między zawartością chlorków i oddziaływaniem śliny a jej szybkością wydzielenia, możemy podać następujące uogólnienie: w ślinie szybko wydzielanej w stosunku do śliny wolno wydzielanej pod wpływem tego samego bodźca znajdujemy zawsze większe ilości chlorków i obniżenie pH. W ślinie zaś wolno wydzielanej stwierdzaliśmy ilości chlorków mniejsze, a pH wyższe. Stosunki tu układają się więc całkiem odwrot-

nie, niż w soku trzustkowym według danych Czubałskiego. Skoro to zjawisko mogliśmy stwierdzać stale, nie biorąc narazie pod uwagę charakteru danego bodźca, to doszliśmy do wniosku, że siła bodźca i uwarunkowana przez nią szybkość wydzielania śliny wpływa wyraźnie nie tylko na ilość wydzielonej w jednostce czasu śliny, ale i na zawartość w niej soli i oddziaływanie.

Ustaliwszy już siłę działania danego bodźca, jako czynnik zasadniczy pod względem wpływu na ilość i szybkość wydzielania śliny oraz na wahania w niej ilości chlorków i jej oddziaływanie, zwróciliśmy jeszcze uwagę na to, czy w zakresie tak ujętych stosunków nie da się przecież stwierdzić dodatkowych wahań w ilości i charakterze śliny, zależnych od rodzaju stosowanego w poszczególnych przypadkach bodźca. Po-pierwsze, zmiany w ilości chlorków i oddziaływaniu śliny, przy stosowaniu podnień czysto mechanicznych, są w widoczny sposób, jak to również wykazuje tab. B, zależne od szybkości wydzielania się śliny, co jest w danym przypadku uwarunkowane rozdrobnieniem danej substancji, jak to już podnosiliśmy. Przy rozpatrywaniu zaś składu śliny, wydzielonej pod wpływem bodźców chemicznych o różnym oddziaływaniu, stwierdzaliśmy mniejsze ilości i niższy ogólny poziom chlorków, a wyższe pH w ślinie, otrzymanej zapomocą drażnienia bodźcem o oddziaływaniu kwaśnym; odwrotnie w ślinie, wydzielonej przy drażnieniu substancjami chemicznymi o oddziaływaniu zasadowym, wartości dla chlorków były wyższe, a pH niższe. Przebija się tu, uchwycona przez Pawłowa tendencja, że dla zobojętnienia kwasów wydzielają się więcej zasad. We wszystkich tych przypadkach ilości chlorków i pH były zależne, w granicach tych charakterystycznych dla kwasów i zasad stosunków, od szybkości wydzielania śliny w każdym doświadczeniu. Tabela C ilustruje te stosunki.

Należało poza to zwrócić uwagę na zmiany we właściwościach fizyczno-chemicznych śliny w zależności od bodźców, wpływających na wydzielanie śliny w sposób złożony: mechanicznie i chemicznie. Wyniki tych badań zestawione są w tab. ogólnych IV, V i VI, a wskazują one na to, że połączenie podrażnienia mechanicznego i chemicznego daje zwykle większą szybkość wydzielania śliny, aniżeli drażnienie wyłącznie mechaniczne lub wyłącznie chemiczne. W zależności zaś od różnic w szyb-

Tabela C.

Data <i>Datum</i>	Podnieta <i>Anreger</i>	Szybkość wydzielenia w cm ³ w ciągu 5 min <i>Sekretionsgeschwindigkeit in cm³/5'</i>		Ilość chlorków w mg w 100 cm ³ <i>Chloridenmenge in mg in 100 cm³</i>		pH		
		Szybkie wydzielenie <i>Schnelle Sekretion</i>	Wolne wydzielenie <i>Langsame Sekretion</i>	Szybkie wydzielenie <i>Schnelle Sekretion</i>	Wolne wydzielenie <i>Langsame Sekretion</i>	Szybkie wydzielenie <i>Schnelle Sekretion</i>	Wolne wydzielenie <i>Langsame Sekretion</i>	
30.III.33 r. 20.VI.33 r. 28.VI.33 r.	Bodźce kwaśne <i>Säuren</i>	2% CH ₃ COOH 4% CH ₃ COOH 1% HCl	5.8 16 15	0.41 1.5 1.5	270.48 200 255	227.85 180 213	8.05 8.004 7.92	8.16 8.098 8.013
1.V.33 r. 2.V.33 r. 30.V.34 r.	Bodźce zasad. <i>Basen</i>	0.25% NaOH 10% NaHCO ₃ 0.25% NaOH	1.8 2.8 9.2	0.28 0.35 1.3	327.32 332.22 412	278.32 296.94 405	7.86 7.95 7.91	8.05 8.11 8.01

Tabela D.

Podnieta — <i>Anreger</i>	Ilość chlorków w mg 100 cm ³ <i>Chloridenmenge in mg in 100 cm³</i>	Amylaza — <i>Amylase</i>
—	a) 132.3 b) 84.28	2.564 6.41
Wdychanie CH ₃ COOH <i>Einatmung von CH₃COOH</i>	a) 78 b) 58	6.33 12.82

Uwaga: a) — ślina szybko wydzielana,
b) — ślina wolno wydzielana.

Bemerkung: a) *schnell abgesonderte Speichel,*
b) *langsam abgesonderte Speichel.*

kości wydzielenia śliny w danym doświadczeniu mamy i tu także odpowiednie zmiany zawartości chlorków i jej oddziaływania.

Przeglądając jeszcze wyniki naszych doświadczeń, spostrzegamy, zgodnie zresztą ze znanym dawno faktem, potwierdzonym już przez *Babkina*, że w ślinie psa przy sposobie życia takim, jak to dla niego w naszym wypadku ustaliliśmy, niema fermentu amylolitycznego. W określeniach siły zaczynu metodą *Wohlgemutha* roztwór skrobi pozostawał niestrawiony. Natomiast doświadczenia ze śliną ludzką dawały wyniki dodatnie: skrobia ulegała strawieniu. Załączona tabela D ilustruje badania nad śliną ludzką. Należy zwrócić uwagę na ciekawy stosunek między ilością chlorków i siłą trawienną. Widzimy z tej tabeli, że siła trawienna amylazy ślinowej jest tem większa, im

wolniej się ślina wydzielala, a zatem podobnie jak to znalazł w soku trzustkowym Czubałski. Nie znajduje się jednak siła amylolytyczna śliny w zależności wprost proporcjonalnej do ilości chlorków w danej porcji śliny, lecz w stosunku odwrotnie proporcjonalnym. Sprawa ta, t. j. stosunek siły działania amyazy do procentowej ilości chlorków przedstawia się zatem odwrotnie, aniżeli w soku trzustkowym, gdzie, jak na to wskazuje Czubałski i Zawadzki, ilości chlorków, malejące — jak wiadomo — z doświadczeń Czubałskiego, w miarę zwiększania szybkości wydzielania soku trzustkowego, mówią o malejącem stężeniu soku trzustkowego, a więc i fermentów trawiennych. Z danych tych należy wnioskować, że siła trawienia śliny zależna jest nie od ilości chlorków, lecz podobnie, jak w soku trzustkowym, od stężenia fermentów. Ilości zaś chlorków wskazują na rozcieńczenie danego soku trawiennego. O ile bowiem w soku trzustkowym szybko wydzielanym jest ich mniejsza ilość, to w ślinie dzieje się odwrotnie: ślina szybko wydzielana o większej zawartości chlorków posiada mniejsze stężenie zaczynu amylolytycznego. Kwestję ową należałoby jeszcze rozpatrzeć łącznie z większym materiałem, opracowanym ze śliną ludzką. Nas interesowała bowiem zasadniczo ślina psa, a w tej brak jest amyazy.

Obecnie możemy zestawić wyniki naszej pracy nad zależnością wydzielania i składu śliny, uzyskiwanej ze ślinianki przyusznej z wynikami badań Czubałskiego nad trzustką i produkowanym przez nią sokiem trawiennym. W porównaniu tem znajdujemy pewne podobieństwa i różnice. Bardzo ściśle mogliśmy stwierdzić, do czego również doszedł w badaniach nad sokiem trzustkowym Czubałski, że wahania w szybkości wydzielania się śliny wiążą się ściśle ze zmianami w ilości soli i oddziaływania śliny. Na szybkość zaś wydzielania wpływa przede wszystkim siła, a tylko w pewnych granicach jakoś bodźca. Podobnym jest pozatem wpływ bodźca węglowodanowego, który na wydzielaniu i trzustki i ślinianki zaznacza się najsilniej ze wszystkich podniet pokarmowych. Różnicą zaś, wynikającą ze specjalnego zadania ślinianki i trzustki w ustroju, jest to, że przesunięcia, zależne od różnicy w szybkości wydzielania, w ilości chlorków i oddziaływaniu, idą w przeciwnych kierunkach.

Ciekawe pod tym względem będzie określenie tych zależności w innych jeszcze, niezbadanych pod tym względem, sokach trawiennych, co będzie przedmiotem dalszych naszych badań.

Wnioski.

W naszej pracy ze śliną, uzyskiwaną ze ślinianki przyusznej, pod działaniem bodźca różnej siły i jakości, doszliśmy do następujących wyników:

1°. W wydzielaniu śliny można odróżnić w zależności od siły podniety: początkowo szybkie wydzielanie śliny, a następnie w miarę zmniejszania się siły bodźca powodu rozcieńczenia śliną, czy przesuwania treści do dalszych odcinków przewodu pokarmowego, czy wydalania nazewnątrz lub przyzwyczajania — zmniejszenie szybkości wydzielania śliny.

2°. Na szybkość wydzielania śliny najsilniej wpływają substancje chemiczne takie, jak kwasy i zasady, następnie sproszkowane pokarmy (drażniące mechanicznie i chemicznie), dalej różnego rodzaju piasek, poczem skolei pokarmy zwykłe i tu najsilniej wpływają na wydzielanie węglowodany, następnie białka i wreszcie mleko; jeszcze słabiej na szybkość wydzielania śliny wpływają ciała wyciągowe, jak rosół lub takie, jak T-ra Gentianae.

3°. W ślinie szybko wydzielanej stwierdzamy w stosunku do śliny wolno wydzielanej większe ilości chlorków i obniżenie pH; w ślinie wolno wydzielanej ilości chlorków są mniejsze, a pH wyższe.—A więc: siła bodźca, niezależnie od jego charakteru, i uwarunkowana przez nią szybkość wydzielania śliny wpływa wyraźnie nie tylko na ilość wydzielonej w jednostce czasu śliny, ale i na zawartość w niej soli i oddziaływanie.

4°. Pobudzenie zwierzęcia do wydzielania śliny środkami, działającymi mechanicznie, wpływa na szybkość wydzielania w stosunku wprost proporcjonalnym do stopnia rozdrobnienia danej substancji, którą działamy na błonę śluzową jamy ustnej. Ilości chlorków i pH w zależności od szybkości wydzielania kształtują się i tutaj tak, jak to zaznaczyliśmy już w punkcie 3°.

5°. Porównanie szybkości wydzielania śliny pod wpływem środków chemicznych z szybkością wydzielania śliny pod wpły-

wem czynników mechanicznych wykazuje większą szybkość wydzielania w pierwszym przypadku, niż w drugim, kiedy zwierzę może usuwać dany bodziec mechanicznie (językiem, wargami).

6°. Ślina, po zastosowaniu bodźców chemicznych o oddziaływaniu kwaśnym, posiada naogół niższe wartości dla chlorków i wyższe pH; odwrotnie znajdujemy wyższe ilości chlorków i niższe pH przy stosowaniu jako bodźców substancyj chemicznych o oddziaływaniu zasadowym.

7°. Środki, działające na szybkość wydzielania śliny w sposób złożony, a więc chemicznie i mechanicznie, są silniejszym bodźcem dla wydzielania śliny, niż odpowiednie bodźce czysto chemiczne lub czysto mechaniczne.

L i t e r a t u r a .

- B a b k i n , B. P. 1928. Die äussere Sekretion der Verdauungsdrüsen. — C z u b a l s k i , F. r. 1931. Wpływ niedostatecznie dotąd uwzględnianych czynników fizjologicznych na charakter krzywej wydzielania trzustkowego. *Kosmos*. 66 (284). — C z u b a l s k i , F. r. 1928. Zmiany chemizmu, stężenia jonów wodorowych i siły trawiennej soku trzustkowego, zależne od charakteru i siły bodźca fizjologicznego. *Acta Biol. Exper.* 2. — C z u b a l s k i , F. r. i Z a w a d z k i , B. r. 1934. Wpływ stężenia jonów chlorowych, jonów wodorowych i fermentów na siłę trawienną soku trzustkowego. *Extrait du Bullet. de l'Acad. Polon. des Sciences et des Lettr.* (307). — G a y d a , T. 1925. Sul potere amilolitico della saliva del cane. *Arch. di science biol.* 7 (438—445). — M a z u r k i e w i c z , W. ł. 1908. Die festen Bestandteile des Bauchspeichels und Theorie der Sekretionstätigkeit des Pancreas. *Arch. f. ges. Physiol.* — M a z u r k i e w i c z , W. ł. 1910. Über Kontrasterscheinungen der Speichelsekretion. *Arch. f. ges. Physiol.* 132 (632). — M i c h a e l i s , L. 1914. Die Wasserstoffionenkonzentration. — M i s l o w i t z e r , E. 1928. Die Bestimmung der Wasserstoffionenkonzentration von Flüssigkeiten. — O p p e n h e i m e r , C. 1925. Die Fermente und ihre Wirkungen. — P o p i e l s k i , L. 1909. Über die Gesetze der Speicheldrüsentätigkeit. *Arch. f. ges. Physiol.* 127 (443). — P o p i e l s k i , L. 1902. Über die Zweckmässigkeit in der Arbeit der Verdauungsdrüsen. *Deut. med. Woch.* — P a w l o w , J. P. 1910. The work of the digestive glands. — R o n a , P. 1926. *Praktikum der physiologischen Chemie. Fermentmethoden.*

[Zakład Fizjologii Roślin U. J. P. w Warszawie].

N. Balzam.

**Losy flory bakteryjnej podczas metamorfozy muchy mięsnej
Calliphora erythrocephala.**

*Schicksal der Bakterienflora während der Metamorphose
der Fleischfliege *Calliphora erythrocephala*.*

Rękopis nadesłany w dniu 14.II.1936.

Die vorliegende Arbeit versucht das Schicksal der Darmflora der Fleischfliege während ihrer Metamorphose festzustellen.

Zwecks Lösung dieses Problems wurden die Puppen mittels 30% H₂O₂ von aussen sterilisiert, dann die frisch ausgeschlüpften Fliegen in Nährgelatine versenkt (Tabelle I) oder mit einer sterilen Pinzette zerquetscht und dann auf die übliche Weise bakteriologisch untersucht. (Tabelle III). Neben den ganzen Fliegen wurden auch ihre Fäzes untersucht. Sonst wurden die reifen Maden unmittelbar vor der Verpuppung, als auch die Puppen selbst in verschiedenem Alter einer bakteriologischen Prüfung unterzogen (Tabelle II).

Die reifen Nymphen wurden aus den sterilisierten Puparien hervorgeholt und deren Kopf, sowie der aus dem Thorax herauspräparierte Teil des Verdauungskanals, ferner der des Verdauungskanals beraubte Thorax und das Abdomen gesondert untersucht (Tabelle IV).

Ein Teil der Versuche wurde mit durch Reinkulturen verschiedener Bakterien infizierten Maden durchgeführt. Hierzu waren vor allem aseptische Madenkulturen nötig. Die Eier wurden mittels 0.5% HgCl₂ sterilisiert und die aus ihnen geschlüpften Maden wurden mittels eines Platindrahtes in Reagenzgläser

übertragen, welche sterilisierten Kalbhirnbrei enthielten. Durch die Beseitigung der infizierten resp. oft nicht genügend sterilisierten Eierhüllen und die Übertragung auf das Hirnbrei nur der frisch entschlüpften Maden wurde ein grosser Prozentsatz aseptischer Madenkultur erreicht.

Nach der Feststellung der Sterilität der Maden wurden diese durch entsprechende Bakterien infiziert. Die reifen Maden wurden in sterilem Wasser gespült, mit ster. Filterpapier abgetrocknet und in sterile, trockene, hygroskopische Watte enthaltende Reagenzgläser übertragen. In diesen Reagenzgläsern erfolgte die Verpuppung der Maden. Die erhaltenen Puppen wurden nun mittels 30% H_2O_2 sterilisiert und die daraus entschlüpften Fliegen wurden, wie oben aufgegeben, untersucht (Tabelle VII).

V e r s u c h s e r g e b n i s s e.

1°. Normale Eier der Fleischfliege *Calliphora erythrocephala* enthalten keine Bakterien. Nach entsprechender Sterilisation ihrer Aussenfläche kann man über 99% aseptische Maden erhalten. Die Infektion der Maden erfolgt sonach sie den Eiern entschlüpft sind.

2°. Sowohl die Maden vor ihrer Verpuppung, als auch die jungen und älteren Puppen enthalten eine Unmenge Bakterien (bis 2.000.000 in einem Individuum). (Tabelle II).

Diese normale Flora besteht aus 6 Arten von Bakterien, welche in verschiedenen Individuen in verschiedenem Quantitätsverhältnis auftreten. Vorherrschend sind die in Tabelle V mit A und B bezeichneten Arten.

3°. In nichtsterilisierten Maden gehen *Bacterium pyocyaneum* und *Bacterium prodigiosum* in ziemlichen Mengen in das Innere der Puppen über, sofern sie in der letzten Nahrungsportion den Maden verabreicht worden sind. Unter denselben Versuchsbedingungen wurde *Bacterium coli* im Inneren der Puppen nicht entdeckt. Daraus folgt, dass die Normalflora nicht ganz genau definiert ist und in gewissem Grade von der bakteriellen Zusammensetzung der Nahrung abhängig ist.

4°. In den Reinkulturen, die wir durch Infizierung der aseptischen Maden mit einzelnen Bakterienarten erhalten haben, sind alle geprüften Bakterien in das Innere der Puppen übergegangen.

Die Herausbildung der normalen Flora der Maden ist also vor allem das Ergebnis antagonistischer Wirkung der einzelnen Bakterienarten und nicht der bakteriziden Wirkung des Darmes selbst. Es ist jedoch nicht ausgeschlossen, dass der Darm der Made auf manche Bakterienarten hemmend wirken kann.

5°. Im Laufe der Entwicklung verschwinden die Bakterien aus dem larvalen Verdauungskanal und gehen in die Gewebe des Nymphalorganismus über.

In den Geweben werden die Bakterien auf diese Weise lokalisiert, dass sie weder in die Lymphe noch in die imaginale Verdauungsorgane einzudringen vermögen (Tabelle IV).

6°. Die Bakterienanzahl in den Puppen erleidet bis zum vorletzten Tage der Metamorphose keine wesentlichen Veränderungen (Tabelle II). Eine enorme Vermehrung der Bakterien erfolgt nur in den toten Puppen.

7°. Am letzten Tage der Metamorphose erfolgt eine rapide Destruktion der in den Geweben der Nymphe lokalisierten Bakterien. Dieser schnelle Prozess endet meistens schon nach Ablauf einiger Stunden nach dem Entschlüpfen der Fliege aus dem Puparium. In einigen wenigen Individuen lassen sich Bakterien in kleinen Mengen auch am nächsten Tage nach Entschlüpfung noch feststellen. Die überwiegende Mehrheit jedoch enthält schon nach einigen Stunden keine Bakterien in den Geweben (auch nicht im Darmtraktus) (Tabelle III).

8°. Fremde Bakterien, in Reinkulturen den Maden verabreicht, benehmen sich prinzipiell auf dieselbe Weise, wie die gewöhnliche Flora. Das betrifft sowohl die nicht sporenden

(*Bacterium prodigiosum*, *Bact. pyocyaneum*, *Bact. coli*), wie auch die sporenden Arten (*Bacillus subtilis*) (Tabelle VI, VII).

9°. Auf Grund der oben festgestellten Tatsachen darf angenommen werden, dass der in der Entwicklung der Fliege wirkende Immunitätsmechanismus vor allem einen Zellencharakter besitzt.

Das zwischen dem Organismus des Insekts und den ihn infizierenden Bakterien bestehende Verhältnis bildet eine zeitweilige nicht spezifische „intracelluläre Symbiose“.

Im Anschluss an die oben zusammengefassten Ergebnisse konnte man wohl diese Verhältnisse in Einklang mit den Auffassungen von Schwartz ('35) bringen, dass möglicherweise auch die Entstehung einer typischen dauernden intracellulären Symbiose den Charakter einer Abwehrreaktion vor der Infektion hat.

W s t ę p.

Larwy wielu owadów odżywiają się pokarmem, zawierającym olbrzymie ilości bakteryj. Zachodzi pytanie, jaki jest los tych bakteryj podczas metamorfozy owada, gdy przewód pokarmowy larwalny zostaje całkowicie albo częściowo zniszczony i zastąpiony przez powstający nanowo przewód imaginalny. Wprawdzie zniszczenie organów larwalnych nie idzie tak daleko, jak sądzili autorzy dawniejsi, jednak nie ulega wątpliwości, że np. u much ściany przewodu, przynajmniej w pewnych odcinkach, tracą swą zwykłą szczelność, ulegają destrukcji fagocytarnej i zostają rozproszone w jamie ciała (P e r e z '10). Jak podczas tych skomplikowanych przemian zachowują się bakterje? Może przechodzą do ciała późniejszej muchy, przetykając jej tkanki i organy? Czy też znajdują pomyślne warunki życiowe w jej przewodzie pokarmowym i tam tylko się rozwijają? Czy może do ciała dorosłego owada przechodzą tylko bakterje sporowe lub jakieś określone gatunki specyficzne? A może wszystkie bakterje ulegają zanikowi i organizm dorosłego owada, o ile nie ulegnie wtórnemu zakażeniu, jest zupełnie wolny od mikrobów?

Jako pierwszy obiekt doświadczalny wybrałem niebieską muchę mięsną, *Calliphora erythrocephala*. Kierowałem się przytem wielką łatwością hodowli tego owada oraz istnieniem bogatej literatury, dotyczącej zarówno procesów histologicznych, zachodzących podczas metamorfozy much (P e r e z '10), jak i ważnego pod względem praktycznym zagadnienia przenoszenia przez nie bakteryj chorobotwórczych, również z jednych stadjów rozwojowych do drugich.

Długi szereg tych prac rozpoczął w roku 1904 D a n i e l s, według którego bakterje, pochodzące z kału ludzkiego, nie mogą przechodzić do organizmu much dorosłych. Przeciwnie C a o ('06) twierdzi, że *Bacillus anthracis*, *Bacterium prodigiosum*, *Bact. fluorescens liquefaciens*, *Bact. Kiehlense*, *Sarcina aurantiaca*, *Staphylococcus pyogenes*, *Oidium spec.*, pochłonięte w stadjum larwalnem, przechodzą do imago, przyczem niekiedy zjadliwość tych bakteryj po takim pasażu wyraźnie wzrasta. Na podstawie pracy C a o, G a l l i V a l e r i o ('10) sądził, że przeżywanie bakteryj w zimujących poczwarkach much może być przyczyną ponownego wybuchania epidemij już zupełnie wygasłych. Niezależnie od C a o F a i c h n i e ('09) wykazywał, że bakterje tyfusu z kału ludzkiego, w którym rozwijają się larwy, mogą, a nawet z reguły przechodzą do przewodu pokarmowego imago. B a c o t ('11) dowodził, że *B. pyocyaneum* przechodzi z larw do poczwarek i form dojrzałych. W tym samym roku ukazała się praca L e d i n g h a m a, który twierdził, że w warunkach naturalnych zarazki tyfusu nie przechodzą do wnętrza muchy, ponieważ są wypierane przez dobrze zdefiniowaną florę własną larwy. W warunkach sztucznych (dezynfekcja jaj) bakterje tyfusu przechodzą do wnętrza poczwarek, ale prawdopodobnie nie mogą w nich się rozmnażać i stopniowo giną. Podobne wyniki otrzymał T e b b u t ('12) w stosunku do zarazków dyzenterji. T e b b u t twierdził również, że *Bact. Morgani*, podany specjalnie lub zakażający powierzchnię jaj, w wielu przypadkach przechodzi do stadjów późniejszych. Pewien procent poczwarek według T e b b u t a jest sterylny, co wskazuje na to, że podczas metamorfozy zachodzi wyraźna destrukcja bakteryj. Niezależnie od T e b b u t a, K r o n t o w s k i ('13) na podstawie badań serologicznych wykazał, że bakterje dyzenterji nie przechodzą do stadjum imaginalnego, zarówno u *Musca domestica*, jak *Sarcophaga carnaria*, *Sarcophaga mortuorum* i *Lucilia caesar*. N i c h o l l s ('12) twierdził, że u much z rodzaju *Sarcophaga* i *Sarcophagula* w toku metamorfozy zachodzi stopniowa destrukcja bakteryj. Świeżo wylęte muchy według tego autora są prawdopodobnie jałowe i zakażenie następuje dopiero drogą wtórną po wykluciu. A l e s s a n d r i n i i S a m p i e t r o ('12) stwierdzili, że *Vibrio cholerae* nie przeżywa podczas metamorfozy muchy domowej. G r a h a m - S m i t h ('14) twierdził, że: 1) muchy mięsne (*Calliphora*, *Lucilia*), które w okresie larwalnym były żywione trupem zwierzęcia padłego na węglik, nie są zakażone *Bac. anthracis*; 2) duży procent much mięsnych i domowych, rozwiniętych z larw zaka-

zonych sporami *Bac. anthracis*, jest zakażony; 3) z bakteryj nie-sporowych tylko te, które są przystosowane do warunków panujących w jelitach larwy (jak np. *Bact. Morgani* i niektóre bakterje niefermentujące laktozy), przeżywają podczas metamorfozy. Organizmy typu *Bact. typhi*, *Bact. enteritidis* i *Bact. prodigiosum* rzadko przeżywają. Glaser ('23) twierdzi, że przewód pokarmowy świeżo wylęgłej muchy domowej jest prawdziwym rezerwuarem bakteryj (niespecyficznych), gdy natomiast *Lyperosia irritans* jest zupełnie wolna od mikroobów. Przeciwnie, Wollman ('21), prowadzący swe badania na muchach aseptycznych, zakażonych czystymi kulturami *Bac. anthracis*, *Bact. typhi*, *Bact. Shiga*, stwierdził u muchy domowej w czasie metamorfozy całkowity zanik wprowadzonych bakteryj. Jednak bakterje, badane przez Wollmana nie należały do gatunków, stanowiących normalne składniki flory jelitowej larwy. Doświadczenia tego autora nad muchą mięsną dały wynik mniej jasny, ze względu na większe trudności sterylizacji poczwarki (tłuste i lepkie pożywienie). Również Muzzaelli ('25) dowodzi, że bakterje chorobotwórcze pochłonięte przez larwy nie przechodzą do form dojrzałych. W tym samym roku Petragani twierdzi, że bakterje tyfusu, cholery, gruźlicy i inne obficie przechodzą do przewodu pokarmowego świeżo wylęgłej muchy. Podobne wyniki otrzymał Leach ('26) na musze *Phorbia fusciceps*. Według tego autora larwy *Phorbia* zawierają bogatą florę bakteryjną, stanowiącą mieszaninę różnych gatunków, wśród których znajdują się również bakterje wywołujące choroby roślin. Bakterje, pochłonięte przez larwy, przechodzą do jelita poczwerek i form dojrzałych. Jaja *Phorbia* są jałowe, ostonki jajowe natomiast silnie zakażone. Na podstawie pracy Leacha Buchner ('30) i Schwartz ('35) mówią nawet o specjalnym typie symbiozy pomiędzy owadami i bakterjami, który nazywają typem „*Phorbia*”. Ostatnią pracą na ten temat była publikacja Canio Russo ('31), który wykazuje, że larwy much, żywione trupami zwierząt padłych na dzumę, dają muchy silnie zakażone *Bact. pestis*.

Ten przegląd, uwzględniający w porządku chronologicznym wszystkie zebrane przeze mnie dane bibliograficzne, dowodzi, że na podstawie literatury nie można było wyrobić sobie poglądu na postawione zagadnienie. Wychodząc z założenia, że przyczyną rozbieżności zdań i niejasności wyników poprzednich autorów były prawdopodobnie błędy metodyczne, największą uwagę zwróciłem na opracowanie odpowiedniej metody, pozwalającej na wykluwanie się muchy w warunkach, uniemożliwiających inwazję mikroorganizmów zzewnątrz. Prócz tego postanowiłem uwzględnić, w odróżnieniu od większości autorów poprzednich, przedewszystkiem te gatunki bakteryj, które stanowią normalne składniki flory jelitowej larwy.

M e t o d y k a.

I. Sterylizacja poczwarek.

Elementem podstawowym w zamierzonych doświadczeniach było oczyszczenie zzewnątrz poczwarki (*puparium*) od przylegających do niej mikro-bów i otrzymanie wylęgłej z niej muchy w warunkach, uniemożliwiających zakażenie wtórne. Po szeregu doświadczeń wstępnych, w których uwzględniano zarówno stopień odkażenia skórki, jak i wytrzymałość poczwarki na działanie środka dezynfekującego, przyjęto następującą technikę sterylizacji:

Dojrzałe larwy, nie zawierające już zupełnie mięsa w przewodzie pokarmowym, płókano dokładnie wodą wodociągową w małym sitku metalowym, osuszano bibułą i umieszczano na 24 godz. w czystych pudełkach drewnianych. Po upływie tego czasu powtarzano tę operację poraz drugi, tym razem susząc je bibułą jałową i przenosząc do pudełek sterylizowanych. Powtórzenie tego zabiegu ma na celu oczyszczenie powierzchni larwy od resztek kału, wydzielonego po pierwszym myciu. W pudełkach następowało zapoczwarczenie larw. Po zapoczwarczeniu większości larw odrzucano nieliczne osobniki spóźnione i do pudełka wstawiono słoiczek z wodą dla zapobieżenia wysychaniu poczwarek. Do sterylizacji brano poczwarki z przedostatniego dnia rozwoju (w temp. 23° rozwój trwa zwykle 12 dni). W tym okresie, prawdopodobnie dzięki powstaniu warstewki powietrza, oddzielającej nimfę od wewnętrznej powierzchni puparium, poczwarki odznaczają się największą odpornością na działanie środków odkażających. Odporność ta jest wogóle bardzo znaczna, a w stosunku do środków niezwilżających lub źle zwilżających powierzchnię zewnętrzną skórki (roztwory wodne sublimatu) prawie nieograniczona. Najlepsze wyniki dawało stosowanie stężonego perhydrolu Mercka (30% H₂O₂) w ciągu 2.5 godzin. Perhydrol nie daje żadnych szkodliwych produktów gazowych, dyfundujących do wnętrza poczwarki (jak np. woda bromowa), nie hamuje rozwoju nimfy przez asfiksję i doskonale oczyszcza mechanicznie oraz dostatecznie zwilża powierzchnię zewnętrzną, wnikając nawet do większości bakterij zamkniętych pomiędzy nasuniętymi na siebie segmentami puparium. Szalka z agarem buljonowym lub żelatyną, wysmarowana powierzchnią poczwarki sterylizowanej perhydrolem (i następnie dokładnie wypłókaną wodą sterylizowaną), nie wykazuje żadnego wzrostu. W niektórych doświadczeniach po kąpeli w perhydrolu stosowano jeszcze 2% roztwór HgCl₂ w ciągu 15 minut. Nieco gorsze wyniki daje kąpiel w nasyconej wodzie bromowej w ciągu 2 min., ponieważ w ciągu tego czasu brom nie niszczy zarodków, ukrytych pomiędzy segmentami, a dłuższe stosowanie tego środka zabija przyszłą muchę.

Po kąpeli perhydrolowej (słoiczek z perhydrolem, w którym odbywała się sterylizacja, co pewien czas silnie wstrząsano) poczwarki przenoszono zapomocą długiej jałowej pincety do szalki Petriego z wodą ste-

rylizowaną, a następnie do szalek, wyłożonych bibułą i sterylizowanych w suszarce. Po dokładnem osuszeniu, poczwarki przenoszono do jałowych próbówek świeżo sterylizowanych w suszarce. Natychmiast po przeniesieniu poczwarek koszyk z próbówkami przykrywano kloszem szklanym dla uniknięcia osiadania kurzu i bakteryj na zewnętrznej powierzchni korków z waty. Próbówki stawiano do koszyka korkami nadół, ponieważ świeżo wylęte muchy kierują się zwykle do góry i często wciskają się pod korek z waty. Dokładne suszenie poczwarek ma duże znaczenie dla wyników doświadczenia, ponieważ uniemożliwia dalszy rozwój tych bakteryj, które dostały się do wylotów pni oddechowych albo pomiędzy zachodzące na siebie części segmentów i nie zostały zabite przez perhydrol.

Przy sterylizacji większej ilości osobników poczwarki wsypywano do metalowej łyżeczki do parzenia herbaty, dającej się łatwo otwierać i zamykać zapomocą rączki z drutu. Łyżeczkę z poczwarkami wprowadzano kolejno do stoika z perhydrolem i wodą sterylizowaną. Sterylizowane i opłókanne wodą poczwarki wysypywano na arkusz bibuły (ster.), poczem przenoszono je do próbówek, pomagając sobie korkami z waty, ujmowaniem pincetą. Celem uniknięcia zakażenia z powietrza, doświadczenia na większej ilości poczwarek, jak i wszelkie inne trudniejsze manipulacje w tej pracy, przeprowadzano zawsze w t. zw. szafie Hansena (komora do szczepień, komora aseptyczna). Jest to dowolnej wielkości oszklone pudło, zaopatrzone w otwory na ręce eksperymentatora i w małe drzwiczki. Do pudła doprowadza się zzewnątrz pewną ilość pary wodnej, która w niskiej (pokojowej) temperaturze skrapla się na wszelkich zawieszonych w powietrzu cząstkach i powoduje ich szybkie opadanie. Dzięki temu powietrze we wnętrzu pudła po upływie krótkiego czasu zostaje mechanicznie oczyszczone od wszelkich mikroorganizmów, co pozwala na swobodne otwieranie naczyń z pożywką i temu podobne czynności.

Opisane zabiegi sterylizacyjne nie szkodzą późniejszym muchom, które wylęgają się zupełnie normalnie. Rzadko tylko trafiają się osobniki o skrzydłach uszkodzonych przez działanie perhydrolu.

II. Badanie much.

Z otrzymanymi muchami przeprowadzano dwa rozmaite typy doświadczeń. W doświadczeniach pierwszego typu żywe muchy zatapiano w łańcisi w próbówkach z żelatyną buljonową (ogrzaną do 37° C). W doświadczeniach drugiego typu muchy miażdżono (przez rozcieranie o ścianę próbówki) zapomocą jałowej pincety w 1.5—2 cm³ wody destylowanej i sterylizowanej. Następnie otrzymaną emulsję wylewano na szalkę i natychmiast mieszano z agarem buljonowym (1.5 g agaru, 0.5 g peptonu i 1.0 g glukozy na 100 cm³ buljonu), trzymanym w łaźni wodnej o temp. 46—47°. Oczywiście po wylaniu na szalkę i zmieszaniu z wodą temperatura agaru momentalnie spadała. Na 1.5—2 cm³ wody przypadało 10 cm³ agaru. Przed zmieszczeniem zmiażdżonej muchy z agarem, odszczepiano z niej jedno oczko

i wylewano na szalkę agarową, rozcieńczoną w porównaniu z pierwszą od 800 do 1000 razy.

Doświadczenia typu pierwszego pozwalały stwierdzić sam fakt zakażenia czy jałowości badanej muchy (jeśli ta jałowość była absolutna); natomiast doświadczenia typu drugiego pozwalały również określić stopień zakażenia, czyli obliczyć zgrubsza ilość bakterij, zakażających ciało muchy. Miażdżenie much w wodzie i wylewanie szalek uskuteczniano zapomocą zwykłej techniki bakterjologicznej na powietrzu; zatapianie żywych much w całości w żelatynie buljonowej wykonywano zawsze w komorze aseptycznej. Przy przenoszeniu much do próbek z żelatyną buljonową uważano, aby resztki skórki nie dostały się do próbek z pożywką. Zabieg ten jest znacznie ułatwiony przez to, że muchy, umieszczone w wąskich naczyniach, chętniej wędrują do góry, niż wdół naczynia (niezależnie od kierunku światła). Muchy apatyczne i siedzące na dnie naczynia można pobudzić do ruchu zapomocą lekkiego wstrząsania próbką. Zapomocą odpowiedniego przechylenia i wstrząsania próbek można poprostu przeprowadzać muchę z jednej próbki do drugiej. Próbkę z żelatyną, zawierającą żywe muchy wstawiano do termostatu (37°), gdzie żelatyna się rozpuszczała. Następnie muchy zatapiano w żelatynie (przez wstrząsanie próbek) i żelatynę zestalano.

Różne modyfikacje obu typów wykonywanych doświadczeń zostaną opisane w części doświadczalnej. Również w części doświadczalnej zostanie podana technika preparowania przewodu pokarmowego, stosowana w niektórych eksperymentach.

III. Doświadczenia na larwach, zakażonych czystymi kulturami bakterij.

Część doświadczeń została przeprowadzona na larwach, żywnych czystymi kulturami rozmaitych gatunków bakterij. Wymagało to przede wszystkim otrzymania aseptycznych kultur larw, które następnie zakażano odpowiednimi bakterjami. Zagadnienie hodowli aseptycznej jest samo przez się ogromnie ciekawe i posiada duże znaczenie dla rozmaitych dziedzin fizjologii owadów. Ostatnio, dzięki użyciu larw rozmaitych much mięsnych do leczenia ran zakażonych technika hodowli aseptycznej znalazła zastosowanie nawet w medycynie (Brumpt '33). Wywołało to cały szereg publikacyj o charakterze praktycznym, w których podawano rozmaite metody sterylizacji jaj much mięsnych: Stosowano w nich wodne i alkoholowe roztwory sublimatu, 3% lizol i 10% roztwór formaliny. Istotą metody zastosowanej w niniejszej pracy jest to, że na pożywkę, na której mają się rozwijać larwy, przenosi się po sterylizacji nie jaja, a wyłęgłe z nich larwy. Dzięki temu zakażone i niedostatecznie wysterylizowane osłonki jajowe zostają odrzucone i procent larw jałowych ogromnie się zwiększa.

Jaja dezynfekowano środkiem dość silnym, mianowicie 0.5% roztworem HgCl₂. Było to możliwe dzięki temu, że dezynfekcję wykonywano nie

bezpośrednio po złożeniu jaj przez muchę, a około 2 godzin przed wylęgiem (Hobson '32). Większa odporność jaj w tym okresie jest spowodowana zapewne częściowo przez powstanie warstewki gazów naokoło zarodka i przerwanie w ten sposób normalnej drogi dyfuzyjnej do wnętrza jaja, a częściowo wskutek jakiejś innej przyczyny, ponieważ największą odporność na działanie środków dezynfekujących wykazują świeżo wyklute larwy, które znoszą bez szkody w ciągu 20 min. kąpiel w 2% roztworze $HgCl_2$. Niestety, dezynfekcja larw jest już bezskuteczna, ponieważ nie obejmuje bakteryj, wprowadzonych w czasie albo bezpośrednio po wylęgu do przewodu pokarmowego.

Dla uchwycenia momentu odpowiedniego do sterylizacji z danej grupy (np. 100) jaj świeżo złożonych¹⁾, wydzielano 6—10 sztuk próbnych, które umieszczono w atmosferze nasyconej parą wodną na górnej powierzchni komory, złożone z płytki szklanej i z bloczku z czarnego szkła, odpowiednio wydrążonego. Pozostałe jaja oddzielano od siebie zapomocą zaokrąglonego drucika platynowego, następnie przemywano kilkakrotnie wodą destylowaną przez dekantację w małej zlewce, umieszczano na górnej powierzchni odwróconej szalki Petriego, zawierającej krążek nasyconej wodą bibuły i wstawiano na przeciąg 2 godz. do lodówki. Przez ten czas jaja były zahamowane w rozwoju, podczas gdy jaja kontrolne rozwijały się bez przerwy. Dzięki temu jaja kontrolne kończyły swój rozwój o godzinę lub dwie wcześniej i dawały sygnał do rozpoczęcia sterylizacji. Jaja przeznaczone do sterylizacji ostrożnie zbierano z szalki, spłókiwano do zlewki na 30 cm^3 , przemywano kilkakrotnie wodą destylowaną i umieszczano w komorze aseptycznej. Następnie, spłókiwano je ze zlewki do wysokiego i wąskiego lejka (w rodzaju lejka Soxhleta), wyłożonego kawałkiem waty hygroskopijnej i sterylizowanego uprzednio w autoklawie. Bezpośrednio po spłókanu na dno lejka, jaja przemywano kolejno: w ciągu 2 min. 0.5% $HgCl_2$, jednej minuty wodą destylowaną i sterylizowaną, 2 min. 0.5% $HgCl_2$ i 2 min. wodą sterylizowaną. Ogółem używano do tej operacji 200 cm^3 roztworu $HgCl_2$ i 200 cm^3 wody. Dla zmniejszenia ilości zużytej cieczy wylot lejka był zakończony rurką gumową zamkniętą ściskaczem (albo prosto ściskaną palcami). Po sterylizacji watkę z jajami ujmowano jałową pincetą i umieszczano w szalce Petriego, na warstwie 3—4% roztworu agaru w wodzie destylowanej. Rozwój bakteryj ewentualnie pozostałych po i mimo sterylizacji może zachodzić na takim podłożu oczywiście tylko bardzo wolno.

Następnie szalkę z jajami wyjmowano z komory aseptycznej i umieszczano na stole pod czystym kloszem szklanym. Po 3 godz. lub wcześniej przystępowano do przenoszenia wylęgłych larw do próbek z pożywką. Larwy przenoszono drucikiem platynowym po 10 sztuk do dużych próbek, zawierających około 15 g miazgi z mózgu cielęcego każda (Wollman '22, Hobson '32). Mózg mielony ogrzewano w odpowiednim słoiku w ciągu

¹⁾ Jaja zbierano z kawałka świeżego mięsa, włożonego na 1—1.5 godz. do terrarium, w którym hodowano muchy.

0.5 godz. w temp. 100°, następnie rozcierano zapomocą pałeczki szklanej w ten sposób, aby wydzielona wskutek ogrzewania ciecz spowrotem zmieszana się z substancją macierzystą. Roztartą masę wlewano do próbówek (około 15 g w próbówce na 60 cm³) i sterylizowano 4 razy po 0.5 godz. w temp. 100°. Korki próbówek chroniono przed kurzem kapturkami z papieru, ściśniętymi gumką aptekarską. Na trzeci dzień po przeniesieniu na tę pożywkę, podobnie zresztą jak na mięsie zakażonym, larwy osiągają mniej więcej połowę wielkości ostatecznej i zawartość próbówki zostaje silnie rozrzedzona wskutek działania proteolitycznych enzymów trawiennych, wydalanych przez larwy razem z odchodami. Kroplę rozrzedzonej masy przenoszono zapomocą drucika platynowego do próbówki z buljonem, a następnie próbówkę z larwami zakażano dużą ilością odpowiednich bakteryj. Po 3 dniach, kiedy dojrzałe larwy już opróżniły swój przewód pokarmowy, próbówki otwierano, larwy wyciągano zapomocą długiej pincety, opłukiwano je w kilku kolejnych naczyniach z wodą sterylizowaną, osuszano bibułą sterylizowaną (w szalkach Petriego) i przenoszono po jednej do suchych próbówek, wyłożonych watą hygroskopijną. W próbówkach tych zachodziło zapoczwarczenie. Potrzeby oddechow e larw i poczwarek były w zupełności zaspakajane przez dyfuzję gazów przez korek z waty i żadne inne urządzenia dodatkowe nie były potrzebne.

Z otrzymanymi poczwarkami postępowano w sposób opisany poprzednio (sterylizacja, umieszczanie w suchych próbówkach i t. d.). Oczywiście, zużywano tylko te próbówki z larwami, dla których kontrola (buljon) nie wykazywała żadnych objawów wzrostu.

Jednak wypadki zakażenia hodowli były ogromnie rzadkie. Mianowicie na 300 larw, otrzymanych z jaj sterylizowanych, była tylko jedna zakażona. Potwierdza to w zupełności rezultaty Wollm ana ('11), według którego treść normalnych jaj muchy mięsnej nigdy nie zawiera bakteryj. Odmiennie rezultaty innych autorów (Bogdanow '08) wynikały z niedostatecznej sterylizacji powierzchni jaj.

C z ę ś ć d o ś w i a d c z a l n a.

I. Badania wstępne.

Pierwsze doświadczenia polegały na zatapianiu w żelatynie buljonowej żywych much, wylęgłych z poczwarek sterylizowanych. Próbówki z muchami umieszczano w termostacie w rozmaitych temperaturach w warunkach tlenowych i beztlenowych i obserwowano w ciągu co najmniej 3 miesięcy. Z doświadczeń tych okazało się, że przynajmniej 80% much, wylęgłych z larw zakażonych, posiada jałowy przewód pokarmowy i najprawdopodobniej nie zawiera bakteryj również w tkankach ciała.

Tabela I.

Rezultaty zatapiania żywych much w żelatynie *).

Ergebnisse der Einschmelzung lebender Fliegen in Nährgelatine).*

Nr. doświadczenia <i>Versuchs Nr.</i>	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX
Ilość much zatopionych w pożywce <i>Zahl der in Nährgelatine eingeschmolzenen Fliegen</i>	31	39	11	29	15	15	35	42	15
Liczba próbek zakażonych <i>Zahl der infizierten Fliegen</i>	2	6	3	10	2	1	2	4	0

*) Skład pożywki: Doświadczenia I – VIII: 10% żelatyny, 0,5% peptonu, 1% glukozy, 88,5% buljonu. Odczyn obojętny lub słabo alkaliczny. Dośw. IX: 10% żelatyny, 90% brzoćki piwnej. Odczyn słabo kwaśny.

*) *Zusammensetzung der Nährgelatine: Exp. I–VIII: 10% Gelatine, 0,5% Pepton, 1% Glucose, 88,5% Bullion. Reaktion neutral oder schwach alkalisch. Exp. IX: 10% Gelatine, 90% Bierwürze-Reaktion schwach sauer.*

W wielu próbkach żelatyna ulegała zupełnemu rozpuszczeniu, ale mimo to pozostawała przezroczysta. Rozrzedzoną żelatyną zaszczepiano nowe próbki z żelatyną buljonową i z pożywkami płynnymi, składającymi się z wody peptonowej z dodatkiem glukozy lub sacharozy i z jałowego przesączu z świeżej kultury drożdży na brzoćce piwnej. Wszystkie posiewy dały wynik negatywny. Oczywiście, rozrzedzenie żelatyny było wywołane działaniem enzymów proteolitycznych, wydzielanych i wydalanych przez muchę, która w żelatynie, nawet zestalonej, ginie dopiero po upływie kilku dni. Dzieje się to głównie dlatego, że muchę trudno jest zanurzyć całkowicie w płynnej żelatynie, dzięki swej lekkości prawie zawsze wypływa na wierzch i może oddychać¹⁾.

Muchy, które przed ich przeniesieniem na żelatynę trzymano w suchych próbkach tak długo aż zdechły z głodu, nie rozrzedzają żelatyny.

Jeżeli żywą muchę zatopić w żelatynie i próbkę oziębic w położeniu silnie ukośnem, można zauważyć, że żelatyna zaczy-

¹⁾ Ciekawe jest to, że muchy nie zabija nawet całkowite pograżenie i zalanie żelatyną w ciągu 24 godz., ani też umieszczenie pod kloszem pompy pneumatycznej. Po dopuszczeniu powietrza pod klosz muchy zaczynają się znowu poruszać i zachowują się zupełnie normalnie. Podobne przykłady anaerobiozy były już wielokrotnie obserwowane u innych owadów.

na się rozrzedzać przedewszystkiem w bezpośrednim sąsiedztwie otworu odbytowego. Enzymy proteolityczne są więc wydalone głównie razem z odchodami, a nie z wydzieliną gruczołów ślinowych przez otwór gębowy.

Zatapianie żywych much w żelatynie nie mogło rozstrzygnąć kwestji, dlaczego tylko w jednym doświadczeniu otrzymano 100% much aseptycznych. Chodziło o to, czy muchy bywają zakażone tylko pojedynczemi bakterjami, pochodzącemi z niedostatecznie wysterylizowanych skórek, czy też mogą zawierać większe ilości bakteryj, wprowadzonych do przewodu pokarmowego jeszcze w stadium larwalnem.

Rozwiązanie tego zagadnienia dały doświadczenia drugiego typu, w których muchę miażdżono w 1.5 — 2 cm³ wody, wylewano na szalkę i mieszano z agarem buljonowym. Zawsze wylewano również drugą szalkę, rozcieńczoną w stosunku do pierwszej mniej więcej 1000-krotnie.

Oprócz samej muchy, w doświadczeniach tych miażdżono osobno również skórki (puparia), pozostałe po wyjściu owada, i wylewano szalki z kału i meconium poczwarkowego, pozostawionego na ścianach próbowki. Brano zawsze kał jeszcze mokry tak, że bakterje, ewentualnie w nim zawarte, nie mogły zginąć wskutek wysychania.

Doświadczenia postawione w ten sposób pozwalały odpowiedzieć nie tylko na pytanie, jaki jest stopień zakażenia danego osobnika, ale także, czy bakterje pochodzą z powierzchni skórki, czy też są umiejscowione w przewodzie pokarmowym, czy w tkankach owada. Ze względu na to, że pojedyncze bakterje, dostające się ze skórki do przewodu pokarmowego muchy, mogłyby tam szybko się rozmnożyć i zniekształcić wynik doświadczenia, miażdżono muchy bardzo młode, mianowicie takie, które jeszcze nie zdążyły rozwinąć skrzydeł i zmienić barwy po opuszczeniu puparium (świeżo wylęła mucha ma skrzydła skurczone i jest jasno szara, rozprostowanie skrzydeł i zmiana barwy na metaliczno-niebieską następuje w ciągu pierwszych 2 godzin życia imago).

Wyniki tych doświadczeń były niezmiernie interesujące i zupełnie nieoczekiwane przez autora. Okazało się, że w bardzo młodych muchach często znajdują się bardzo duże, nieraz nawet

wprost olbrzymie ilości bakteryj. Ponieważ jednocześnie kał tych much był zupełnie jałowy, a skórki, z których wyszły, nie wykazywały nawet po skruszeniu więcej, niż kilkanaście, najwyżej kilkadziesiąt żywych bakteryj, należało przyjąć, że w młodych muchach bakterje są umiejscowione w tkankach ciała. Przypuszczenie to potwierdzono jeszcze zapomocą doświadczeń bezpośrednich, które zostaną opisane później. W muchach nieco starszych (kilkugodzinnych) ilość bakteryj była już znacznie mniejsza, a po upływie 24 godzin prawie wszystkie osobniki były jałowe. Bliższe dane liczbowe, dotyczące tych doświadczeń, zostaną podane w rozdziałach następnych.

II. Okres przeżywania i okres zanikania bakteryj w toku metamorfozy.

Ustalenie okresu, w którym zachodzi znikanie bakteryj wprowadzonych do przewodu pokarmowego larwalnego, było pierwszym warunkiem, koniecznym dla postawienia odpowiedniej hipotezy, mającej na celu wyjaśnienie mechanizmu tego zjawiska.

Jeszcze przed wykonaniem wspomnianych w rozdziale poprzednim doświadczeń z miażdżeniem much, świeżo wylęgłych z poczwerek, sądzono, że najprawdopodobniej bakterje znikają z przewodu pokarmowego larwy jeszcze przed zapoczwarczeniem, w okresie prepupalnym, kiedy larwy przestają pobierać pokarm i całkowicie opróżniają swój przewód pokarmowy. Koncepcja ta opierała się przedewszystkiem na stwierdzonych przez P o j a r k o w a ('27) zjawiskach odporności jelitowej u gąsienic jedwabnika. Przed P o j a r k o w e m D u n c a n ('26) opisał szereg doświadczeń, w których miazga z jelita rozmaitych owadów działała bakterjobójczo na cały szereg gatunków bakteryj. Również rezultaty, uzyskane przez stosowanie larw much mięsnych w leczeniu ran zakażonych (B r u m p t '33), pozwalały przypuszczać, że czynnikiem decydującym w odkażaniu i leczeniu rany są właśnie jakieś swoiste antyseptyki, wydalone z odchodami lub substancjami ślinowymi przez żywe larwy. Według L i v i n g s t o n e'a i P r i n c e'a ('32), jałowe przesącze ze zmiażdżonych larw muchy mięsnej, wprowadzane do sza-

lek z kulturami bakterij ropnych, niszczyły te kultury. Czynniki, wywołujące bakterjolizę, nie były wrażliwe na ogrzewanie.

Drugą możliwością przewidywaną była destrukcja bakterij w okresie intensywnej histolizy i fagocytozy przewodu pokarmowego larwalnego w pierwszych dniach metamorfozy. Jednak żadne z tych przypuszczeń nie okazało się trafne.

Przeprowadzone doświadczenia wykazały, że w okresie prepupalnym bakterje nie znikają z przewodu pokarmowego larwy.

Dojrzałe larwy, przybierające już kształt baryłkowaty, drażniono przez wstrząsanie tak długo, dopóki znowu nie wydłużyły się i zaczęły pełzać. Następnie traktowano je podobnie, jak larwy przeznaczone do dalszej hodowli (patrz metodyka), to znaczy przemywano wodą wodociągową i sterylizowaną i osuszano bibułą. Różnica polegała na tem, że przemytym i osuszonym larwom nie pozwalano zamieniać się w poczwarki, a miażdżono je, podobnie jak dojrzałe muchy, w próbkach, zawierających około 1 cm³ wody sterylizowanej. Celem uzyskania kontroli jałowości skórki żywą larwą bezpośrednio przed zmiążdżeniem smarowano powierzchnię szalki z agarem buljonowym.

Agar, smarowany zewnętrzną powierzchnią larwy, pozostawał z reguły jałowy lub wykazywał wzrost tylko nielicznych kolonij. Natomiast szalka, wylana z larwy zmiążdżonej, wykazywała zawsze wzrost bardzo obfity (rzędu kilkuset tysięcy lub więcej bakterij w całej larwie).

Następne doświadczenia dotyczyły zawartości bakterij w kolejnych stadjach rozwoju poczwarkowego. Poczwarki przeznaczone do badania wrzucano na 2 min. do nasyconej wody bromowej, następnie przenoszono do dwóch kolejnych szalek z wodą sterylizowaną i miażdżono, podobnie jak larwy. Sposób ten ma tę wadę, że do cieczy badanej wprowadza się również bakterje, ukryte między segmentami poczwarki i nie zabite przez brom (powierzchnia zewnętrzna poczwarek jest zupełnie jałowa). Jednak ilość tych bakterij, w porównaniu z ilością zawartą wewnątrz poczwarek, jest znikoma. Przekonano się o tem z badania skórek, pozostawionych przez muchy wyklute z poczwa-

rek, sterylizowanych w ten sposób. Po skruszeniu skórki wylęgało się z niej w najgorszym przypadku kilkadziesiąt bakteryj. Pomimo to poczwarki starsze badano w ten sposób, że po sterylizacji umieszczano je na jałowej bibule, jałowym skalpem odcinano przednią część skórki i dojrzałą nimfę wyciągano zapomocą pincety.

Oczywiście, że po doświadczeniach tych nie można się spodziewać wielkiej dokładności, przedewszystkiem dlatego, że oznaczona ilość bakteryj zależy od stopnia roztarcia badanej poczwarki. Niemniej jednak oznaczenia równoległe rzadko różniły się więcej, niż dwukrotnie i w każdym razie mogą dać pojęcie o rzędzie badanej wielkości.

Tabela II.

Zawartość bakteryj w kolejnych stadiach rozwoju poczwarkowego.
Bakteriengehalt in den aufeinander folgenden Stadien der Metamorphose.

Nr. poczwarki <i>No der Puppe</i>	Wiek poczwarki w dniach <i>Alter der Puppe in Tagen</i>	Liczba bakteryj w poczwarcie w dwóch oznaczeniach równoległych w tysiącach <i>Bakterienzahl in den Puppen in zwei parallelen Bestimmungen in Tausenden</i>	
		I szalka <i>I Petri-Schale</i>	II szalka <i>II Petri-Schale</i>
I	1	14	37
II		230	330
III		110	280
IV		180	210
V		10	20
I	3	600	500
II		130	280
III		100	120
IV		650	800
V		80	110
I	11 Pierwsze muchy z poczwarek kon- trolnych wykluły się dwa dni później <i>Die ersten Fliegen aus den Kontrollpup- pen entschlüpfen 2 Tage später</i>	przeszło—über 2000	przeszło—über 2000
II		500	300
III		15	11
IV		ca. 2000	ca. 2000
V		ca. 2000	ca. 2000

Wyniki tych doświadczeń przedstawia tabela II. Podano w niej dzień rozwoju badanych poczwarek i ilość kolonij, wyrosłych na dwóch szalkach równoległych, zawierających po jed-

nem oczku miazgi z danej poczwarki. Ponieważ jedno oczko zawierało około $\frac{1}{1000}$ część materiału badanego, podane liczby oznaczają również w przybliżeniu całkowitą ilość bakterij w poczwarcie w tysiącach. Serja badanych poczwarek składała się z osobników, hodowanych na jednym kawałku mięsa i wybranych z większej ilości poczwarek w ten sposób, aby wiek ich nie różnił się więcej niż o 2 godziny.

Z tabeli II widać, że bakterje w poczwarkach bynajmniej nie giną w pierwszych dniach rozwoju, kiedy zachodzą intensywne procesy histolizy i fagocytozy organów larwalnych. Otrzymane liczby zdawałyby się nawet wskazywać na to, że w toku rozwoju poczwarkowego bakterje mogą nieznacznie się rozmnażać. W każdym razie rozmnażanie to jest wyraźnie ograniczone. Ilości bakterij, wielokrotnie większe od podanych w tabeli, spotykano jedynie w poczwarkach, zawierających nimfy zdechłe i napół rozłożone. Żywy i normalnie rozwijający się organizm owada posiada widocznie środki hamujące rozmnażanie się bakterij i nie dopuszczające do nadmiernego zwiększenia się ich ilości. To samo zjawisko zachodzi w stosunku do mikroorganizmów symbiotycznych u rozmaitych owadów, żyjących w symbiozie intracelularnej (Schwartz '32).

Czynna destrukcja bakterij zachodzi dopiero w ostatnim, względnie w ostatnich dwóch dniach rozwoju poczwarkowego i w pierwszych kilku godzinach życia imago. Z szeregu doświadczeń, wykonanych w tym kierunku, przytoczę doświadczenie III. W doświadczeniu tem porównywano ilość bakterij, znajdujących się w muchach: 1) w chwili wylądzenia z puparium, 2) 4 — 7 godz. później, 3) po dwóch i więcej dniach.

Doświadczenie to wykonano w następujący sposób: wysterylizowano i umieszczono w jałowych próbkach 200 poczwarek. Próbkę z poczwarkami umieszczono w statywach, pozwalających na uchwycenie momentu pęknięcia skórki i wylęgu much. W dniu, kiedy odbywał się wyląg, dyżurowano bez przerwy przy statywach. Poczwarkę, z której zaczynała się wysuwać mucha, natychmiast wysypywano na arkusz bibuły, muchę wyciągano pincetą ze skórki, miażdżono w wodzie, wylewano na szalkę

i mieszano z agarem. W ten sposób zoperowano 26 much. Następnie zmiądzono 26 much w wieku od 4 do 7 godzin (barwa granatowa, skrzydła długie) i 55 much starszych, liczących od 2 do 7 dni. Część tych much była trzymana o głodzie w tych samych próbowkach, w których leżały skórki, a część przeniesiono do próbówek, zawierających agar buljonowy z dodatkiem 5% skrobi rozpuszczalnej. Zakażenie przewodu pokarmowego albo powierzchni ciała muchy bodaj jedną żywą bakterją, musiało wywołać obfity rozwój bakteryj na powierzchni agaru i co za tem idzie, silne zakażenie wtórne przewodu pokarmowego. Wyniki tego doświadczenia zawiera tabela III.

Tabela III.

Zależność stopnia zakażenia od wieku muchy.

Abhängigkeit des Infektionsgrades vom Alter der Fliegen.

Wiek much <i>Alter der Fliegen</i>	Liczba much zbadanych <i>Zahl der untersuchten Fliegen</i>	Liczba much, zawierających <i>Zahl der Fliegen die enthalten von:</i>				
		1 — 0 Bakt.	2 — 10 Bakt.	11 — 100 Bakt.	101 — 1000 Bakt.	1000 — ∞ Bakt.
Nimfy z przedostatniego dnia rozwoju <i>Nymphen am vorletzten Entwicklungstage</i>	10	0	0	0	0	10
1' — 30'	26	4	2	2	1	17
4 — 7 godz. <i>4 — 7 Stunden</i>	25	5	10	8	1	1
25 godz. i więcej <i>24 Stunden und mehr</i>	53	43	0	0	2	8

Jak widać z tabeli, największe nasilenie procesu autosterylizacji zachodzi w pierwszych godzinach po wylęgu muchy. Podczas gdy na 10 nimf z przedostatniego dnia rozwoju nie było ani jednej, zawierającej mniej niż 1000 bakteryj, na 26 much dopiero co wylęgłych z poczwarki były już 4 zupełnie jałowe, 2 zawierające tylko do 10 i 2 zawierające do 100 bakteryj. Każda z pozostałych 17 much zawierała powyżej 1000 bakteryj. Kilka godzin później na 25 much z tej samej serji była już tylko 1 zawierająca więcej niż 1000 bakteryj, 5 zupełnie jałowych i 10 zawierających mniej niż 10 bakteryj każda. Pozostałe 8 zawierały od 10 do 100 bakteryj. Po upływie 24 godzin i więcej — na 55

much — 43 były zupełnie jałowe, 2 zawierały więcej niż 100, a mniej niż 1000 bakteryj, a 8 posiadało przewód pokarmowy obficie zakażony. Ponieważ te ostatnie żyły na agarze, który również okazał się zakażony, można przypuszczać, że zakażenie ich nosiło charakter wtórny.

W niektórych doświadczeniach autosterylizacja większości poczwarek zachodziła nieco wcześniej, mianowicie w ostatnich kilku godzinach życia nimfalnego.

III. Wędrowka bakteryj z przewodu pokarmowego larwalnego do tkanek.

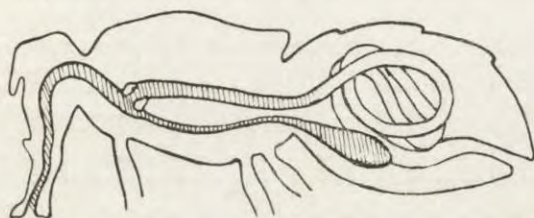
Z doświadczeń Wollmana ('11), potwierdzonych w niniejszej pracy, wynika, że jaja muchy mięsnej nie zawierają wewnątrz bakteryj. Świeżo wylęte larwy są aseptyczne i zakażają się dopiero wtórnie przez pochlönienie bakteryj, znajdujących się na osłonce jajowej albo w pobranem pożywieniu. Najprawdopodobniej zakażenie to ogranicza się do przewodu pokarmowego larwy, natomiast tkanki jej oraz ciecz ciała pozostają w dalszym ciągu jałowe. Niestety, niema na to dowodów bezpośrednich, jednak twierdzenie to ma duży stopień prawdopodobieństwa ze względu na analogję z stosunkami, panującymi u innych zwierząt. Ściany przewodu pokarmowego są normalnie bakterjologicznie szczelne i przepuszczają tylko substancje rozpuszczone, względnie conajwyżej znajdujące się w stanie subtelnej emulsji.

Podczas przebudowy przewodu pokarmowego w pierwszych dniach metamorfozy zachodzi znaczne rozluźnienie ścian przewodu, a przynajmniej jego odcinka przedniego i tylnego (P e r e z '10) oraz stopniowe rozproszenie jego szczątków w jamie ciała (fagocytoza). Zachodzi pytanie, sformułowane już we wstępie do tej pracy, czy podczas tych procesów bakterje nie przechodzą z przewodu pokarmowego do tkanek późniejszej muchy? Przypuszczenie to zostało potwierdzone przez doświadczenia, w których stwierdzono, że świeżo wylęte muchy składają zawsze kał zupełnie jałowy, chociaż często po zmiążdżeniu okazują się jeszcze silnie zakażone. Tak np. w jednym z doświadczeń na 34 muchy znalazła się jedna, zawierająca (po roztarciu) ponad

1.000.000 bakteryj, podczas gdy kał jej był zupełnie jałowy. W innym doświadczeniu na 50 zmiażdżonych much kilkugodzinnych było 6 much silnie zakażonych. Dwie z nich zawierały po kilkaset tysięcy bakteryj (nie rozrzedzających żelatyny). Kał tych wszystkich much okazał się również zupełnie jałowy.

Jednak, ponieważ we wszystkich opisanych przypadkach miażdżono muchy bardzo młode, badany kał był właściwie meconium poczwarkowem, zbierającym się poniżej ujścia cewek Malpighi'ego. Można było przypuścić, że własności tego meconium ograniczają rozwój bakteryj jelitowych tylko do przednich i środkowych części przewodu. W szczególności chodziło o to, czy bakterje nie są czasem zlokalizowane w wolu, stanowiącem ślepe odgałęzienie przetyku, bardzo odległe od otworu odbytowego. Z drugiej strony, według Per e z a ('10), razem z meconium wydalone są resztki wyściółki nabłonkowej środkowej części przewodu larwalnego, stanowiące t. zw. ciało żółte. Bakterje, znajdujące się w przewodzie larwalnym, musiałyby przejść przedewszystkiem do tego ciała żółtego. W każdym razie rozstrzygnięcie tej sprawy wymagało jeszcze innych doświadczeń, o charakterze bardziej bezpośrednim. Najbardziej przekonujące byłoby porównanie zawartości bakteryj przewodu pokarmowego, wypreparowanego z ciała świeżo wylętej muchy albo dojrzałej nimfy, z zawartością reszty tkanek. Niestety, wypreparowanie (w sposób możliwie aseptyczny) całego przewodu muchy i oczyszczenie go od przylegających tkanek okazało się zadaniem technicznie bardzo trudnem, zwłaszcza ze względu na to, że tkanki i ściany przewodu świeżo wylętej muchy, a w jeszcze większym stopniu tkanki nimfy, są bardzo słabe i łatwo ulegają przerywaniu. Dużą odpornością natomiast odznacza się odcinek przewodu, przebiegający wzdłuż samego tylko tułowia (wraz z wolem, odgałęziającem się na długiej szypułce od przetyku i sięgającem aż do przedniej części odwłoka). Dlatego projektowane doświadczenie wykonano w sposób następujący: poczwarkę z ostatniego dnia rozwoju sterylizowano wodą bromową, przenoszono na arkusz papieru, wyciągano ze skórki i umieszczano grzbietem do góry. Następnie chwytano głowę nimfy pincetą i wrywano ją ostrożnie, przytrzymując tułów zapomocą cienkiego skalpela. Razem z głową zostaje wyrwany z tułowia cały przetyk i wole. Po

odcięciu, z jednej strony, głowy, a z drugiej, odwłoka, otrzymuje się dwa potrzebne elementy: pozbawioną przewodu rurę tkanek tułowiowych i odpowiedni (a nawet nieco dłuższy) odcinek przewodu pokarmowego. Każdy z tych elementów miażdżono osobno w wodzie i wylewano na szalkę. Tkanki tułowia miażdżono jak zwykle pincetą w probówce, zawierającej 1.0 — 1.5 cm³ wody, a odpowiedni odcinek przewodu rozcierano pałeczką szklaną w kropli wody w szalce Petriego. Uważano, aby wypreparowany przewód nie wysychał i przenoszono go do kropli wody natychmiast po wyciągnięciu z ciała nimfy. (Przekrój przez ciało muchy uwidacznia rys. 1).



Rys. 1. Przekrój schematyczny przez przewód pokarmowy muchy (wg. Graham-Smitha). Część zakreskowana przewodu była wyciągana razem z głową.

Fig. 1. Schematischer Längsschnitt des Verdauungskanals einer Fliege (noch Graham-Smith). Der schraffierte Teil des Verdauungskanals wurde samt dem Kopf herausgezogen.

Wyniki tych doświadczeń były zupełnie jasne i jednoznaczne. Podczas gdy na szalkach, zawierających sam przewód, wyrastało zwykle tylko kilka, najwyżej kilkadziesiąt kolonij, a niekiedy nie obserwowano nawet żadnego wzrostu, pozbawiony przewodu odpowiedni odcinek tułowia zawierał często po kilkaset, a w kilku przypadkach nawet po kilka tysięcy bakteryj. W oddzielonej od wypreparowanego przewodu głowie znajdowało się zawsze bardzo niewiele bakteryj, od zera do kilkadziesiątu, nawet wtedy, gdy tu-

łó w zakazony był olbrzymią ilością bakteryj. Z tego można wyciągnąć wniosek, że bakterje w tułowiu, a oczywiście również i w całym ciele, nie krążą swobodnie w hemolimfie, a są unieruchomione albo w jakiś sposób zamknięte w tkankach ciała. Gdyby bakterje znaj-

Tabela IV.

Zawartość bakteryj w rozmaitych częściach ciała dojrzałej nimfy.
Gehalt der Bakterien in verschiedenen Körperteilen der reifen Nympe.

Nr. nimfy	Głowa	Część przewodu pokarmowego, wypręparowana z tułowia (wraz z wolem)	Tułów pozbawiony przewodu pokarmowego	Hemolimfa wypływająca z tułowia po odcięciu głowy	Odwłok
Nr. der Nympe	Im Kopf	Im aus dem Thorax herauspräparierten Teil des Verdauungskanals (mit dem Kropf)	Im des Verdauungskanals beraubten Thorax	In der aus dem Thorax ausfließenden Hemolymph	im Abdomen
1	5	3	ca. 2 000	0	—
2	0	0	12	0	—
3	0	4	70	0	—
4	1	10	80	0	—
5	—	0	75	0	—
6	0	3	80	0	—
7	0	4	350	0	—
8	—	1	300	0	—
9	—	6	250	0	—
10	—	6	400	0	—
11	—	5	90	0	—
12	—	6	ca. 2 000	0	—
13	15	3	ca. 3 000	0	ca. 50 000
14	4	1	150	0	ca. 1 000 000
15	9	4	200	0	—

dowały się w hemolimfie, stosunek ilości bakteryj w głowie do ilości w tułowiu powinien być mniej więcej taki, jak wzajemny stosunek objętości, względnie wagi tych części ciała. Jest to tembardziej oczywiste, że bakterje wyizolowane z treści poczwarki okazały się przeważnie silnie ruchliwe i bardzo drobne, a przytem wiadomo, że system krwionośny owadów składa się z naczyń stosunkowo bardzo szerokich. W tych warunkach zakażenie lokalne krwioobiegu, ograniczone do tułowia i odwłoka, jest zupełnie wyłączone. Ostatecznym dowodem w tym kierunku

jest fakt, że limfa, wypływająca z tułowia po odcięciu głowy, okazywała się jałową, nawet wtedy, kiedy stopień zakażenia tułowia był bardzo znaczny.

Rezultaty badań nad lokalizacją bakteryj w ciele nimfy przedstawia tabela IV.

Przypomnieć tu jeszcze należy, że, jak wynika z rozdziałów poprzednich, bakterje zlokalizowane w tkankach, otaczających przewód pokarmowy nimfy, w ostatnim dniu rozwoju poczwarkowego i w pierwszych kilku godzinach życia imaginalnego ulegają całkowitej destrukcji.

IV. Badania jakościowe.

Badania, opisane w rozdziałach poprzednich, miały charakter wyłącznie ilościowy. Nie zajmowano się w nich ani różnieniem gatunków, wchodzących w skład „normalnej” flory larw i poczwarek, ani też zagadnieniem, jak się zachowują gatunki obce, zwykle nie występujące w przewodzie pokarmowym larwy.

Doświadczenia, poświęcone wyświetleniu tych kwestyj, polegały: 1° na wyizolowaniu gatunków najczęściej, czy też wyłącznie występujących w treści poczwarek jednodniowych, 2° na zbadaniu zapomocą metody czystych kultur, które z tych szczepów przeżywają do końca rozwoju nimfального i przechodzą z przewodu pokarmowego larwalnego do tkanek, 3° na zbadaniu, jak zachowują się w czystych kulturach bakterje obce, mianowicie *Bact. prodigiosum*, *Bact. pyocyaneum*, *Bact. coli*, *Bac. subtilis*, i rozstrzygnięciu pytania, czy dominowanie pewnych gatunków w florze jelitowej jest rezultatem działania selektywnego samej larwy, czy raczej rezultatem wzajemnych oddziaływań antagonistycznych różnych gatunków bakteryj.

Z poczwarek jednodniowych po zmiążdżeniu wyizolowano 6 gatunków bakteryj. Własności biochemiczne tych gatunków zostały podane w tabeli V. Najpospolitsze były gatunki nie rozrzedzające żelatyny, oznaczane literami A i B.

Tabela V.

Właściwości bakteryj, występujących w florze jelitowej dojrzałych larw.

Eingeschaften der in der Darmflora der reifen Maden auftretenden Bakterien.

	Gatunki — Arten					
	A	B	C	D	E	F
Temperatura optym. <i>Optimaltemp.</i>	ca 37 ^o	ca 37 ^o	ca 30 ^o	ca 37 ^o	30 ^o —37 ^o	ca 37 ^o
Ruch	+	+	—	+	—	—
Bewegung						
Długość pałeczek w 1/2 <i>Ausmasse</i>	0.7 × 0.3	0.7 × 0.3	0.5 kokki	0.7 × 0.3	0.7 × 0.3	2.0 × 0.5
Barwa kolonij na kartoflu <i>Farbe auf der Kartoffel</i>	żółta <i>gelb</i>	biała <i>weiss</i>	żółta <i>gelb</i>	biała <i>weiss</i>	bl.-żółta <i>gelb-weiss</i>	biała <i>weiss</i>
Rozrzedzenie żelatyny <i>Verflüssigung der Gelatine</i>	—	—	—	—	+	+
Dekstryna <i>Dextrin</i>	—	—	—	—	—	A
Glukoza <i>Glukose</i>	AG*)	A	—	—	—	A
Lewuloza <i>Lävulose</i>	AG	A	—	—	—	A
Galaktoza <i>Galaktose</i>	AG	A	—	—	—	—
Sacharoza <i>Rohrzucker</i>	—	—	—	—	—	A
Maltoza <i>Maltose</i>	—	—	—	—	—	A
Laktoza <i>Laktose</i>	—	—	—	—	—	—
Gliceryna <i>Glycerin</i>	—	—	—	—	—	—
Mannit <i>Mannit</i>	—	A	—	—	—	—
Duleyt, Sorbit <i>Dulcit, Sorbit</i>	—	—	—	—	—	—
Salicyna <i>Salicin</i>	—	A	—	—	—	—
Red. azotanów <i>Red. der Nitrate</i>	+	—	—	—	—	+
Indol <i>Indol</i>	+	—	—	—	—	—
H ₂ S	—	—	—	—	—	—
Gramfärbung	—	—	—	—	—	—
Barwienie Gram.						

*) A — kwas (*Säurebildung*). AG — kwas + gaz (*Säurebildung und Gasbildung*).

Ta flora „normalna” nie jest zdefiniowana zupełnie ściśle. Pomijając już to, że u różnych osobników przeważały jedno, albo drugie z wymienionych w tabeli gatunków, okazało się, że

do wnętrza poczwarek mogą przechodzić i inne bakterje. Po podaniu normalnym larwom, zdjętym z mięsa zakażonego i lekko wygłodzonym, mieszaniny surowego świeżego mięsa mielonego i buljonu, zawierającego młodą hodowlę *Bact. prodigiosum* lub *Bact. pyocyaneum*, można wykryć te gatunki w treści poczwarek zarówno młodych, jak i bardziej posuniętych w rozwoju.

W tych samych warunkach nie wykryto *Bact. coli* i pewnego gatunku sporowego, rozrzedzającego żelatynę.

Hodowla larw, zakażonych czystymi kulturami bakteryj, wymienionych w tabeli V, wykazała, że wszystkie te bakterje utrzymują się w tkankach nimfy aż do przedostatniego dnia rozwoju poczwarkowego, a w ostatnim dniu metamorfozy i pierwszych kilku, względnie kilkunastu godzinach życia imaginalnego ulegają zupełnej destrukcji.

Wbrew przewidywaniom okazało się, że i gatunki obce, normalnie nie wchodzące w skład flory poczwarkowej, zachowują się w ten sam sposób. Ilość bakteryj, utrzymujących się w ciele nimfy aż do końca metamorfozy, była naogół bardzo duża. Tabela VI podaje wyniki oznaczeń liczby bakteryj, znalezionych w poczwarkach i muchach, wyhodowanych z larw, zakażonych czystą kulturą *Bact. coli*. Dane liczbowe dla innych gatunków przedstawiają się podobnie.

Tabela VI.

Liczba bakteryj zawartych w poczwarkach, zakażonych czystą kulturą *Bact. coli*.
Zahl der in den mit Reinkultur von *Bact. coli* infizierten Puppen enthaltenen Bakterien.

Wiek poczwarek w dniach Alter der Puppen in Tagen	Liczba bakteryj. zawartych w poczwarkach (w tysiącach) Zahl der in den Puppen enthaltenen Bakterien (in Tausenden)		
	I poczwarka Puppe	II poczwarka Puppe	III poczwarka Puppe
1	800	100	7
5	500	100	120
9	400	300	350
Muchy jednodniowe 10 Eintägige Fliegen	0.000	0.012	0.020

Stosunkowo najstabiliej utrzymywał się w ciele nimfy *Bac. subtilis*. Największe trudności organizm nimfy miał do przecięcia w przypadku zakażenia czystą kulturą *Bact. pyocyaneum*. Na 13 zbadanych poczwerek, zakażonych *Bact. pyocyaneum*, dwie były zupełnie rozłożone i zawierały olbrzymie ilości żywych bakteryj.

Rezultaty doświadczeń, w których miażdżono muchy (co najmniej 24-godzinne), wyhodowane z larw, zakażonych czystymi kulturami rozmaitych bakteryj, zawiera tabela VII¹⁾.

T a b e l a VII.

Rezultaty miażdżenia much jednodniowych, zakażonych w stadium larwalnym czystymi kulturami rozmaitych bakteryj.

Bakteriengehalt in eintägigen im Madenstadium durch Reinkulturen verschiedener Bakterien infizierten Fliegen.

Gatunek bakteryj <i>Art der Bakterien</i>	Liczba much zbadanych <i>Zahl der untersuchten Fliegen</i>	Liczba much zawierających <i>Zahl der Fliegen die enthalten von:</i>		
		0 – 1 Bakt.	2 – 50 Bakt.	powyżej – über 100 Bakt.
A	6	5	—	1
B	7	6	1	—
C	8	8	—	—
D	3	3	—	—
E	3	3	—	—
F	2	2	—	—
<i>B. coli</i>	3	2	1	—
<i>B. prodigiosum</i>	1	1	—	—
<i>B. pyocyaneum</i>	3	1	1	1
<i>B. subtilis</i>	18	15	1	2

Bakterje obce, normalnie nie występujące w treści poczwerek, w czystej kulturze są więc tolerowane zarówno przez jelito dojrzałej larwy, jak i (aż do przedostatniego dnia metamorfozy) przez tkanki pozajelitowe rozwijającej się nimfy. Z tego wynika, że dominowanie pewnych gatunków w florze poczwarkowej jest rezultatem głównie

¹⁾ Jeszcze przed opanowaniem techniki aseptycznej hodowli larw przeprowadzono doświadczenie, w którym miażdżono muchy, wyhodowane z larw, karmionych mieszaniną mięsa mielonego z 20% ziemi ogrodowej (bakterje sporowe). Zbadano 37 takich much (5 dni po wylęgu). Tylko jedna zawierała około 50 i jedna 12 bakteryj. Reszta much (35) była aseptyczna.

wzajemnych działań antagonistycznych różnych bakteryj, a nie działania bakterjobjęczego selektywnego samego organizmu owada.

Z tego powodu należałoby z pewną ostrożnością odnosić się do metody leczenia ran zakażonych zapomocą larw much mięsnych (Brumpt '33) oraz do wyników Livingstone'a i Prince'a ('32), według których przesącze z miazgi larw muchy mięsnej działają destrukcyjnie na bakterje ropne. Ostrożność ta jest tembardziej usprawiedliwiona, że według dawniejszych doświadczeń Tebbuta ('12), przesącze z miazgi larw nie wywierają żadnego szkodliwego wpływu nawet na tak wrażliwy mikroorganizm, jakim jest *Bact. dysenteriae*.

Nie chcę jednak przez to zaprzeczyć praktycznej wartości tej metody. Być może, że larwy działają w jakiś sposób bezpośrednio na gojącą się ranę, lub że właściwym czynnikiem bakterjobjęczym są jakieś bakterje, należące do normalnej flory przewodu pokarmowego larw. Jeśli to ostatnie przypuszczenie byłoby słuszne, to stosowanie larw aseptycznych byłoby skuteczne tylko wtedy, jeśli sterylizacja jaj nie była zupełna i aseptyka była pozorna.

Są to oczywiście tylko przypuszczenia, wymagające sprawdzenia doświadczalnego.

Interpretacja wyników.

Wydaje mi się, że jedyną hipotezą, umożliwiającą powiązanie i wytłumaczenie stwierdzonych faktów, jest narazie hipoteza fagocytarna. W świetle tego poglądu zjawiska, zachodzące w stosunku do bakteryj w kolejnych stadjach metamorfozy, przedstawiałyby się w następujący sposób: podczas histolizy przewodu pokarmowego¹⁾ bakterje, przylegające do ścian przewodu zostają pochłonięte przez fagocyty i razem z nimi roz-

¹⁾ Według Peraza ('10) histolizie fagocytarnej ulegają tylko przedni i tylny odcinek przewodu; jelito środkowe histolizie nie ulega, jednak zjawiska analogiczne do fagocytozy zachodzą w jego świetle w stosunku do larwalnej wysięćki nabłonkowej, z której powstaje t. zw. ciało żółte. Utwór ten zostaje wydalony po wylęgu razem z meconium poczwarkowem.

proszone w jamie ciała. Ze względu na to, że po pewnym czasie fagocyty, przeładowane pochłoniętymi fragmentami tkanek, przybierają ogromną wielkość i zostają osadzone w tkankach, nie mając możliwości swobodnego poruszania się w hemolimfie, bakterje w nich zawarte również znikają z cieczy ciała, pojawiają się natomiast w tkankach, otaczających przebudowujący się przewód pokarmowy. Być może zresztą, że zjawisko przebiega trochę inaczej; np. bakterje z początku przenikają swobodnie do limfy, a dopiero później zostają wychwyteane przez fagocyty. Z kolei fagocyty zostają otoczone przez komórki, tworzące dokoła nich rodzaj kapsułki. Powstawanie takich kapsułek obserwował wielokrotnie Metalnikov i jego uczniowie po wprowadzeniu pod skórę gąsienicy *Galleria mellonella* dużych ilości rozmaitych bakteryj, przede wszystkim bakteryj gruźlicy (Biron '34). Gąsienice *Galleria* potrafią w ten sposób unieszkodliwiać dozę bakteryj, ważącą prawie 2 mg. Również inne ciała obce, jak np. cząsteczki karminu, wprowadzone pod skórę gąsienicy, zostają fagocytowane i zlokalizowane w kapsułkach (Metalnikov '24, Iwasaki '25).

Bakterje, uwięzione wewnątrz fagocytów i kapsułek, niezawsze giną natychmiast po pochłonięciu. Tak np. pałeczki trądu i gruźlicy, wprowadzone do jamy ciała patyczaka *Dixippus morosus*, w ciągu wielu tygodni żyją wewnątrz fagocytów i komórek olbrzymich. W ten sam sposób zachowują się bakterje trądu w ciele *Galleria mellonella* (Metalnikov i Toumanoff '23, Toumanoff '25). Jest to niezmiernie ciekawy i ważny dla niniejszych rozważań przykład symbiozy „sintetycznej”.

Bakterje, pochłonięte przez fagocyty podczas metamorfozy muchy mięsnej, prawdopodobnie zachowują się w ten sam sposób. Dopiero w ostatnim dniu rozwoju nimfального żywsza przemiana materji albo jakieś nieznanne procesy biochemiczne, zachodzące w limfie lub w samych tkankach, umożliwiają fagocytom zabicie uwięzionych w nich bakteryj. Ze względu na to, że proces destrukcji bakteryj jest najwyższy w pierwszych dwóch godzinach życia imaginalnego, kiedy w organizmie muchy zachodzą wybitne procesy utleniające (zmiana barwy okrywy chitynowej), można przypuszczać, że jakąś rolę w tem pobudzeniu fagocytów

mogą pełnić bliżej nieokreślone reakcje tlenowe. Pewne poparcie tej hipotezy daje praca Hollande'a ('20), według którego podczas fagocytozy zachodzą jakieś reakcje utleniające, doprowadzające do wytworzenia charakterystycznego ciemnego barwika. Powstawanie ciemnego barwika wewnątrz fagocytów obserwowała również Biron ('34).

Oczywiście, przypisywanie charakteru oksydacyjnego zjawiskom destrukcji bakterij podczas pierwszych kilku godzin po wylęgu jest narazie tylko jeszcze jedną hipotezą, wymagającą dalszych badań. W miazdze, otrzymanej przez roztarcie muchy w 1 cm³ wody destylowanej (kilka minut po opuszczeniu puparium), proces destrukcji bakterij nie zachodzi.

Hipoteza fagocytarna uwzględnia tylko zjawiska, zachodzące w tkankach owada. Pozostaje jeszcze do wyjaśnienia, dlaczego bakterje giną w przewodzie pokarmowym, zwłaszcza w jelicie środkowym, do którego, według Pereza ('10), fagocyty nie dochodzą. Być może, że rolę fagocytów pełnią w tym przypadku komórki własne jelita, otaczające i przerastające zrzucony do światła jelita nabłonek larwalny (powstawanie „ciała żółtego”, Perez '10). Możliwe też, że w jelicie środkowym działają jakieś specyficzne czynniki bakterjobójcze, ujawniające się dopiero podczas metamorfozy. Warto może zaznaczyć, że w środkowej części jelita środkowego larwy panuje reakcja silnie kwaśna (pH = 3.2 Hobson '31, '32).

Ostateczne rozwiązanie tej sprawy wymaga bezpośredniej obserwacji mikroskopowej zapomocą metod histologicznych. Wydaje mi się, że do badań tych należałoby użyć nie larw normalnych, a larw aseptycznych, zakażonych czystą kulturą jakiejś bakterji o dostatecznie dużych wymiarach, np. *Bact. pyocyaneum* albo *Bact. prodigiosum*.

Wracając jeszcze do zjawisk, zachodzących w tkankach, należy stwierdzić, że stosunki pomiędzy bakterjami i organizmem owada stanowią podczas rozwoju nimfального rodzaj „symbiozy intracelularnej”, niespecyficznej i kończącej się zniszczeniem bakterij z chwilą przejścia rozwijającego się organizmu do życia imaginalnego. Mogłoby to służyć na poparcie poglądu, że i powstanie symbiozy intracelularnej trwałej posiada w zasadzie

charakter reakcji obronnej organizmu przeciwko infekcji (S c h w a r t z '35).

Nie wydaje mi się, aby zjawiska, zachodzące w toku rozwoju muchy mięsnej, przebiegały w identyczny sposób u wszystkich owadów. Sądząc z pracy P o j a r k o w a ('27), u jedwabnika dominują zjawiska odporności jelitowej. Z innych owadów badane były tylko chrząszcze (*Tenebrio molitor*) przez B u t s c h a ('26), który stwierdził, że bakterje z przewodu pokarmowego larwy zostają usunięte w sposób mechaniczny razem z wyściółką nabłonkową podczas ostatniej wylinki.

Nie wspominam tu o zjawiskach przenoszenia pewnych gatunków mikroorganizmów chorobotwórczych przez niektóre owady (muchy tse-tse, wszy, komary), ponieważ zjawiska te noszą raczej charakter infekcji, specyficznej dla danego gatunku owadów.

S t r e s z c z e n i e w y n i k ó w .

1°. Normalne jaja *Calliphora* nie zawierają bakteryj. Po odpowiedniej sterylizacji ich powierzchni zewnętrznej można otrzymać przeszło 99% larw aseptycznych. Larwy zakażają się dopiero po wykluciu.

2°. Larwy przystępujące do zapoczwarczenia oraz poczwarki kilku godzinne i starsze zawierają olbrzymią ilość bakteryj (do 2.000.000 w jednym osobniku, por. tabela II). Ta flora normalna składa się zwykle z 6 gatunków bakteryj, występujących u różnych osobników w różnym stosunku ilościowym. Dominujące są gatunki, oznaczone w tabeli V literami A i B.

3°. *Bact. pyocyaneum* i *Bact. prodigiosum* po podaniu ich larwom (zakażonym) w ostatniej partji pożywienia przechodzą do wnętrza poczwarek. W tych samych warunkach nie wykryto we wnętrzu poczwarek *Bact. coli*. Z tego wynika, że skład flory normalnej nie jest ustalony zupełnie ściśle i w pewnym stopniu zależy od składu bakteryjnego pożywienia larwy.

4°. W czystych kulturach, otrzymanych przez zakażenie poszczególnymi gatunkami bakteryj aseptycznych hodowli larw, wszystkie zbadane bakterje przechodziły do wnętrza poczwarek. Wytworzenie się flory normalnej zachodzi więc głównie dzięki

grze antagonizmów poszczególnych gatunków bakteryj, a nie wskutek działania bakterjobójczego samego jelita. Nie jest jednak wyłączona możliwość działania hamującego jelita na niektóre gatunki bakteryj.

5°. W toku rozwoju bakterje znikają z przewodu pokarmowego larwalnego i przechodzą do tkanek nimfy. W tkankach tych zostają zlokalizowane w sposób uniemożliwiający im przechodzenie do hemolimfy i przewodu pokarmowego imaginalnego (tabela IV).

6°. Ilość bakteryj w poczwarkach nie ulega wyraźniejszym zmianom aż do przedostatniego dnia rozwoju poczwarkowego (tabela II). Szybkie rozmnażanie się bakteryj w poczwarkach zachodzi jedynie w osobnikach martwych.

7°. W ostatnim dniu rozwoju poczwarkowego zachodzi gwałtowna destrukcja bakteryj, zlokalizowanych w tkankach nimfy. Proces ten zachodzi szybko i zostaje zakończony zwykle po upływie kilku godzin od wyklucia się młodej muchy. W nielicznych przypadkach bakterje występują w ciele muchy w niewielkiej ilości (kilkanaście do kilkudziesięciu) jeszcze na drugi dzień po wykluciu. Olbrzymia większość jednak już po upływie kilku godzin nie zawiera w tkankach (ani w przewodzie pokarmowym) ani jednej żywej bakterji (tabela III).

8°. Bakterje obce, podane larwom w czystej kulturze, zachowują się zasadniczo w ten sam sposób, jak bakterje, stanowiące pospolite składniki flory poczwarkowej. Dotyczy to zarówno gatunków niesporowych (*Bact. coli*, *Bact. prodigiosum*, *Bact. pyocyaneum*), jak i sporowych (*Bac. subtilis*) (tabela VI, VII).

9°. Na podstawie stwierdzonych powyżej faktów można przypuszczać, że mechanizm odpornościowy, działający w toku rozwoju muchy mięsnej, posiada przedewszystkiem charakter komórkowy. Hipoteza ta może wytłumaczyć zjawiska przechodzenia bakteryj z przewodu pokarmowego larwalnego do tkanek

oraz zlokalizowania ich w tkankach (a nie w hemolimfie) w późniejszych stadiach rozwojowych.

W świetle tego poglądu stosunki, zachodzące pomiędzy organizmem owada i zakażającymi go bakteriami, stanowiłyby rodzaj okresowej i niespecyficzej intracelularnej „symbiozy”. Może to służyć za poparcie poglądu, że również powstanie typowej symbiozy intracelularnej trwałej posiada w zasadzie charakter reakcji obronnej organizmu przeciwko infekcji (Schwartz '35).

Panu Profesorowi Dr. K. B a s s a l i k o w i, Kierownikowi Zakładu Fizjologii Roślin U. J. P., najuprzejmiej dziękuję za udzielone mi cenne wskazówki.

P i ś m i e n n i c t w o .

Bacot A. W. 1911. The persistence of *Bac. pyocyaneus* in pupae and imagines of *Musca domestica* raised from larvae experimentally infected with the bacillus. *Parasitology* 4 (68—74). — Bacot A. W. 1912. On the survival of bacteria in the alimentary canal of fleas during metamorphosis from larva to adult. *Journ. Hyg. Plague Suppl.* I. (645). — Bogdanow E. A. 1906. Über das Züchten der Larven der gewöhnlichen Fleischfliege (*Calliphora vomitoria*) in sterilisierten Nahrungsmitteln. *Arch. f. ges. Physiol.* 113 (97—105). Bogdanow E. A. 1908. Über die Abhängigkeit des Wachstums der Fliegenlarven von Bakterien und Fermenten und über die Variabilität und Vererbung bei den Fleischfliegen. 1908. Supplementband (173—199). — Biron M. 1934. Étude de l'immunité des chenilles de *Galleria mellonella* envers les différents types de bacilles tuberculeux. *Ann. Inst. Past.* 53 (404—417). — Brumpt E. 1933. Utilisation des larves de certaines mouches pour le traitement de l'ostéomyélite et de diverses affections chirurgicales chroniques (Revue critique). *Ann. Parasit. Hum. Comp.* 11 (403—417). — Buchner P. 1930. Tier und Pflanze in Symbiose. (1—900). — Butsch W. 1926. Über die Beeinflussung einiger Bakterienarten beim Durchgang durch den Darm von Insektelarven. *Tierärztliche Rundschau* 4 (57)*. — Cao. 1906. Sul passaggio dei germi a traverso le larve di alcuni insetti. *Ann. Ig. sper.* 16 (645)*. — Daniels. 1904. Observation on the diseases of British Malaya. *Studies Inst. Med. Res., Federated Malay States*, 3 (56)*. — Duncan T. J. 1926. On a bactericidal principle present in the alimentary canal of insects and arachnids. *Parasitology*, 18 (238—252). — Faichnie N. 1909. Fly borne enteric fever, the source of infection. *Journ. Royal Army Med. Corps*, 13 (580)*. — Galli-Valerio B. 1910. L'état actuel de nos connaissances sur le rôle des mouches dans la dissémination des maladies parasitaires et sur les moyens de lutte à employer contre elles. *Centr. f.*

Bakt. Orig. 54 (193). — Glaser R. W. 1923. The survival of bacteria in the pupal and adult stages of flies. Amer. Journ. Hyg. 3 (469—480). — Graham-Smith. 1914. Flies in relation to disease. Non — bloodsucking flies. Cambridge University Press. pp. 1—389. — Hevitt Gordon C. 1914. The house-fly. Its structure, habits, development, relation to disease and control. Cambridge University Press. pp. 1—382. — Henniger E. 1928. Dipteren als Überträger von Tierkrankheiten. Ein Sammelbericht. Centr. f. Bakt. Ref. 88 (433—461). — Hollande A. Ch. 1920. La formation du pigment brun — noir (melanine) au cours de la phagocytose chez les Insectes. C. R. Biol. 83 (726). — Hollande A. Ch. 1930. La digestion des bacilles tuberculeux par les leucocytes du sang des chenilles. Arch. Zool. Exp. 70 (231—280). — Hobson R. P. 1931. Studies on the nutrition of blow — fly larve. I. Structure and function of the alimentary tract. Journ. Exp. Biol. 8 (109—123). — Hobson R. P. 1932. Studies on the nutrition of blow — fly larve. II. Role of the intestinal flora in digestion. Journ. Exp. Biol. 9 (128—138). — Iwasaki Y. 1926. L'enkystement de corps étrangers aseptiques chez la chenille de *Galleria*. C. R. Soc. Biol. 95 (98—100). — Krontowski A. 1913. Zur Frage über Typhus und Dysenterieverbreitung durch Fliegen. Centr. f. Bakt. Orig. 68 (586). — Leach J. G. 1926. The relation of seed — corn maggot (*Phorbia fusciceps* Zett.) to the spread and development of potato blackleg in Minnesota. Phytopathology 16 (149—175). — Ledingham J. C. G. 1911. On the survival of specific microorganisms in pupae and imagines of *Musca domestica*, raised from experimentally infected larvae. Experiments with *B. typhosus*. Journ. of Hyg. 11 (333—340). — Livingston S. K. and Prince L. H. 1932. — The treatment of chronic osteomyelitis with special reference to the use of the maggot active principle. Journ. Amer. Med. Ass. 98 (1143—1149). — Metalnikov S. et Toumanoff K. 1923. La lèpre chez les Insectes. C. R. Soc. Biol. 89 (935). — Metalnikov S. 1924. Phagocytose et réactions des cellules dans l'immunité. Ann. Inst. Pasteur. 38 (787—826). — Metalnikov S. 1927. L'infection microbienne et l'immunité chez la mite des abeilles (*Galleria mellonella*). Monographie de l'Inst. Past. Masson Ed.* — Muzzarelli E. 1925. Sul passaggio di alcuni microorganismi patogeni attraverso l'intestino delle mosche carnarie. Ann. d'Ig. 35 (219—228). — Nicholls L. 1912. The transmission of pathogenic microorganisms by flies in Santa-Lucia. Bull. Ent. Res. 8 (81—88). — Paillot A. 1933. Infection chez les Insectes. Immunité et symbiose. Imp. de Trevoux G. Patissier (pp. 1—535). — Perez Ch. 1910. Recherches histologique sur la metamorphose des Muscides: *Calliphora erythrocephala* Mg. Arch. Zool. Exp. Gen. 4 (1—274). — Petrag-nani G. 1925. La mosca e sempre batterifera sin della nascita. Sperimentale Ig. 79 (493—502)*. — Pojarkow E. 1927. Die Darmimmunität bei Seidenwürmern. Russ. Fizjol. Zurn. Secz. 10 (157—162). — Russo C. 1931. Recherches expérimentales sur l'épidémiogénèse de la peste bubonique par les Insectes. Bull. Office inter. Hyg. publ. 22 (2108—2120). — Schuckmann W. 1926. Über Fliegen, besonders ihre Rolle als Krank-

heitsüberträger und Krankheitserreger und über ihre Bekämpfung. Ein Sammelbericht. Centr. f. Bakt. Ref. 81 (481 — 505, 529 — 568). — Schwartz W. 1932. Untersuchungen über die Symbiose von Tieren mit Pilzen und Bakterien. II Mitteilung-Neue Untersuchungen über die Pilzsymbiose der Schildläuse (Lecaniinen). Arch. f. Mikrobiol. 3 (453—472). — Schwartz W. 1935. Untersuchungen über die Symbiose von Tieren mit Pilzen und Bakterien. IV Mitteilung. Der Stand unserer Kenntnisse von den physiologischen Grundlagen der Symbiose von Tieren mit Pilzen und Bakterien. Arch. f. Mikrobiol. 6 (369—460) Sammelbericht. — Tebbut H. 1912. On the influence of the metamorphosis of *Musca domestica* upon bacteria administered in the larval stage. Jl. Hyg. 12 (516—526). — Tumanoff K. 1925. La tuberculose expérimentale chez le Phasme *Di-xippus morosus*. C. R. Soc. Biol. 92 (14). — Wollman E. 1911. Sur l'élevage des mouches steriles. Contribution à la connaissance du rôle des microbes dans les voies digestives. Ann. Inst. Past. 25 (79 — 88). — Wollman E. 1921. Le rôle des mouches dans le transport des germes pathogènes, étudié par la methode des élevages aseptiques. Ann. Inst. Past. 35 (431 — 449). — Wollman E. 1922. Biologie de la mouche domestique et des larves de mouches à viande, en élevages aseptiques. Ann. Inst. Past. 36 (784—788).

Prac oznaczonych * nie znam w oryginalne.

[Pracownia Fizjologii Ogólnej Wolnej Wszechnicy Polskiej].
Praca N° 11.

M. Szulzingerówna i H. Kaluska.

**Hodowle *Paramecium caudatum* i *Colpidium colpoda*
na różnych podłożach naturalnych.**

*L'influence des différents milieux naturels de la culture sur la multiplication et le fonctionnement de la vésicule pulsatile des infusoires (*Paramecium caudatum* et *Colpidium colpoda*).*

Rękopis nadesłany w dniu 23.II.1936 r.

Les auteurs ont étudié la vitesse de multiplication des infusoires mentionnés dans les différentes concentrations des infusions du chou, du foin et des feuilles. On a mesuré la teneur en substance sèche, azote, cendres et la valeur de la pression osmotique de dites solutions (tabl. I). Deux sortes des cultures ont été préparées: les cultures individuelles et les grandes cultures. Les cultures individuelles ont été préparées dans de petits récipients (5 cm³) renfermants 1 cm³ d'infusion voulue. Dans chaque récipient on a introduit un seul individu. Pour les grandes cultures on a employé les bocaux du volume 1½ litre avec 250 cm³ de l'infusion. On a mesuré la vitesse de la multiplication (*Paramecium*, *Colpidium*) et la vitesse de formation de la vésicule pulsatile (*Paramecium*). On a fait en même temps les mesures du pH de la culture. Il résulte de nos recherches, que la vitesse de multiplication et de formation de la vésicule pulsatile différent beaucoup suivant le milieu employé. Les différences mentionnées dépendent de la qualité et de la concentration du milieu. Les meilleures conditions de la multiplication ne sont pas réalisées de la même manière pour *Paramecium* et *Colpidium*. Ainsi par exemple *Paramecium* se multiplie mieux dans les solutions du foin diluées, tandis que *Colpidium* préfère

les solutions concentrées. Quant au fonctionnement de la vésicule pulsatile elle présente, auprès de différences manifestes du temps de formation dans les solutions des différentes concentrations d'infusion, encore des changements de la vitesse, qui restent en rapport avec le cycle évolutif de la culture. Les auteurs ont exécuté quelques séries d'expériences dans lesquelles ils ont préparé les milieux des cultures ayant la même teneur en azote et la même pression osmotique. Il ressort de ces expériences que les différences de la multiplication et de la pulsation, ne dépendent qu'en faible mesure des facteurs cités plus haut. De même les différences mentionnées ne sont pas en rapport immédiat avec l'action toxique des infusions employées. Alors il faut chercher la cause de l'action decrite dans la composition chimique des infusions. On a exécuté quelques expériences dans lesquelles on a employé pour préparer le milieu de la culture les solutions des cendres, obtenus par l'évaporation et l'incinération des infusions. Il résulte de ces dernières expériences, que les différences dans le comportement des infusoires dans les divers milieux étudiés semblent rester en rapport en partie au moins, avec les différences dans leur composition minérale et en partie avec la teneur en substances organiques spécifiques.

Peters ('06, '07, '08) w szeregu podstawowych prac ustalił charakter cyklu i następcość rozwoju poszczególnych pierwotniaków w hodowlach „dzikich” i „sztucznych”. Badania Petersa zapoczątkowały cały szereg poszukiwań późniejszych, w których liczni autorzy starali się ustalić znaczenie poszczególnych czynników w życiu hodowli. Prace Wooldruffa, J. i T. Vievegerów i wielu innych wyjaśniły w znacznym stopniu wpływ ilości pokarmu, produktów przemiany materji, ciśnienia osmotycznego, stężenia jonów wodorowych na rozwój i wymieranie hodowli jednogatunkowych. Badania powyższe w niewielkim natomiast stopniu przyczyniły się dotychczas do wyświetlenia przyczyn kolejności występowania, zaniku, różnic w nasileniu ilościowym i czasie trwania poszczególnych gatun-

ków w hodowli wielogatunkowej. Już w czasie wykańczania niniejszego przyczynka ukazała się praca Gause ('35), która ujmuje powyższe zagadnienie dla dwóch gatunków *Paramecium* (*caudatum* i *aurelia*). Tem niemniej kwestja pozostaje, z wyłączeniem drobnego odcinka zbadanego, w znacznym stopniu niewyjaśniona.

Zagadnienie jest przytem skomplikowane. W rozważaniach nad przebiegiem rozwoju poszczególnych gatunków w hodowlach należy się liczyć zarówno z ich odrębnymi cechami biologicznymi, jak i z niejednakową przydatnością jednego i tego samego podłoża dla różnych gatunków. Praca niniejsza stanowi wstęp do systematycznych badań, zmierzających do wyświetlenia poruszonego zagadnienia. Poszukiwania nasze miały na celu ustalenie znaczenia składu pożywki, wpływu tegoż składu na rozwój hodowli jednogatunkowych *Paramecium* i *Colpidium*. W dalszych badaniach, które są w toku, uwzględniamy rozwój hodowli mieszanych (dwugatunkowych). Z pomiędzy wielu możliwych do zastosowania składów podłoża zatrzymałyśmy się na wyciągach z siana, kapusty i liści (klonowych). Kierowałyśmy się przy wyborze wymienionych podłoży zarówno tem, że były one i są często stosowane, jak i tem, że ze względu na swój skład zbliżają się one do pożywek naturalnych, spotykanych w przyrodzie, i wreszcie, że dają większą gwarancję wystarczalności, aniżeli pożywki syntetyczne. Punktem wyjścia były wywary, otrzymane przez wygotowanie większych ilości odpowiedniego materiału roślinnego w wodzie wodociągowej. W postaci stężonych roztworów były one przechowywane w naczyniach szklanych w stanie jałowym. W powyższych wywarach oznaczyłyśmy zawartość suchej masy, azotu, popiołu, oraz ciśnienie osmotyczne (tab. I). Wywar z kapusty wykazał największą zawartość suchej masy, azotu i dość znaczne ciśnienie osmotyczne. Drugie miejsce pod tym względem zajmuje wywar sianowy (zawiera natomiast więcej popiołu).

Pożywki, stosowane przez nas, sporządzane były przez rozcieńczanie wywarów pierwotnych przegotowaną wodą wodociągową lub destylowaną.

Tabela I.

Zawartość, w mg substancji suchej, popiołu i azotu w 1 cm³ wywaru oraz Δ wywarów.
Teneur (en mg) de la substance sèche, des cendres et d'azote dans 1 cm³ de l'infusion et Δ des infusions.

Wywar — Infusion	Substancja sucha <i>Substance sèche</i>	Popiół <i>Cendres</i>	N	Δ
z kapusty <i>du chou</i>	35.8	5.13	2.698	0.386
z siana <i>du foin</i>	24.3	9.7	0.313	0.211
z liści <i>des feuilles</i>	7.02	1.61	0.274	0.046

Badania nasze dotyczyły: a) mnożenia się wymoczków w różnych stężeniach poszczególnych wywarów, b) działania wodniczka tętniącego. Na wodniczka tętniącego zwróciliśmy uwagę ze względu na wyniki badań E i s e n b e r g - H a m b u r g o w e j ('24), która ustaliła dużą prawidłowość działania wodniczka w stałych warunkach środowiska, jak również znaczną wrażliwość na zmiany w składzie środowiska zewnętrznego, zwłaszcza na działanie czynników, zmieniających przepuszczalność komórki i intensywność przepływu wody. Zaznaczyć należy, że w pracy E i s e n b e r g - H a m b u r g o w e j napotykamy na pewne dane, które wskazują, że u wymoczków, pochodzących z różnych zbiorników naturalnych, występują różnice w okresach czasu tworzenia się wodniczka. Staraliśmy się ustalić, w jakim stopniu powyższe różnice pozostają w związku ze składem pożywek. Ze względu przytem na obecność wielu wodniczków tętniących u *Colpidium* i wpływającą stąd trudność dokładnej obserwacji, badałyśmy zachowanie się wodniczka tętniącego wyłącznie u *Paramecium*. Czynyliśmy to w sposób, ustalony przez E i s e n b e r g - H a m b u r g o w ą, t. j. umieszczaliśmy wymoczek w kropli wiszącej i obliczałyśmy średni czas 5 kolejnych skurezów (wodniczka przedniego) na 10 osobnikach (przeciętna odpowiada zatem 50 pomiarom).

Wymoczki, używane w niniejszej pracy, pochodziły z jednego źródła, z linii ciągłych (*Paramecium* i *Colpidium*), hodowanych w pracowni, z których oddzielałyśmy co pewien czas materjał niezbędny do doświadczeń.

Serje porównawcze doświadczeń były wykonywane w jednakowych warunkach temperatury, naświetlenia i t. p.

W celu ustalenia przebiegu mnożenia się wymoczków na wyżej omawianych podłożach, sporządzaliśmy dwa rodzaje hodowli: indywidualne i masowe. Hodowle indywidualne prowadziłyśmy w szklanych klockach w 1 cm³ pożywki. Wprowadzaliśmy zawsze pojedynczego osobnika i sprawdzałyśmy następnego dnia liczbę osobników potomnych. Hodowle masowe były sporządzane w słojach 1½-litrowej pojemności, w 250 cm³ pożywki. Do pożywki wprowadzaliśmy określoną liczbę wymoczków (*Paramecium* lub *Colpidium*), pochodzących z podziału jednego osobnika, oddzielonego z linii ciągłej. Sprawdzałyśmy: liczbę wymoczków w hodowli (metodą, podaną przez J. i T. V i e w e g e r ó w '18), działanie wodniczka tętniącego i zmiany pH hodowli (metodą mikrokolorymetryczną).

Tabela II.

Mnożenie się *Paramecium* i *Colpidium* w hodowlach indywidualnych w różnych stężeniach wywaru.

Multiplication d'infusoires dans les cultures individuelles dans les infusions des différentes concentrations.

Paramecium.

Rodzaj pożywki	Stężenie pożywki					Pożywki izo- azotowej 1 cm ³ 0.0548 mg N dans 1 cm ³ d'in- fusion	Pożywki izo- osmotyczne	
	Concentration d'infusion						des infusions	
<i>Infusion</i>	1/5	1/10	1/20	1/30	1/40		0.02 ⁰	0.01 ⁰
Liczba osobników po upływie 48 godzin								
<i>Nombre d'infusoires après 48 heures</i>								
Kapusta	—	4.3	6.8	11.5	9.3	2.5	2.7	2.0
<i>Chou</i>								
Siano	—	0	4.8	6.0	9.5	1.8	1.8	2.5
<i>Foin</i>								
Liście	—	0	3.7	4.7	2.0	1.0	0.0	1.0
<i>Feuilles</i>								
Liczba doświadczeń	—	9	9	9	9	12	7	4
<i>Nombre d'expériences</i>								

Colpidium.

Liczba osobników po upływie 24 godzin								
<i>Nombre d'infusoires après 24 heures</i>								
Kapusta	2.0	6.6	12.1	14.8	10.3	10.0	13.4	—
<i>Chou</i>								
Siano	13.1	12.1	8.4	8.3	8.7	11.5	11.6	—
<i>Foin</i>								
Liście	0.4	2.0	3.7	4.4	7.8	6.3	0.15	—
<i>Feuilles</i>								
Liczba doświadczeń	9	9	9	9	9	8	6	—
<i>Nombre d'expériences</i>								

Rozpatrzmy najpierw wyniki, otrzymane dla hodowli indywidualnych. Rzut oka na dane tab. II pozwala stwierdzić, że szybkość mnożenia się wymoczków zależy od rodzaju i stężenia pożywki. Zależność przytem jest niejednakowa dla obu gatunków badanych; *Paramecium* i *Colpidium*. *Paramecium* mnoży się lepiej w słabszych stężeniach pożywek. Optymum dla pożywki z kapusty występuje w stężeniu $\frac{1}{30}$, siana $\frac{1}{40}$, liści $\frac{1}{30}$. Naogół mnożenie się zachodzi szybciej na wywarze z kapusty, niż z siana, a zwłaszcza z liści. *Colpidium* również mnoży się lepiej w pożywce rozcieńczonej z kapusty (optym. $\frac{1}{30}$) lub z liści ($\frac{1}{40}$); natomiast dla wywaru sianowego optimum przypada w wyższych stężeniach ($\frac{1}{5}$ — $\frac{1}{10}$). Najmniej przydatna okazała się pożywka z liści; w pożywce sianowej i z kapusty mnożenie może osiągnąć zbliżony stopień natężenia (4 podziały na dobę), aczkolwiek zachodzi to w różnych rozcieńczeniach wywaru (kapusta — $\frac{1}{30}$, siano — $\frac{1}{5}$).

Jak zatem widzimy, występują znaczne różnice w mnożeniu się wymoczków na podłożach rozpatrywanych, zależne od jakości i rozcieńczenia pożywki, przyczem różnice powyższe występują niejednakowo u obydwu gatunków.

Było rzeczą ciekawą stwierdzić, czy i w jakim stopniu mnożenie się wymoczków w poszczególnych pożywkach pozostaje w zależności od działania zabójczego wywarów. Z pracy J. V i e w e g e r ('30) wiemy, że wyższe stężenia wywaru sianowego są zabójcze dla *Colpidium*. Wykonałyśmy serję doświadczeń, w których ustaliłyśmy, w jakich stężeniach wymoczki giną w przeciągu 6 godzin. Okazało się, że dla *Paramecium* wszystkie wywary są zabójcze w rozcieńczeniu trzykrotnem, dla *Colpidium* — wywar sianowy w rozcieńczeniu dwukrotnem, pozostałe — w rozcieńczeniu trzykrotnem. Widzimy zatem, że pod tym względem niema natyle wyraźnych różnic w działaniu zabójczem poszczególnych wywarów, żeby mogły one tłumaczyć opisane poprzednio różnice w mnożeniu się wymoczków. Zasluguje na podkreślenie, że o ile optimum mnożenia się *Colpidium* w pożywce sianowej ($\frac{1}{5}$) bardzo niewiele odbiega od stężenia zabójczego ($\frac{1}{2}$), to dla innych pożywek i dla *Paramecium* stężenia optymalne są dalekie od stężenia zabójczego.

Wyżej wspomnieliśmy, że poszczególne wywary znacznie się różniły zawartością azotu i składników osmotycznie czynnych. W celu ujawnienia, w jakim stopniu różnice w mnożeniu się wymoczków wypływają z powyższych odrębnych właściwości pożywek, wykonaliśmy dwie serje doświadczeń, w których dobrałyśmy takie stężenia pożywek, że zawierały one w 1 cm³ jednakową ilość azotu, wzgl. wywierały jednakowe ciśnienie osmotyczne. W pierwszym przypadku stosowałyśmy następujące rozcieńczenia wywaru: siedmiokrotne dla siana, 50-krotne dla kapusty i sześciokrotne dla liści; rozcieńczenia powyższe odpowiadały zawartości azotu 0.0548 mg w 1 cm³ pożywki. Z porównania odnośnych danych wynika, że w tych warunkach mnożenie się *Colpidium* w pożywce z kapusty i z siana nie wykazuje znacznych różnic, natomiast zachodzi znacznie wolniej w pożywce z liści. Dla *Paramecium* optymalne warunki mnożenia są zrealizowane w pożywce z kapusty, najgorsze w wywarze z liści. W drugim przypadku zastosowałyśmy pożywki w stężeniach, odpowiadających Δ 0.02^o i 0.1^o. Stężenie pierwsze odpowiadało rozcieńczeniu wywaru: dziesięciokrotnemu dla siana, 20-mu dla kapusty, 2-mu dla liści. *Paramecium* i *Colpidium* mnoży się w tych warunkach mniejwięcej jednakowo w wywarze z kapusty i z siana (może z pewną przewagą dla pożywki sianowej o Δ 0.02^o), znacznie gorzej w wywarze z liści. Z powyższego widzimy, że przyrównanie wartości odżywczych pożywki (źródła N) i zawartości składników osmotycznie czynnych zmniejsza w pewnym stopniu różnice, jakie występują w mnożeniu się *Paramecium* i *Colpidium* w pożywkach różnego pochodzenia, jednakże nie usuwa powyższych różnic całkowicie. Nasuwa się wobec tego pytanie, czy powyższe różnice nie pozostają w związku z odrębnym składem popiołu lub też obecnością specyficznych substancyj w wywarach. Zanim jednak odpowiemy na to pytanie, rozpatrzmy rozwój hodowli masowych wymoczków. W doświadczeniach tych stosowałyśmy pożywki w rozcieńczeniu $\frac{1}{20}$ i serję pożywek o jednakowej zawartości azotu [0.0548 mg N w 1 cm³ pożywki]. Zestawienie odpowiednich danych zamieściliśmy w tab. III. Rozwój hodowli *Paramecium* i *Colpidium* na pożywce z siana i z kapusty początkowo nie wykazuje różnic, występują one dopiero po 5 — 6 dniach. Maksimum liczbowe wy-

moczków jest znacznie wyższe w hodowlach na podłożu z kapusty. Dla *Paramecium* różnica jest około dziesięciokrotna, odpowiada zatem różnicy w zawartości N w pożywkach. Dla *Colpidium* różnica w ilościowym rozwoju hodowli na podłożu z siana i kapusty jest znacznie mniejsza. W hodowlach na podłożu z liści *Colpidium* już po paru dniach mnoży się znacznie wolniej, niż w pozostałych pożywkach. Dla *Paramecium* wyraźna różnica występuje po 5 dniach. Maksymalna liczba wymoczków jest znacznie niższa w hodowli z liści, niż w pozostałych pożywkach.

Tabela III.

Rozwój hodowli masowych *Paramecium* i *Colpidium* (kol. I) w pożywkach rozcieńczonych w stosunku $1/2$, i w pożywkach o jednakowej zawartości azotu (0.0548 mg kol. II).

Le développement des cultures de Paramecium et Colpidium dans les infusions diluées 20 fois et dans les infusions renfermant la même quantité d'azote (0.0548 mg dans 1 cm³).

Paramecium.

Rodzaj pożywki	I				II			
	Maksymalna liczba wymoczków w 1 cm ³ hodowli <i>Nombre maximal d'infusoires dans 1 cm³ de la culture</i>	Ilość dni ubiegłych <i>Nombre de jours écoulés</i>	Maksymalne pH hodowli <i>Valeur maximale de pH de la culture</i>	Ilość dni ubiegłych <i>Nombre de jours écoulés</i>	Maksymalna liczba wymoczków w 1 cm ³ hodowli <i>Nombre maximal d'infusoires dans 1 cm³ de la culture</i>	Ilość dni ubiegłych <i>Nombre de jours écoulés</i>	Maksymalne pH hodowli <i>Valeur maximale de pH de la culture</i>	Ilość dni ubiegłych <i>Nombre de jours écoulés</i>
Kapusta <i>Chou</i>	887	8	7.6	13	857	8	7.8	7
Siano <i>Foin</i>	90	11	7.2	12	775	17	7.2	13
Liście <i>Feuilles</i>	147	8	7.3	12	325	7	6.8	13

Colpidium.

Kapusta <i>Chou</i>	7838	6	7.4	10	6915	10	7.4	16
Siano <i>Foin</i>	2592	6	7.0	10	10858	10	7.2	16
Liście <i>Feuilles</i>	369	10	6.7	10	1133	11	6.8	11

Rozwój hodowli o jednakowej zawartości N wykazał znaczne różnice w porównaniu z serją poprzednio opisaną. Uderza znacznie intensywniejszy rozwój *Paramecium* na pożywce z sia-

na i z liści, niż w serji poprzedniej. Liczby maksymalne wymoczków w pożywce sianowej i z kapusty różnią się nieznacznie, aczkolwiek rozwój hodowli na podłożu sianowem biegnie znacznie wolniej, niż na podłożu z kapusty. Rozwój hodowli na pożywce z liści jest powolniejszy i maksymalna liczba wymoczków przeszło dwa razy niższa, niż na podłożu z kapusty. Dla *Colpidium* maksimum liczbowe na podłożu z siana przewyższa maksimum na podłożu z kapusty, a zwłaszcza na podłożu z liści. Pod tym względem wyniki hodowli masowych i indywidualnych zgadzają się.

Wyżej zaznaczyliśmy, że w hodowlach masowych oznaczaliśmy pH. Ogólny przebieg zmian pH jest podobny w poszczególnych rodzajach hodowli. Charakteryzuje go stopniowa alkalinizacja podłoża. Wahania pH zamykały się dla hodowli *Paramecium* w granicach 6.0 — 7.8, *Colpidium* — 5.8 — 7.4. Naogół daje się zauważyć, że stopień alkalinizacji w dużej mierze odpowiada ilościowemu rozwojowi wymoczków w hodowli. Wogóle różnice pH w hodowlach na r ó ż n y c h podłożach nie są dostatecznie duże, żeby mogły wyjaśnić różnice w mnożeniu się wymoczków. Stosuje się to zwłaszcza do *Colpidium*. Z badań J. V i e w e g e r ('30) wynika, że *Colpidium* jest mało wrażliwe na zmiany pH środowiska i że naogół mnoży się normalnie w granicach pH 6.0 — 8.5 (granice stężeń optymalnych p. str. 152 loc. c.).

Warto zauważyć, że J. i T. V i e w e g e r o w i e wykazali ('21), iż rozwój ilościowy *Colpidium* w hodowlach sianowych jest tem intensywniejszy, im większa jest zawartość azotu w pożywce (a więc i stężenie pożywki). Z badań naszych możemy wnioskować, że wyniki powyższe nie mogą być jednak zbyt uogólniane, gdyż dużą rolę poza zawartością azotu w pożywce odgrywa jakościowy skład pożywki.

Z opisywanych hodowli masowych wymoczków wysiewaliśmy kilkakrotnie bakterje na pożywce agarowej. Pozwoliło nam to stwierdzić, że we wszystkich trzech rodzajach hodowli typem wybitnie przeważającym (omal wyłącznym) był *Bacillus pyocyaneus*. Wiemy, że powyższy gatunek bakteryj występuje dość pospolicie w hodowlach; wiemy również z prac P h i l p o t t,

a zwłaszcza G a u s e, że *Paramecium* rozwija się dobrze w zawiesinach tych bakteryj.

Wobec jednolitości typu bakteryjnego, opisanych przez nas wyżej różnic w mnożeniu się wymoczków w hodowlach na różnym podłożu nie można przypisywać różnicom jakościowym rozwijających się gatunków bakteryjnych.

Porównanie wyników, otrzymanych dla hodowli indywidualnych i masowych, prowadzi do potwierdzenia wniosku, który już poprzednio zaznaczyliśmy, a mianowicie, że w mnożeniu zarówno *Paramecium*, jak i *Colpidium* na powyższych podłożach występują znaczne różnice. Zaznaczają się one w maksymalnych liczbach wymoczków w hodowli oraz w niejednakowej szybkości rozwoju hodowli. Różnice powyższe zaznaczają się przytem w niejednakowy sposób u obu gatunków rozpatrywanych. *Paramecium* mnoży się naogół lepiej na podłożu z kapusty, gdy dla *Colpidium* pożywka sianowa wydaje się bardziej dostosowana; przy przyrównaniu wartości odżywczych pożywek (N) różnice powyższe występują w mniejszym stopniu.

Przejdziemy obecnie do rozpatrzenia zachowania się wodniczka tętniącego w hodowlach masowych na różnych podłożach względnie w pożywkach o różnym stężeniu. W tym ostatnim przypadku sposób postępowania był następujący. Z hodowli masowej, sporządzonej na podłożu mieszanem (wywar sianowy z dodaniem kapusty), wyodrębnialiśmy każdorazowo 10 wymoczków i umieszczaliśmy w różnych stężeniach pożywki (w klockach). W jednej serji doświadczeń mierzyliśmy szybkość tętna wodniczka po upływie $\frac{1}{2}$ godziny, 24 i 48 godzinach. Odpowiednie dane zestawiliśmy poniżej, zaznaczając średni czas tworzenia się wodniczka w pożywce sianowej, z liści i z kapusty w rozcieńczeniu dwudziestokrotnem.

	$\frac{1}{2}$ godz.	24 godz.	48 godz.
Kapusta	15.8	14.6	14.8
Siano	12.4	12.3	11.8
Liście	11.8	11.8	12.2

Obserwacja wykazała, że już po upływie $\frac{1}{2}$ godz. szybkość tętna ustala się i dłuższy pobyt w roztworze nie wprowadza większych zmian. Dlatego też w następnych serjach doświadczeń przyjęliśmy $\frac{1}{2}$ -godzinny pobyt w roztworze jako wystarczają-

cy do ustalenia tętna. Z porównania danych dla poszczególnych pożywek (tab. IV) wynika, że tętno wodniczka ulega wyraźnemu

Tabela IV.

Średni czas (w sekundach) tworzenia się wodniczka tętniącego u *Paramecium* w różnych stężeniach wywaru.

Temps de formation de la vésicule pulsatile (en secondes) chez Paramecium dans les différentes concentrations des infusions.

Rodzaj pożywki <i>Infusion</i>	Stężenie pożywki <i>Concentration d'infusion</i>			Pożywki izoosmotyczne $\Delta = 0,08^0$ <i>Les milieux de la culture additionnés de glucose</i>					Pożywki izoazotowe w 1 cm ³ 0,0548 mg N dans 1 cm ³ <i>d'infusion</i>
	1/5	1/20	1/40	1/5	1/10	1/20	1/30	1/40	
Kapusta <i>Chou</i>	19.6	11.2	10.8	17.5	13.0	12.2	11.7	11.7	11.6
Siano <i>Foin</i>	21.4	13.6	12.4	17.1	13.3	12.1	11.6	11.5	18.4
Liście <i>Feuilles</i>	12.8	10.8	10.5	13.6	12.8	10.9	11.1	11.5	13.3

zwolnieniu wraz ze wzrostem stężenia pożywki. Stopień zwolnienia w stężeniach wyższych jest przytem bardzo znaczny, np. w wywarze z siana i z kapusty pięciokrotnie rozcieńczonym występuje prawie dwukrotne zwolnienie tętna. Mniejsze różnice występują dla wywaru z liści. Odgrywa zatem rolę zarówno stężenie, jak i jakość wywaru. Mniejszy stopień zwolnienia tętna w wywarze z liści, aniżeli w wywarze kapusty lub siana, być może pozostaje w związku ze znacznie niższem Δ wywaru z liści. Z drugiej strony jednak, jeżeli uwzględnimy, że ciśnienie osmotyczne nierozcieńzonego z wywaru liści było bardzo niskie ($\Delta = 0.046^0$), Δ zaś wywaru z siana w rozcieńczeniu jeden na pięć wynosiło 0.042^0 , to z porównania danych naszych z wynikami pracy E i s e n b e r g - H a m b u r g o w e j ('24), dotyczącymi wpływu ciśnienia osmotycznego na tętno wodniczka, wydaje się mało prawdopodobne, żeby przyczyną tak znacznego zwolnienia tętna, jakie zachodzi w pożywece z siana i z kapusty, mogło być ciśnienie osmotyczne pożywki. W celu ostatecznego wyjaśnienia tej kwestji, wykonaliśmy 2 serje doświadczeń, w których wyrównaliśmy wartości ciśnień osmotycznych pożywek przez dodanie glukozy. Ilość wywaru zużytego do przyrządzenia pożywki była jednakowa (1 cm³), dodawałyśmy natomiast zmienną ilość roztworu glukozy i wody podwójnie dysty-

lowanej tak, żeby otrzymać roztwór, zawierający w różnym stężeniu wywar przy jednakowej wartości ciśnienia osmotycznego ($\Delta=0.08^{\circ}$) dla wszystkich pożywek. Z porównania odpowiednich danych wynika, że uwzględnienie Δ środowiska nie zmienia w sposób wyraźny wyników, otrzymanych w serji poprzedniej. Jak w serji I, tak i tu, widzimy znaczne zwolnienie tętna w silniejszych stężeniach pożywki (20% zwolnienia w pożywce z liści, 60% — kapusty i siana), widzimy również, że zachowuje się znaczna różnica w działaniu wywaru z siana ew. kapusty i wywaru z liści.

Wykonałyśmy również serję doświadczeń, w których obserwowaliśmy tętno wodniczka w pożywkach o różnym stężeniu i jednakowej zawartości N (0.0548 mg w 1 cm³). Serja powyższa wykazała znaczne różnice w tętnie, które odpowiadają różnicom w stężeniu stosowanych wywarów (kapusta ¹/₅₀, siano ¹/₇, liście ¹/₆).

Jak wyżej zaznaczyłyśmy, badałyśmy również zachowanie się tętna wymoczków w hodowlach masowych. We wszystkich hodowlach występują dość znaczne zmiany tętna, które podlega przyspieszeniu w pierwszych 3 — 4 dniach rozwoju hodowli, w okresie intensywnego mnożenia, poczem następuje stopniowo znaczne (20 — 40%) zwolnienie. Czynione jednocześnie pomiary pH pożywki nie wykazały większych wahań (tab. V), dlatego też zmiany tętna nie wydają się wynikać ze zmian pH hodowli. Wykonałyśmy serję doświadczeń, w której przyrównałyśmy zawartość N w poszczególnych hodowlach. Ogólny charakter zmian tętna utrzymał się i w tym przypadku, przyczem równoległość zmian w poszczególnych hodowlach jest uderzająca, zwłaszcza w hodowli z kapusty i z liści.

Z doświadczeń omówionych wynika, że w hodowlach masowych o różnym podłożu występują pewne różnice w tętnie wodniczka pomiędzy poszczególnymi hodowlami, pozatem jednak ogólny charakter zmian tętna pozostaje w związku z cyklem rozwojowym hodowli. Nie badałyśmy bliżej przyczyny powyższych zmian tętna, mogą one być związane zarówno ze zmianami w składzie środowiska (produkty przemiany materji), jak i z przebiegiem procesu głodu.

Tabela V.

Zmiany tężna wodniczka w hodowlach masowych *Paramecium*.Les changements du temps de la formation de la vésicule pulsatile dans les grandes cultures de *Paramecium*.

Liczba dni ubiegłych Nombre de jours	A									B																				
	Liczba wycieczek w 1 cm ³ hodowli Nombre d'infusoires dans 1 cm ³ de la culture			pH			Sredni czas tworze- nia się wodniczka Temps moyen de la formation d'une vésicule pulsatile			Tempera- tura °C			Liczba wycieczek w 1 cm ³ hodowli Nombre d'infusoires dans 1 cm ³ de la culture			pH			Sredni czas tworze- nia się wodniczka Temps moyen de la formation d'une vésicule pulsatile			Tempera- tura °C								
	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III			
3	10	20	28	6.8	6.4	6	12.84	12.64	12.40	16	24	3	6.8	6.4	6.8	12.20	12.05	11.44	17	17	17	6.8	6.4	6.8	12.20	12.05	11.44	17	17	17
4	24	49	70	7.0	6.4	6.2	12.73	10.29	12.70	16	632	149	6.9	6.9	6.1	11.6	10.91	10.48	16	16	16	6.9	6.9	6.1	11.6	10.91	10.48	16	16	16
5	41	59	72	6.9	6.4	6.4	10.94	11.12	12.11	16	837	367	7.0	6.9	6.6	11.55	12.26	10.58	16	16	16	6.9	6.9	6.6	11.55	12.26	10.58	16	16	16
6	241	63	130	7.0	6.6	6.6	10.37	10.90	11.83	16	857	360	7.1	6.8	6.7	8.56	9.01	10.76	17	17	17	6.8	6.7	6.7	8.56	9.01	10.76	17	17	17
8	887	82	147	7.0	7.0	6.0	9.81	10.96	11.20	17	627	475	7.0	7.0	6.7	10.80	11.04	12.35	17	17	17	7.0	7.0	6.7	10.80	11.04	12.35	17	17	17
9	667	90	115	7.0	6.8	6.0	13.87	11.25	12.31	16	502	525	6.9	7.2	6.8	12.97	13.77	12.62	17	17	17	6.9	7.2	6.8	12.97	13.77	12.62	17	17	17
10	625	50	115	7.0	6.4	6.0	11.97	11.30	13.80	15	550	750	6.9	7.2	6.0	12.37	13.54	12.96	17	17	17	6.9	7.2	6.0	12.37	13.54	12.96	17	17	17
11	520	40	67	7.0	6.4	6.2	12.15	13.48	13.82	16	166	775	6.8	7.2	6.7	13.82	13.20	16.80	17	17	17	6.8	7.2	6.7	13.82	13.20	16.80	17	17	17
12	340	50	75	7.0	6.6	6.0	12.30	12.74	15.96	16	68	562	6.8	7.2	6.7	13.47	14.20	16.48	17	17	17	6.8	7.2	6.7	13.47	14.20	16.48	17	17	17
14	200	35	53	7.0	6.4	6.0	12.70	13.75	15.96	16	28	225	6.8	7.0	6.7	13.20	14.48	16.45	16	16	16	6.8	7.0	6.7	13.20	14.48	16.45	16	16	16
15	60	25	25	6.8	6.4	6.0	12.78	13.84	15.90	16	8	110	6.8	7.2	6.7	13.54	15.20	17.53	17	17	17	6.8	7.2	6.7	13.54	15.20	17.53	17	17	17
18	—	10	15	—	6.4	6.0	—	16.15	14.62	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	4	3	—	6.8	6.0	—	15.92	15.10	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

A. Hodowle na wywarach z kapusty (I), siana (II), liści (III), rozcińczonych 20-krotnie.

Les cultures sur les infusions de chou (I), foin (II), feuilles (III), diluées 20 fois.

B. Hodowle na wywarach z kapusty (I), siana (II), liści (III) izoazotowe.

Les cultures sur les infusions de chou (I), foin (II), feuilles (III) renfermant la même quantité d'azote (0,0548 mg) dans 1 cm³.

Hodowle masowe potwierdziły wyniki, otrzymane dla hodowli indywidualnych, o wpływie podłoża na mnożenie się wymoczków i działanie wodniczka tętniącego. Pozostawało do wyjaśnienia, czy powyższe różnice, występujące u wymoczków, hodowanych na różnych podłożach, są związane ze składem organicznym pożywki, czy też raczej ze składnikami popiołu.

W celu wyjaśnienia tej kwestji wykonałyśmy serję doświadczeń, w których zamiast pożywek zwykłych stosowałyśmy roztwory popiołów, otrzymanych przez odparowanie i wyprażenie pozostałości suchej poszczególnych wywarów. Popiół rozpuszczałyśmy w odpowiednich ilościach wody podwójnie dystylowanej i w tak sporządzonych roztworach umieszczalyśmy wymoczki. Obserwowałyśmy szybkość mnożenia i działalność wodniczka tętniącego. Okazało się, że *Paramecium* ginie w ciągu 24 godzin w roztworach popiołu, natomiast *Colpidium* żyje dłużej i mnoży się, aczkolwiek wolniej i nie tak regularnie, jak w roztworach wywarów.

T a b e l a VI.

Mnożenie się *Colpidium* w roztworach popiołu z rozmaitych wywarów.
Multiplication de Colpidium dans les solutions des cendres des différentes infusions

Rodzaj pożywki <i>Infusion</i>	Stężenie roztworu — <i>Concentration des cendres</i>			
	$\frac{1}{5}$	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{40}$
Kapusta <i>Chou</i>	1.3	2.1	2.5	3.7
Siano <i>Foin</i>	5	2.3	1.5	1.5
Liście <i>Feuilles</i>	0.8	1.4	1.8	2.4
Liczba doświadczeń <i>Nombre d'expériences</i>	9	9	9	9

Przejdziemy do rozpatrzenia wyników otrzymanych. Wpływ stężenia roztworów (popiołu) przejawia się naogół w podobny sposób, jak dla wywarów w odpowiednich stężeniach. Dla pożywki sianowej występuje szybsze mnożenie w wyższych stężeniach ($\frac{1}{5}$), odwrotnie dla pożywki z kapusty ($\frac{1}{40}$) i z liści ($\frac{1}{40}$). Jednakże różnice w szybkości mnożenia się w roztworach popiołów nie występują w tym stopniu, jak w roztworach wywarów (tab. VII). Zachowanie się wodniczka tętniącego w roz-

tworach popiołów wykazuje pewne różnice w stosunku do roztworów odpowiednich wywarów. Tętno wodniczka jest stale żywsze w roztworze popiołu, niż w pożywce o tem samym stężeniu. Natomiast wpływ stężenia roztworu zaznacza się bardzo wyraźnie dla popiołu z kapusty (50% zwolnienia), w mniejszym znaczeniu stopniu dla popiołu z siana. Nasuwa to przypuszczenie, że w pewnym przynajmniej stopniu o szybkości tętna na podłożach z różnych wywarów decyduje zawartość składników popiołu

Tabela VII.

Średni czas tworzenia się wodniczka tętniącego u *Paramecium* w pożywkach o różnych stężeniach wywaru i popiołu.

Tableau comparatif de la vitesse de formation de la vésicule pulsatile dans les différentes concentrations des infusions et des solutions des cendres.

Póżywka — Infusion	Stężenie — Concentration							
	$\frac{1}{5}$		$\frac{1}{10}$		$\frac{1}{20}$		$\frac{1}{40}$	
	I	II	I	II	I	II	I	II
Kapusta <i>Chou</i>	13.1	9.4	9.6	7.7	7.8	6.6	7.0	6.2
Siano <i>Foin</i>	13.9	7.8	9.9	6.7	8.8	5.9	7.9	5.6
Liście <i>Feuilles</i>	11.6	7.1	9.5	6.2	8.0	5.9	6.9	5.7

I — pożywki — *infusions*.

II — roztwory popiołu — *solutions des cendres*.

(elektrolitów). Jednakże nie wyłącznie. Zastępuje pod tym względem na uwagę znaczne (40 — 80%) zwolnienie tętna wodniczka w pożywkach normalnych (w porównaniu z odpowiednimi roztworami popiołu); należy uwzględnić również, że różnice w mnożeniu się wymoczków występują mniej wyraźnie w roztworach popiołu, aniżeli w odpowiednich pożywkach. Skłania nas to do wniosku, że różnice, jakie występują w zakresie rozpatrywanym w hodowlach na różnym podłożu, w pewnej mierze są spowodowane przez składniki organiczne pożywki. Jest rzeczą jednak trudną ustalić w danym przypadku stopień oddziaływania poszczególnych składników wywaru, zwłaszcza, że sam proces prażenia może wpłynąć na skład popiołu. Za tem ostatniem przemawiają zauważone przez nas zmiany w rozpuszczalności składników popiołu. Wydaje się prawdopodobne,

że składniki mineralne występują w wywarze częściowo w kompleksach organicznych, a zatem oddziaływanie ich w wywarze naturalnym nie może być identyfikowane z działaniem samego popiołu.

W każdym razie wydaje się niewątpliwe, że pewną rolę w normowaniu natężenia funkcji rozpatrywanych (mnożenie i tętno wodniczka) odgrywają substancje organiczne wywaru. Na korzyść tego poglądu przytoczyć można również fakt, stwierdzony przez J. V i e w e g e r ('30), że wywar sianowy wywiera działanie wybitnie hamujące na mnożenie się *Colpidium* i działanie zabójcze w takich stężeniach ($\Delta=0.06^0$), dla których należy wyłączyć zarówno możliwość zgubnego działania ciśnienia osmotycznego, jak i pospolitych składników popiołu. To samo można zauważyć odnośnie do działania wywaru z liści w naszych doświadczeniach ($\Delta = 0.046^0$).

Czy poza omawianem działaniem hamującym składników wywaru występuje również ich oddziaływanie pobudzające mnożenie, tak, jak to stwierdził B a r k e r ('33, '34) w przypadku excystacji *Colpoda cucullus*, na to pytanie trudno nam dać odpowiedź. Na podstawie naszych doświadczeń możemy tylko stwierdzić, że działanie substancji, zawartych w wywarze, zależy od ich stężenia i że czynnik ten normuje w pewnej mierze warunki optymalnego rozwoju hodowli, a zatem i możliwości wykorzystania podłoża.

W dalszych rozważaniach nasuwa się pytanie, czy kompleks składników, zawarty w pożywkach naturalnych, oddziałuje na metabolizm ogólny organizmu i na tej drodze wpływa na intensywność poszczególnych funkcji, czy też oddziaływanie jest bardziej specyficzne i dotyczy tylko pewnych czynności komórki. Zasługuje na uwagę, że wzrost stężenia pożywki powoduje stale zwolnienie tętna wodniczka, oraz że w pożywce z kapusty i z liści występuje równoległe obniżenie podzielności komórki. Podobnie w hodowlach masowych stwierdziłyśmy szybsze działanie wodniczka tętniącego w pierwszych fazach rozwoju hodowli, a więc w okresie intensywnego mnożenia się pierwotniaków, zwolnienie w okresie wymierania hodowli. Czy powyższe fakty upoważniają do wnioskowania o wpływie stosowanych pożywek

na procesy metabolizmu komórkowego wogóle, na intensywność procesów chemicznych? Z prac J. i T. V i e w e g e r ó w (21, str. 32) wiemy, że podzielność komórki pozostaje w bezpośredniej zależności od intensywności ogólnej przemiany. Mniej jest wyraźny związek pomiędzy natężeniem procesów metabolizmu a czynnością wodniczka tętniącego, aczkolwiek podobna zależność nasuwa się, jeżeli będziemy uważali wodniczek tętniący za organ nie tylko osmoregulacyjny, ale i wydalniczy. Jest to jednak kwestja, która wymaga oddzielnych badań.

W y n i k i.

1°. Występują znaczne różnice w szybkości mnożenia i działania wodniczka tętniącego w hodowlach *Paramecium caudatum* i *Colpidium colpoda* na różnych podłożach naturalnych (kapusta, siano, liście).

2°. Na szybkość mnożenia i tętno wodniczka wpływa:

- a) jakość podłoża stosowanego,
- b) stężenie podłoża.

3°. Optymalne warunki mnożenia nie są jednakowe dla obu rozpatrywanych gatunków: *Paramecium* i *Colpidium*. Np. *Paramecium* mnoży się lepiej w słabych stężeniach wywaru sianowego, *Colpidium* odwrotnie.

4°. Szybkość tętna wodniczka *Paramecium* wykazuje zmiany w czasie rozwoju hodowli.

5°. Przyrównanie zawartości azotu i ciśnienia osmotycznego podłoża prowadzi tylko do częściowego wyrównania różnic w mnożeniu i tętnie wodniczka.

Powyższe różnice nie wyływają również z niejednakowej toksyczności wywarów, których stężenia zabójcze niewiele się różniły pomiędzy sobą.

6°. Roztwory popiołów, otrzymanych przez wyprażenie wywarów, działają w pewnej mierze w podobny sposób, jak i wywary. Wydaje się prawdopodobne, że niejednakowe działanie poszczególnych wywarów związane jest częściowo z różnicami w składzie elektrolitów, częściowo z obecnością specyficznych składników organicznych.

P i ś m i e n n i c t w o .

Barker H. a. Taylor C. 1933. Studies on the excystment of *Colpoda cucullus*. *Physiol. Zool.* 6. — Eisenberg E. 1924. Działanie wodniczka tętniącego u wymoczków. *Prace Inst. Nenck.* 2. — Eisenberg E. 1925. Recherches sur le fonctionnement de la vésicule pulsatile des infusoires (*Paramecium caudatum* St.). *Arch. de Biol.* 35. — Gause G. 1935. Experimentelle Untersuchungen über die Konkurrenz zwischen *Paramecium caudatum* und *Paramecium aurelia*. *Arch. f. Protistenk.* 84. — Peters A. 1906, 07, 08. Chemical studies on the cell and its medium. *The Amer. Journ. of Physiol.* 17, 18, 21. — Philpott C. Growth of *Paramecia* in pure cultures of pathogenic bacteria and in the presence of soluble products of such bacteria. — Thimann K. a. Barker H. 1934. Studies on the excystment of *Colpoda cucullus*. *J. of exper. Zool.* 69. — Vieweger J. 1930. Études sur la multiplication des Colpidies dans les différents milieux. *Arch. d'Hydrob. et d'Ichtyol.* 5. — Viewegerowie J. i T. 1921. Recherches sur les causes du développement des cultures du *Colpidium colpoda* Ehrbg. L'influence de la quantité de la nourriture et du jeun. *Trav. Lab. Inst. Nencki.* 1.

[Zakład Chemji Fizjologicznej Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu
Poznańskiego].

Kierownik: Prof. Dr. Stefan Dąbrowski.

A. Sławiński.

**O budowie roztworów koloidalnych¹⁾. I. Nowy sposób
badania koloidów drogą przewodnictwa.**

*Sur la structure des solutions colloïdales²⁾. I. Une nouvelle
méthode de conductivité pour les investigations des colloïdes.*

Rękopis nadesłany w dniu 23.III.1936.

La méthode qui fait l'objet de ce mémoire est une nouvelle méthode de conductivité pour la détermination du volume des suspensions colloïdales. Dans cette méthode on ajoute une quantité déterminée de sel neutre à une portion de la suspension, on dilue une autre portion avec de l'eau et on mesure les rapports: 1°, de la conductivité de la suspension salée à la conductivité de la suspension initiale; 2°, de la conductivité de la suspension diluée à la conductivité de la suspension initiale et 3°, de la conductivité d'une solution saline déterminée, plus ou moins isotonique à la suspension initiale, à la conductivité de la suspension initiale.

En appliquant cette méthode aux mesures des solutions protéiques, on trouve que le liquide dispersif entre les molecu-

¹⁾ Niniejsza praca była częściowo przedmiotem komunikatu, przedstawionego 25 października 1935 r. na V Kongresie Chemji biologicznej w Brukseli (patrz Sławiński '36).

²⁾ Une communication partielle sur ce travail a été faite à la séance du 25 octobre 1935 du V-e Congrès de Chimie biologique à Bruxelles (voir Sławiński '36).

les des agrégats protéiques est diélectrique, mais conducteur entre les agrégats mêmes. On trouve ensuite, que le volume occupé par les substances protéiques dans le plasma sanguin est de 9 p. 100 et le volume du liquide intermoleculaire diélectrique de 5 p. 100, ce qui donne au total un volume diélectrique dans le plasma de 14 p. 100, à peu près.

La méthode présente détermine la tonicité des solutions colloïdales si le volume de la substance colloïdale est connu. Dans le cas du plasma sanguin les indications de la méthode sont que la tonicité du plasma est égale à celle d'une solution de 0.85 p. 100 NaCl, et non de 0.90 p. 100, comme on le trouve par la méthode cryoscopique. Cette dernière valeur représente bien la tonicité du plasma, mais seulement au moment de la congélation, une expulsion des ions salins de la partie intermoleculaire diélectrique du liquide dispersif dans la partie libre de ce liquide, entre les agrégats protéiques, ayant alors probablement lieu.

Il semble que „l'eau d'adhésion" des micelles protéiques, de différents auteurs, et le liquide diélectrique des agrégats protéiques, de la méthode de conductivité, c'est la même chose. Mais seulement, d'après les données de cette dernière méthode, le liquide diélectrique est le liquide dispersif polarisé de la solution protéique, et non eau pure. Son volume est considérable et correspond au volume de l'espace libre entre des sphères en contact, ce qui fait penser que c'est le liquide intermoleculaire, plutôt qu'une „atmosphère" entourant chaque micelle protéique.

Sposób oznaczania objętości zawiesin drogą przewodnictwa może być dostosowany do przypadku koloidalnych roztworów. Pierwotny sposób oznaczania objętości zawiesin polega, jak wiadomo, na pomiarze stosunku

$$\frac{\text{Przewodnictwo ośrodka dyspresyjnego}}{\text{Przewodnictwo całej zawiesiny}}$$

co wymaga oddzielania ośrodka dyspresyjnego od zawiesiny dla zmierzenia jego przewodnictwa. Jako dalsze zastosowanie tego sposobu, w przypadku szybko opadających zawiesin, autor za-

proponował używanie dwóch rurek oporowych, poziomej i pionowej, i to w celu mierzenia wysokości osadu w tej ostatniej (Sławiński '34). W tym sposobie oddzielania ośrodka dyspersyjnego od zawiesiny i pomiar jego przewodnictwa nie są potrzebne, ale sposób ten wymaga opadania zawiesiny. Nowy sposób, który jest przedmiotem obecnej pracy, jest jeszcze dalszym rozwinięciem pierwotnego sposobu; pozwala on oznaczać objętość zawieszonych cząsteczek w nieopadających koloidalnych roztworach. Sposób ten polega na dodaniu do jednej części badanego roztworu pewnej ilości soli, a do innej części oznaczonej ilości wody, na zmierzeniu przewodnictw pierwotnego, solonego i rozcieńczonego roztworów i na ujęciu wszystkich danych i niewiadomych, objętości, stężenia i przewodnictwa, w odpowiednie równania. Rozwiązanie tych równań daje objętość cząsteczek zawieszonych w pierwotnym roztworze, jeżeli stężenie ośrodka dyspersyjnego jest znane. Oprócz tego dane przewodnictwa roztworów koloidalnych rzucają światło na mało znane zjawiska skupienia i uwodnienia drobin białkowych.

Teoria.

Już pierwsze badania koloidalnych roztworów, a mianowicie osocza krwi, nowym sposobem, wykazały pewną zasadniczą różnicę między temi roztworami a grubemi zawiesinami, np. krwinek we krwi. Gdy we krwi ośrodek dyspersyjny, czyli osocze, jest zawsze przewodnikiem, nawet wśród najbardziej zbitych krwinek, w roztworach koloidalnych ośrodek dyspersyjny jest przewodnikiem tylko między poszczególnymi skupieniami drobin białkowych; wewnątrz tych skupień, między drobinami białka, jest nieprzewodnikiem. Stąd potrzeba wprowadzenia do rachunków dwu objętości dielektrycznych: objętości skupień białkowych, a więc drobin białka z międzydrobinowym płynem, i objętości samych drobin białkowych.

Rozpatrzmy ogólny przypadek jakiegokolwiek roztworu koloidalnego, oznaczając przez:

v , objętość substancji zawieszonych cząstek w jednostce objętości roztworu,

w , całkowitą objętość zawieszonych cząstek, substancji i międzyrobinowego płynu, w jednostce objętości roztworu,

c , toniczność ośrodka dyspersyjnego, w procentach stężenia izotonicznego roztworu soli,

d , stopień rozcieńczenia roztworu = $\frac{\text{objętość przed rozcieńczeniem}}{\text{objętość po rozcieńczeniu}}$

p , procent suchej soli dodanej do roztworu.

Zaczynamy pomiar przez zmierzenie stosunku oporu pierwotnego roztworu do oporu roztworu soli tej samej toniczności, albo przybliżonej ale znanej toniczności (np. 0.85% roztworu NaCl w przypadku osocza krwi). Otrzymujemy pierwsze równanie:

$$(1) \frac{\text{Opór pierwotnego roztworu (= zaw. objętości } w \text{ w elekt. ton. } c)}{\text{Opór elektrolitu o toniczności } c} = k$$

Dodajemy oznaczoną ilość jakiegokolwiek obojętnej soli w proszku do innej części pierwotnego roztworu i mierzymy stosunek

$$\frac{\text{Opór pierwotnego roztworu (= zaw. objętości } w \text{ w elekt. ton. } c)}{\text{Opór solonego roztworu (= zaw. objętości } w \text{ w elekt. ton. } c + \frac{p}{1-v})} = a$$

Wiedząc, że stosunek oporu całej zawiesiny do oporu jej ośrodka dyspersyjnego nie zależy od wielkości tego ostatniego, piszemy

$$\frac{\text{Opór zaw. ob. } w \text{ w elekt. ton. } c}{\text{Opór elektrolitu ton. } c} = \frac{\text{Opór zaw. ob. } w \text{ w elekt. ton. } c + \frac{p}{1-v}}{\text{Opór elektrolitu ton. } c + \frac{p}{1-v}}$$

i

$$\frac{\text{Opór zaw. ob. } w \text{ w elekt. ton. } c}{\text{Opór zaw. ob. } w \text{ w elekt. ton. } c + \frac{p}{1-v}} = \frac{\text{Opór elektrolitu ton. } c}{\text{Opór elekt. ton. } c + \frac{p}{1-v}} = a$$

Ponieważ opory elektrolitów są odwrotnie proporcjonalne do ich stężeń i przewodnictw gatunkowych, wyprowadzamy

$$\frac{\text{Opór zaw. ob. } w \text{ w elekt. ton. } c}{\text{Opór zaw. ob. } w \text{ w elekt. ton. } c + \frac{p}{1-v}} = \frac{\chi_s}{\chi_i} \left(1 + \frac{p}{c(1-v)} \right) = a$$

gdzie χ_i i χ_s są gatunkowe lub cząsteczkowe przewodnictwa ośrodka dyspersyjnego pierwotnego, względnie solonego roztworu.

A stąd drugie równanie:

$$(2) \quad c(1-v) = \frac{p}{\frac{\kappa_i}{\kappa_s} a - 1}$$

Rozcieńczamy dalej osobną część pierwotnego roztworu wodą i mierzymy stosunek

$$\frac{\text{Opór pierwotnego roztworu (= zaw. objętości } w \text{ w elekt. ton. } c)}{\text{Opór rozcieńczonego roztw. (= zaw. objętości } dw \text{ w elekt. ton. } \frac{1-v}{d} c)} = b$$

Możemy napisać jak uprzednio:

$$\frac{\text{Opór zaw. ob. } dw \text{ w elekt. ton. } c}{\text{Opór elektrolitu ton. } c} = \frac{\text{Opór zaw. ob. } dw \text{ w elekt. ton. } \frac{1-v}{d} c}{\text{Opór elektrolitu ton. } \frac{1-v}{d} c}$$

i

$$\frac{\text{Opór zaw. ob. } dw \text{ w elekt. ton. } c}{\text{Opór zaw. ob. } dw \text{ w elekt. ton. } \frac{1-v}{d} c} = \frac{\text{Opór elekt. ton. } c}{\text{Opór elekt. ton. } \frac{1-v}{d} c} = \frac{\kappa_d}{\kappa_i} \cdot \frac{1-v}{d}$$

gdzie κ_i i κ_d są gatunkowe lub cząsteczkowe przewodnictwa ośrodka dyspersyjnego pierwotnego, względnie rozcieńczonego roztworu.

Dzieląc obie części powyższego pierwszego równania rozcieńczonego roztworu przez odpowiednie części ostatniego równania, otrzymujemy trzecie równanie:

$$(3) \quad \frac{\text{Opór pierwotnej zawiesiny objętości } w \text{ w elekt. ton. } c}{\text{Opór rozcieńczonej zawiesiny ob. } dw \text{ w elekt. ton. } c} = \frac{\kappa_i}{\kappa_d} \cdot \frac{1-v}{d} b$$

Równania (1), (2) i (3) są tego rodzaju, że mogą być rozwiązane tylko sposobem podstawienia, przy pomocy odpowiedniej tablicy, sporządzonej przez autora (patrz część III tej pracy). Oprócz tego jest potrzebna dokładna krzywa przewodnictwa użytego roztworu soli, przy różnych stężeniach. Tę krzywą należy wykreślić w procentach soli dodanej do litra wody, a nie zawartej w litrze wody, co zresztą nie ma znaczenia przy małych stężeniach.

Jeszcze czwarte równanie jest możliwe, jeżeli zrobić oznaczenie krjoskopowe toniczności zawiesiny. To równanie wynika z następującego założenia, które robimy, by objaśnić dlaczego toniczność osocza oznaczona krjoskopowo jest większa od toniczności wykazanej sposobem przewodnictwa:

„Zamarzanie białkowych zawiesin zaczyna się wewnątrz skupień białkowych, wśród unieruchomionych jonów, i powoduje ich wyrzucenie do wolnej części ośrodka dyspersyjnego”.

Wyrzucenie jonów do wolnego płynu powiększa jego stężenie. Wielkość tego stężenia, czyli toniczność ośrodka dyspersyjnego w chwili zamarzania (C), znajduje się z równania

$$(4) \quad C(1-w) = c(1-v)$$

Jeżeli powyższe założenie jest słuszne, to wielkości v , w i c normalnego osocza krwi, wstawione do równania (4), powinny dać $C = 0.90\%$ NaCl, bo taką jest normalna toniczność osocza krwi oznaczona krjoskopowo, t. j. w chwili zamarzania. Będziemy widzieli później, że ten warunek jest zachowany, co świadczy na korzyść naszej hipotezy o naturze i zachowaniu się płynu międzydrobinowego.

Pomiary.

W załączonej tabeli są podane wyniki pomiaru osocza krwi końskiej, odwirowanego od krwi zadanej hirudyną po 10 minutach wirowania przy 3,000 o. n. m. Jako sól był użyty chlorek sodowy. Według tych wyników i innych, objętość skupień białkowych w osoczu krwi ludzkiej lub końskiej (substancja stała i płyn międzydrobinowy) wynosi około 14%, objętość białka 9%, a toniczność osocza około 0.85% w jednostkach NaCl.

W danym przypadku równania (1), (2), (3) i (4) oznaczają toniczność c jako równą 0.85. Gdyby c się okazało np. = 0.84, to równanie (1) powinno być napisane (patrz tabelę)

$$\frac{\text{Zawiesina } w}{\text{elektrolit } c} = \frac{0.84}{0.85} \cdot \frac{89.9}{89.8} \cdot 1.256,$$

gdzie 89.9 i 89.8 są przewodnictwa cząstkowe, odpowiadające stężeniom 0.84 i 0.85% NaCl.

Tabela.
Toniczność osocza krwi końskiej i objętość skupień białkowych.

Stosunek oporu naturalnego osocza do oporu:	Toniczność osocza krwi końskiej i objętość skupień białkowych.		Przewodnictwo cząsteczkowe
	k a b	Toniczność NaCl %	
1. 0.85% roztworu NaCl	1.256	—	89.8 —
2. Solonego osocza $p_1 = 0.315$	1.376	$0.315 + \frac{0.315}{0.91} = 1.196$	89.8 87.7
" " $p_2 = 0.610$	1.717	$0.610 + \frac{0.610}{0.91} = 1.520$	89.8 86.2
3. Rozcień. osocza $d_1 = 0.500$	0.5611	$0.85 \times 0.91 = 0.405$	89.8 —
" " $d_2 = 0.666$	0.7195	$\frac{1.91}{0.85 \times 0.91} = 0.549$	89.8 —

Obrachowania		Z tablic		Oznaczenia	
(1) Zawiesina w elektrolit c	$\frac{0.315}{89.8} = 0.35$	Zaw. 13.5% swój elekt.	$\frac{1.256}{0.85 \times 0.91} = 1.259$	$c = 0.85\%$;	$w = 13.5\%$
(2) $c(1-v) =$	$\frac{89.8}{87.7} \cdot 1.376 - 1 = 0.610$	$0.85 \times 0.91 = 0.773$	$0.85 \times 0.91 = 0.773$	$c = 0.85\%$;	$v = 9.0\%$
$c(1-v) =$	$\frac{89.8}{86.2} \cdot 1.717 - 1 = 0.610$	$0.85 \times 0.91 = 0.773$	$0.85 \times 0.91 = 0.773$	$c = 0.85\%$;	$v = 9.0\%$
(3) Zaw. w	$\frac{89.8}{94.3} = 0.95$	Zaw. 13.5% zaw. 6.75%	$\frac{1.124}{0.85 \times 0.91} = 1.124$	$v = 9.0\%$;	$w = 13.5\%$
Zaw. w	$\frac{89.8}{92.4} = 0.97$	Zaw. 13.5% zaw. 9.0%	$\frac{1.082}{0.85 \times 0.91} = 1.082$	$v = 9.0\%$;	$w = 13.5\%$
(4) C	$\frac{0.91}{0.865} = 0.85$	C = 0.90	C = 0.90	$v = 9.0\%$;	$w = 13.5\%$
				$c = 0.85\%$	

Obrachowanie, podane na tabeli, najłatwiej wykonywać w porządku wskazanym. Zgodność wyników jest dobra, ale zależy od równania (4). Bez tego równania jeszcze dwa inne rozwiązania byłyby możliwe:

$$1\text{-sze: } c = 0.90\%, v = 14\%, w = 16\%$$

$$2\text{-gie: } c = 0.94\%, v = 16\%, w = 16\%$$

Te wyniki są jednak nieprawdopodobne, bo dają za wielkie wielkości v , gdy wiadomo, że osocze zawiera najwyżej 8 do 9% białka w gramach. Dalsze dane, otrzymane z krwią hemolizowaną, wykazują jeszcze lepiej rzeczywistość obu objętości dielektrycznych w i v , na których wielkość, wyraźnie różną, mało wpływa wielkość toniczności c . Obecny sposób nie oznacza toniczności koloidalnych roztworów, ale oznacza dokładnie objętości w i v , gdy toniczność c jest znana. Równania (1), (2) i (3) oznaczają dokładnie toniczność c tylko wtedy, gdy v lub w , albo ich stosunek, są znane.

Zdaje się, że międzydrobinowy płyn, na którego dielektryczne właściwości wskazuje obecny sposób, i tak zwana „woda związana” koloidów, to to samo, ale jest niezgoda między powyższymi założeniami sposobu przewodnictwa a ogólnie przyjętym pojęciem „wody związanej” (Pauli i Valkó '33). Zgodnie z tem ostatniem „woda związana” nie ma właściwości rozpuszczania, gdy sposób przewodnictwa wykazuje, że płyn międzydrobinowy rozpuszcza sól, daje się rozcieńczać wodą i jest prawdopodobnie ośrodkiem dyspersyjnym, ale spolaryzowanym. Następnie, przyjmuje się ogólnie, że krjoskopowe oznaczanie toniczności roztworów białkowych jest realne, a analityczne pozorne, gdy sposób przewodnictwa wykazuje, że jest odwrotnie.

Sposób tu objaśniony może być użyty do badania każdego roztworu koloidalnego, który się dobrze miesza z solą i wodą, nie reagując chemicznie. Może on być użyty w przypadku nawet tak gęstych cieczy, jak białko lub żółtko jaj. Było stwierdzone, że objętość skupień białkowych (w) w białku jaj kurzych wynosi około 24%, a w żółtku 75%. Ta ostatnia wielkość odpowiada objętości, jaką zajmują kule w najbardziej zwartym układzie.

Technika.

Do pomiaru roztworów koloidalnych lub powoli opadających zawiesin można używać jakichkolwiek naczynek oporowych, ale zwykłe naczynka o zanurzanych elektrodach nie są dogodnie do celów biologicznych. Nie mogą być one wyrabiane równymi parami, jak tego wymaga sposób przewodnictwa, stosowany przez autora; potrzebują więcej płynu niż przestrzeń między elektrodami, co stwarza trudności, gdy tego płynu mało; czyszczenie ich wymaga czasu, co utrudnia używanie tego samego naczynka powtórnie, gdy trzeba robić kilka pomiarów jeden po drugim; wreszcie pojemność ich oporowa może się wahać i musi być często sprawdzana.

„Rurki oporowe” używane przez autora nie mają tych wad: wykonanie ich równymi parami jest łatwe, cały płyn, który zawierają, jest między elektrodami i pojemność ich oporowa się nie zmienia. Będąc mocnej budowy, mogą być mechanicznie czyszczone, zarówno rurki jak i elektrody, przez dobre otarcie, i w kilka minut są znów gotowe do użytku.

Sposobem „dwóch rurek” nie mierzy się nigdy oporu w omach, a tylko stosunek oporów i to w otaczającym powietrzu. Upraszcza to znacznie manipulacje i, przy pewnej staranności, daje dokładne wyniki.

Streszczenie.

Objaśnia się nowy sposób oznaczania objętości koloidalnych zawiesin drogą przewodnictwa. Pomiar osocza krwi ludzkiej lub końskiej, zrobione tym sposobem, wykazują, że:

1°. Ta część ośrodka dyspersyjnego osocza, która jest między drobinami skupień białkowych, jest dielektryczna, a ta część, która jest pomiędzy temi skupieniami, przewodnikiem.

2°. Skupienia białkowe zajmują około 14% objętości osocza i zawierają 9% białka i 5% płynu międzydrobinowego.

3°. Tak zwana „woda związana” białkowych zawiesin i płyn międzydrobinowy, który jest spolaryzowanym ośrodkiem dyspersyjnym, to prawdopodobnie to samo.

4°. Toniczność osocza równa się toniczności 0.85% roztworu NaCl. Wielkość 0.90% NaCl, którą dają oznaczenia krjoskopowe, jest podwyższoną tonicznością osocza w chwili zamrażania.

P i ś m i e n n i c t w o .

Sławiński A. 1936. La méthode de conductivité pour les investigations des suspensions colloïdales. Bull. Soc. Chim. biol. 18 (195). — Sławiński A. 1934. Détermination du volume des corps diélectriques en suspension ou en dépôt dans un électrolyte, par la méthode des „deux tubes”. Bull. Ac. Sc. Polon. Cl. de Médecine, (1) lub Bull. Soc. Chim. biol. 16 (448); A new conductivity method for the determination of the cell volume of blood. Biochem. J. 1933, 27 (356). — Pauli W o. und Valkó E. 1933. Kolloidchemie der Eiweisskörper, Steinkopf, Dresden und Leipzig (157).

[Instytut Fizjologii Uniwersytetu Jana Kazimierza we Lwowie].

J. M. Müller.

W sprawie heteromorfizmu kryształów barwika krwi konia.

*Ein Beitrag zum Heteromorphismus der Blutfarbstoffkristalle
des Pferdes.*

Rękopis nadesłany w dniu 23.IV.1936

Das Oxyhämoglobin aus dem Pferdsblute, dessen leichte Kristallisierbarkeit fast von allen Autoren bestätigt wird, kristallisiert, wie es schon F u n k e und nach ihm K o b e r t, M o s e r, F r i e b o e s festgestellt haben, in Form von Prismen, deren Zugehörigkeit zum rhombischen Kristallisationsystem keinem Zweifel unterliegt. Die Frage, ob ein Heteromorphismus in der Kristallisation dieses Blutfarbstoffes festzustellen ist, wurde zum ersten Mal von U h l i k behandelt, der aus faulendem Blut oder in alten Präparaten, in denen die Kristalle bereits aufgelöst waren, nach einiger Zeit eine Neubildung von Kristallformen feststellen konnte, und zwar in Form von sechseckigen Tafeln, die, wie es aus seiner grundlegenden Arbeit hervorzugehen scheint, jedenfalls zu einem anderen Kristallisationssystem und zwar dem hexagonalen gehörten. M ö l l e n h o f f konnte jedoch diese Angaben U h l i k s nicht bestätigen; er erhielt zwar aus faulendem Blut sechsseitige Formen, rechnet sie aber der Kristallisationsform des reduzierten Hämoglobins oder des Methämoglobins zu, da sie mit Leichtigkeit nach Einwirkung von Ferricyankalium auf das Hämolisat erhalten werden konnten. In der vorliegenden Arbeit wurden die betreffenden Untersuchungen und Experimente von U h l i k und teilweise von M ö l l e n h o f f wiederholt, indem die Kri-

stallisierbarkeit und Kristallisationsform des faulenden Pferdeblutes geprüft wurde. Es wurden dabei sowohl Kristallisationsproben mit, unter Luftabschluss in eingeschmolzenen Röhren, faulendem Blute angestellt, wie auch mit Blutproben, die durch tagelanges Stehen in Zimmertemperatur zur Fäulnis gebracht wurden. Die Resultate waren verschieden. Aus den erstgenannten Proben konnten überhaupt keine Kristalle gewonnen werden; diese Tatsache ist mit der allgemein bekannten grösseren Schwierigkeit der Kristallisation des reduzierten Hämoglobins infolge dessen leichteren Löslichkeit, gut in Einklang zu bringen; aus der zweiten Gruppe wurden dagegen ausschliesslich prismatische Formen erhalten, die sich von den Prismen, die aus frischem Hämolisat gewonnen waren, nur durch raschen Zerfall, welcher schon auf leichtesten Druck des Deckglases erfolgte, unterschieden. Des weiteren wurde die Kristallisation des, mittels Natrium hydrosulfurosum, reduzierten Hämolises untersucht, — jedoch keine Kristalle erhalten. Der besonders rasche und leichte Zerfall der aus faulendem Blute gewonnenen Prismen, brachte den Gedanken nahe, dass vielleicht im Laufe des Kristallisationsprozesses, hexagonale Kristalle wohl entstehen könnten, die aber sofort wieder zerfallen, und aus diesem Grunde der Beobachtung entweichen, — deshalb wurden einzelne Phasen des Kristallisationsprozesses kontinuierlich untersucht. Im allgemeinen konnten drei ineinander übergehende Phasen in der Kristallisation unterschieden werden; die erste zeichnet sich durch sehr dünne, sternförmig angeordnete Nadeln aus, in der zweiten Phase findet ein deutlicher Zuwachs der Nadelngrösse und ausserdem deren radiäre Anordnung statt, in der dritten endlich bilden sich Prismen aus, die für das rhombische Kristallisationssystem charakteristisch sind. Der Heteromorphismus, also die Möglichkeit der Kristallisation eines Farbstoffes in zwei grundsätzlich verschiedenen Kristallformen und Kristallisationssystemen wird also auch auf Grund meiner Experimente, in denen der Kristallisationsprozess in seinen einzelnen Phasen beobachtet wurde, widerlegt. Das Entstehen der von Uhlik beschriebenen hexagonalen Kristalle, scheint mir dadurch erklärt zu sein, dass sie nicht aus reinem Hämolisat auskristallisierten, sondern aus faulendem Blut, wo infolge der

Fäulnisprozesse, weitgehende chemische Destruktion stattfand, die nicht nur das Hämoglobin aber auch alle anderen organischen Stoffe, vor allem aber die Serumeiweissstoffe verändern musste.

Hemoglobina konia należy do stosunkowo łatwo krystalizujących gatunków barwika krwi i tworzy jako O_2Hb formy krystaliczne przy użyciu prostych metod, różniących się od siebie przeważnie odmiennym sposobem hemolizy albo użyciem takiej czy innej optymalnej temperatury. Po raz pierwszy otrzymał ją w formie krystalicznej Funke ('48) z krwi pobranej z żyły śledzionowej, używając jako środków hemolizujących wody destylowanej, alkoholu i eteru. Opisał on dokładnie kształt otrzymanych kryształów; były to pryzmaty, które zaliczył do rombowego systemu krystalizacji. Łatwość wypadania barwika krwi konia w formie krystalicznej podkreślają niemal wszyscy autorowie, którzy zajmowali się później tą kwestją (K o b e r t '01, M o s e r '02, F r i e b o e s '03, M ö l l e n h o f f '23); obudziła zaś ona ponownie zainteresowanie w związku z opisanem przez U h l i k a ('04) zjawiskiem rzekomego „heteromorfizmu”, to jest możliwością istnienia dwu odrębnych w swojej postaci krystalizacyjnej form tegoż samego barwika, należących zarazem do dwu różnych systemów krystalizacyjnych.

Myśl tę nasunęła U h l i k o w i przypadkowa obserwacja. Zauważył on mianowicie w starym preparacie kryształów hemoglobiny konia tworzenie się odmiennych form krystalicznych w miejsce już rozpuszczonych pryzmatów, mianowicie wyraźnie odgraniczonych sześciobocznych tabliczek. Dalejsze jego w tym kierunku przeprowadzone badania potwierdziły ową przypadkową obserwację. Posługując się metodą alkoholowo-eterową H o p p e S e y l e r a ('67), wykonywał on mianowicie w tym celu serje preparatów z krwi, którą przechowywał przez czas dłuższy, nie zapobiegając jej gniciu; we krwi tej zachodziły w miarę postępu tego procesu zmiany, mianowicie hemolizat przybierał barwę raczej odpowiadającą hemoglobinie odtlenionej, miał on odcień fioletowy, zaś w preparatach z takiego hemolizatu sporządzonych wypadały kryształy odmienne od typowych form.

Mianowicie w miarę postępu gnicia, w preparatach sporządzanych kolejno w pewnych odstępach czasu, wytwarzające się kryształy posiadały wyraźny kształt sześciobocznych tabliczek, zaś pryzmatów nie udawało mu się już w tych warunkach otrzymać. Niezbędnym warunkiem występowania tej odmiennej postaci kryształów, był proces gnicia, powodujący prawdopodobnie redukcję barwika. Wpływ temperatury zaznaczał się o tyle, że temperatura niższa (od $0^{\circ}C$ do $+9^{\circ}C$) raczej sprzyjała ich wytwarzaniu się niż wyższa ($+20^{\circ}C$ do $+25^{\circ}C$), w temperaturze pośredniej natomiast tworzyły się obok siebie równocześnie obydwie postaci krystaliczne. Sposób hemolizy, zwłaszcza ilość użytych do tego celu odczynników, również nie

pozostawała bez wpływu; naogół zaś wystarczała ilość coraz mniejsza w miarę postępu procesu gnicia. Niektóre z takich kryształów były zupełnie niemal homogenne, inne zawierały mniejsze lub większe ziarenka. Ziarnista ta struktura miała — według U h l i k a — swe źródło w tem, że alkohol dodawany do hemolizatu strącał częściowo globinę, na tych zaś strątach wykrywał się barwik, miały to być niejako jądra krystalizacyjne, zamykane w tworzącym się na nich ciełe kryształów. W niektórych zaś przypadkach dokładne badanie struktury wewnętrznej owych heksagonalnych tabliczek wykazywało w nich obok wyżej wspomnianych bezpostaciowych ziarenek, drobne igiełki i pryzmaty, które powiększały się w miarę rozpadu form sześciobocznych. Formy sześcioboczne zaś były bardzo nietrwałe i rozpadały się już przy lekkim ucisku szkiełka nakrywkowego. Również dodanie do preparatu roztworu macierzystego powodowało szybki ich rozpad. Przynależność form heksagonalnych do odmiennego systemu krystalizacji stwierdził U h l i k na podstawie badań tych kryształów w świetle spolaryzowanym, genezę zaś tłumaczy „przekształceniami molekularnymi”, jakim ulega oksyhemoglobina w gnijącej krwi.

Kwestją heteromorfizmu zajmował się także M o e l l e n h o f f ('23). Otrzymał on zarówno jedną jak i drugą postać, uważał jednak zjawisko heteromorfizmu za pozorne, a opisane przez U h l i k a heksagonalne formy za kryształy odtlenionej hemoglobiny. Tezę swą opierał na fakcie, że postaci heksagonalne otrzymać można jedynie z krwi gnijącej. Potwierdzenia swego zapatrywania szukał M o e l l e n h o f f z jednej strony w badaniach spektroskopowych otrzymanych kryształów, z drugiej zaś dążył do otrzymania form heksagonalnych z odtlenionego sposobem odmiennym roztworu barwika, więc np. przez usuwanie tlenu zapomocą wywiewy lub przez redukcję odczynnikiem S t o k e s ' a. W próbach tych nie zdołał jednak otrzymać postaci heksagonalnych, jedynie po dodaniu do hemolizatu żelazicjanku potasu występować miały wyraźne sześcioboczne tabliczki, podobne do opisanych przez U h l i k a, jednak różniące się od tamtych większą trwałością oraz swym zachowaniem spektralnym, wykazywały bowiem smugi absorcyjne methemoglobiny.

W niniejszej pracy powtórzyłam badania U h l i k a, w części zaś także M o e l l e n h o f f a; stosowałam jednak odmienną metodę krystalizacji, dającą lepsze wyniki, mianowicie metodę saponinową A m a n t e a ' y ('23). Idąc po linii zapatrywań M o e l l e n h o f f a, starałam się o rozgraniczenie prób krystalizacji z roztworu oksyhemoglobiny od takichże z hemoglobiny zredukowanej, którą odpowiednio przygotowywałam do badań. Hemolizat przygotowywałam przez dodanie saponinów do krwi-

nek odwirowanych od osocza i przemytych kilkakrotnie izotonicznym roztworem chlorku sodu. Izotonję określałam dla każdej próby oddzielnie według metody Hamburgera ('28).

P r ó b y k r y s t a l i z a c j i z h e m o l i z a t u
r e d u k o w a n e g o p o d s i a r c z y n e m s o d u.

Próby z redukcją hemolizatu podsiarczynem sodu wykonałam na krwi 12 zwierząt. Dodanie tego odczynnika powodowało zmianę zabarwienia hemolizatu z żywo czerwonego na odcień raczej fioletowy, kontrola zaś spektroskopowa wykazywała zniknięcie smug absorbujących O_2Hb i pojawienie się charakterystycznej smugi hemoglobiny odtlenionej, między λ 593 i 557. Z tak potraktowanego hemolizatu wykonałam serje preparatów do krystalizacji, jedną wprost na szkiełkach podstawowych, drugą w krystalniczках. Szczegółowe wyniki prób są zestawione w tabeli I.

T a b e l a I.

Krystalizacja po redukcji podsiarczynem sodu. Hemoliza saponinowa.
Kristallisation nach der Reduktion mit Natriumhydrosulfit. Saponinhämolyse.

Próba krwi <i>Blutprobe</i>	Ilość krwinek <i>Blutkörper- chenmenge</i> cm ³	Ilość sapon. <i>Saponin- menge</i> g	Temp. krystal. <i>Krist. Temp.</i> 'C	Badanie spektr. <i>Spektral- probe</i>	W y n i k i <i>E r g e b n i s s e</i>
1	1	0.01	1	Hb	Brak krystalizacji
2	1	0.01	0	Hb	Brak krystalizacji
3	1	0.1	0	Hb	Brak krystalizacji
4	1	0.1	— 2	Hb	Brak krystalizacji
5	1	0.2	— 5	Hb	Brak krystalizacji
6	1	0.2	— 7	Hb	Brak krystalizacji
7	1	0.3	— 5	Hb	Brak krystalizacji
8	1	0.3	— 5	Hb	Zarysy pryzmatów
9	1	0.3	— 5	Hb	Brak krystalizacji
10	1	0.3	— 5	Hb	Zarysy pryzmatów
11	1	0.3	— 5	Hb	Brak krystalizacji
12	1	0.3	— 5	Hb	Brak krystalizacji

Jak widać z tabeli, ilość dodanego czynnika hemolizującego, podobnie jak temperatura, w której poddawano preparaty krystalizacji, nie wpływała wybitnie na przebieg krystalizacji, z tem oczywiście zastrzeżeniem, że raczej temperatura niższa by-

ła korzystna. Wyniki prób były zatem negatywne z wyjątkiem dwu, w których poddając hemolizaty zredukowane krystalizacji (jak zawsze po kontroli mikrospektroskopowej), otrzymałam w podobnych zresztą warunkach twory o zarysach przyrządów, niecałkowicie wykształconych, które skupione były na brzegu preparatu, i cechowały się wyraźną tendencją do rozpadu, tak, że po upływie niecałych 10 minut od chwili sporządzenia preparatu, zupełnie się rozpląnęły. Form heksagonalnych w żadnym z preparatów nie otrzymałam.

P r ó b y k r y s t a l i z a c j i z k r w i g n i j ą c e j
b e z d o s t ę p u p o w i ę t r z a w z a t o p i o n y c h
r u r k a c h s z k l a n y c h.

W tej serii prób wirowałam świeżą odwłóknioną krew konia, poczem oddzielone krwinki przemywałam kilkakrotnie izotonicznym roztworem chlorku sodowego. Z krwinek tych sporządzałam hemolizat przez dodanie saponinów, poczem wciągałam go do rurek szklanych, których końce następnie zatapiałam. W rurkach tych pozostawiałam go przez 7 — 14 dni w temperaturze pokojowej; ulegał on stopniowo zmianom gnilnym, których widocznym znakiem była wyraźna zmiana barwy. Po upływie tego czasu, nie otwierając rurek, umieszczałam je w niskiej temperaturze od -1° C do -7° C na kilka dni, poczem otwierałam i możliwie najszybciej sporządzałam preparat z ich zawartości, otaczając go na brzegach szkiełka nakrywkowego balsamem kanadyjskim, by uchronić od dłuższego zetknięcia z tlenem powietrza. Każdy w ten sposób sporządzony preparat badałam mikrospektroskopem, by się przekonać, jakie w nim występują smugi absorbcyjne. Otrzymanie kryształów z takiego hemolizatu było tem trudniejsze, im dalej proces gnicia był posunięty; gdy z hemolizatu gnijącego przez czas krótszy (5 — 7 dni) można jeszcze było otrzymać cienkie, łatwo rozpuszczające się igły, to po upływie dalszych 2 tygodni (a więc przy daleko już posuniętym procesie gnicia) nie można było już wogóle otrzymać form krystalicznych. Jedynie w trzech przypadkach, przy niedostatecznie szybkim sporządzaniu preparatów, wystąpiły w nich cienkie, promienisto ułożone igły, które po kilku godzinach urosły do

pryzmatów nieco szerszych od normalnych, otrzymywanych ze świeżej krwi. Przypominały one swym wyglądem kryształy, opisane przez Mosera w postaci tabliczek; Moser jednak wyraźnie zaznacza, że tabliczki takie wytwarza hemoglobina odtleniona, w moim jednak przypadku kontrola mikrospektroskopowa wykazała utlenienie się hemolizatu, spowodowane zbyt powolnym postępowaniem w czasie sporządzania preparatów; były to więc niewątpliwie kryształy, zawierające oksyhemoglobinę.

Próby z krwią gnijącą przy dostępie powietrza.

Odmienne od wyżej opisanych były wyniki, otrzymane w preparatach z krwi gniącej w otwartym naczyniu szklanym. W serji tej hemolizowałam odwirowane i przemyte krwinki bądź to sposobem Amante'a'y, bądź przez kilkakrotne zamrażanie ich i kolejne odtajanie; ten ostatni sposób pozwalał uniknąć przymieszki ciał obcych, które mogłyby (być może) wpływać niekorzystnie na wypadanie krystalicznych form. Hemolizat przechowywałam w temperaturze około 17° C. Już po upływie kilku dni poczęły wypadać kryształy, osadzając się w grubej warstwie na dnie naczynia. Osad krystaliczny, który trzymany w niskiej temperaturze przetrwał kilka (6 — 7) tygodni, wykazywał zrazu nawet dość wyraźny przyrost, co niewątpliwie było wyrazem zwiększenia się ilości wypadających kryształów; dopiero po upływie 7 tygodni uległ on stopniowemu rozplynięciu. W pobieranych zeń próbach przez cały czas jego trwania, widoczne były bardzo liczne pryzmaty, typowe dla barwika krwi konia, stosunkowo dobrze wykształcone i szerokie, może zaś nieco krótsze od uzyskiwanych ze świeżej krwi. Pryzmaty te przedstawia rys. 1 (p. tablica I w końcu tekstu).

Pryzmaty te były nadzwyczaj nietrwałe i już w bardzo krótkim czasie po sporządzeniu preparatów rozplywały się, tak że nawet utrwalenie ich na kliszy było z tego powodu trudne. Płyn, który pozostawał na szkiełku, zdawał się posiadać barwę jaśniejszą, odpowiadającą większemu nasyceniu tlenem, aniżeli preparat, w którym pryzmaty jeszcze nie uległy rozpuszczeniu.

To ostatnie spostrzeżenie nie ma — rzecz prosta — żadnej wartości dowodowej i jest ściśle podmiotowe.

Nietrwałość tych kryształów, zwłaszcza ich szybki rozpad po sporządzeniu preparatów oraz przy najlżejszym nawet ucisku szkiełkiem nakrywkowym, nasuwały myśl, że formy sześcioboczne, opisane przez Uhlika, mogły natychmiast po wytworzeniu się ulec rozpadowi i dlatego nie udało mi się ich otrzymać; dlatego też postanowiłam zbadać zachowanie się barwika krwi konia przez cały czas krystalizacji, aż do chwili rozpadu kryształów. W tym celu obserwowałam kolejne fazy od pierwszego zawiązku i tworzenia się kryształów, aż do rozplynięcia się i utrwalania je na zdjęciach mikro fotograficznych. Wyróżniłam w procesie tym cztery fazy, które widoczne są na załączonych zdjęciach mikro fotograficznych. Rys. 2 (p.tabl. I) przedstawia fazę najwcześniejszą, t. j. początek formowania się kryształów. Widoczne są cienkie, ostro od tła odcinające się i ciemniejsze od niego igły, ułożone w charakterystyczny sposób, przypominający wieloramienną gwiazdę. Należy jednak wyraźnie zaznaczyć, że ułożenie takich igieł jest odmienne na granicy szkiełka nakrywkowego, gdzie z jednolitej masy cieczy wysterczają one ku wolnej przestrzeni w kierunku środka preparatu; gwiazdy charakterystyczne dla tej pierwszej fazy tworzą się zatem tylko w przestrzeni wolnej, odległej od brzegu preparatu. Gwiazdziste ułożenie kryształów zaznacza się mniej więcej w dwie godziny po wykonaniu preparatu i trwa przez dalsze dwie godziny, tak, że czas trwania tej pierwszej fazy krystalizacyjnej wynosi około 4 godzin. Następną z kolei fazę przedstawia rys. 3 (p. tablica I).

Kryształy przedstawiają się teraz już jako igły znacznie grubsze, co jest wyrazem ich wzrostu; ponadto druga faza cechuje się odmiennym ułożeniem poszczególnych igieł, odbiegającym bardzo znacznie od pierwotnego ułożenia gwiazdzistego, możnaby je raczej uważać za promieniste. Owo promieniste ułożenie występuje mniej więcej w 5 godzin po sporządzeniu preparatów i trwa około 6 — 8 godzin, zależnie oczywiście od warunków, w jakich się krystalizacja odbywa; te ostatnie mogą w bardzo szerokim zakresie modyfikować czas, konieczny do wypadnięcia ostatecznie wykształconych form kryształów. Przyrost kryszta-

łów zarówno w osiach krótkich, jak i długich, zapoczątkowany już w fazie drugiej, postępuje dalej w ostatniej fazie krystalizacji, która przedstawiona jest na rys. 4 (p. tabl. I).

Z masy wypadniętych igieł wyrasta pryzmat, który jest typową postacią krystalizacyjną dla krwi konia. Czas trwania krystalizacji, t. j. najkrótszy konieczny czas dla uformowania się igieł w pryzmaty, wynosił zatem około 12 godzin. Na rys. 5 widoczne są typowe dla krwi konia pryzmaty.

Są one bardzo podobne do pryzmatów, przedstawionych w pracy U h l i k a, z tą jednak różnicą, że gdy U h l i k wyraźnie podnosi, iż uzyskane przez niego pryzmaty były bezbarwne, tutaj występowało doskonale ich zabarwienie, przez co wyraźnie odcinały się od jaśniejszego tła.

Na podstawie powyższych wyników wypada stwierdzić, że krew konia, której krystalizację badałam kolejno we wszystkich fazach, t. j. od chwili zawiązku pierwszych igieł aż do wytworzenia się pryzmatów i ich rozpadu: 1) nie krystalizuje w innym systemie krystalizacyjnym, jak tylko rombowym; 2) krew gnijąca w zatopionych rurkach szklanych zatracala stopniowo zdolność wypadania w formie krystalicznej w miarę postępu procesu gnicia; 3) krew gnijąca w otwartym naczyniu dawała obfity osad krystaliczny, który badany drobnowidowo wykazywał stale tylko formy pryzmatyczne, różniące się od pryzmatów, otrzymywanych ze świeżej krwi konia, jedynie swą nietrwałością i szybkim rozpadem; wreszcie 4) krew zredukowana podsiaczymem sodu nie dawała form krystalicznych wogóle. Wynik ten jest zresztą zgodny z przyjętym ogólnie poglądem, że postaci krystaliczne zarówno hemoglobiny utlenionej, jak też zredukowanej, są izomorficzne w obrębie danego gatunku krwi, bez indywidualnych odchyłeń (B a r k a n), jak też z twierdzeniem v. K r ü g e r a (*25), który otrzymał ze zredukowanej hemoglobiny krwi konia wyłącznie tylko pryzmaty.

Być może, że przyczyn, które pozwoliły U h l i k o w i uzyskać wysoce nietrwałe i przejściowe postaci heksagonalne, należałoby szukać z jednej strony w działaniu dodawanego alkoholu, z drugiej zaś w fakcie, że używał on krwi nieodwłóknionej, przez co krystalizacja następowała nie z czystego roztworu hemoglobiny, ale w środowisku, w którym w miarę procesu gnicia zachodziły zmiany, dotyczące już nie tylko samego barwika, ale też pozostałych składników osocza, zwłaszcza zaś białek surowiczych i włókniaka.

Streszczenie.

Niemожność otrzymania kryształów heksagonalnych z krwi gnijącej przy dostępie powietrza oraz obserwacja kolejnych faz w tworzeniu się pryzmatów z takiego hemolizatu, wyłączają możliwość istotnego heteromorfizmu w krystalizacji oksyhemoglobiny z krwi konia. Podobnie nie udało się otrzymać owych odmiennych form krystalicznych w próbach nad krystalizacją hemoglobiny zredukowanej sposobem chemicznym, czy też — z hemolizatu, uzyskanego z krwi, gnijącej w zatopionych rurkach szklanych. Rozbieżność między wynikami powyższymi a danymi U h l i k a tłumaczy się odmienną metodyką krystalizacji (dodawanie alkoholu przez U h l i k a, który pracował według metody H o p p e S e y l e r a), jak też częściowo faktem, że w badaniach nad heteromorfizmem autor posługiwał się gnijącą krwią jedynie odwłóknioną, a nie czystym hemolizatem z krwinek: we krwi takiej zachodziły bowiem w miarę postępu procesu gnilnego, daleko idące zmiany, dotyczące już nie tylko samego barwika, ale także ciał organicznych osocza, zwłaszcza zaś pozostałych białek surowiczych.



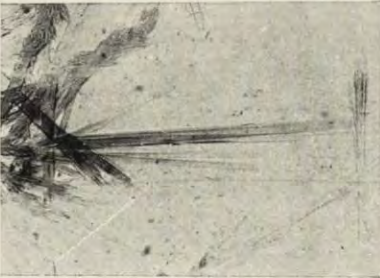
1.



2.



3.



4.



5.

J. M. Müller.

Objaśnienie rysunków. — Tafelerklärung.

Objektyw Reichert 3x, okular 7x. Powiększenie 120-krotne.

Objekt. Reichert 3, Okul. 7x, 120 - fache Vergrößerung.

Rys. 1. Kryształy otrzymane z gnijącej krwi konia. Czas trwania krystalizacji około 3 tygodnie.

Fig. 1. Die aus faulendem Pferdeblut erhaltenen Kristalle. Kristallisationsdauer 3 Wochen.

Rys. 2. Pierwsza faza krystalizacji oksyhemoglobiny krwi konia. Gwiazdźdźiste ułożenie igieł. Czas trwania krystalizacji około 2 godziny.

Fig. 2. Erste Kristallisationsphase des Pferdeoxyhämoglobins. Sternförmige Anordnung der Nadeln. Kristallisationsdauer 2 Stunden.

Rys. 3. Druga faza krystalizacji oksyhemoglobiny krwi konia. Promieniste ułożenie igieł. Czas trwania krystalizacji 6 godzin.

Fig. 3. Zweite Kristallisationsphase des Pferdeoxyhämoglobins. Radiäre Anordnung der Nadeln. Kristallisationsdauer 6 Stunden.

Rys. 4. Trzecia faza w krystalizacji oksyhemoglobiny krwi konia. Przekształcenie się igieł w pryzmaty. Czas trwania krystalizacji 12 godzin.

Fig. 4. Dritte Kristallisationsphase des Pferdeoxyhämoglobins. Übergang der Nadeln in prismatische Kristallform. Kristallisationsdauer 12 Stunden.

Rys. 5. Pryzmatyczne kryształy oksyhemoglobiny krwi konia. Czas trwania krystalizacji 12 godzin.

Fig. 5. Kristallisiertes Pferdeoxyhamoglobin in der Gestalt von Prismen.

P i s m i e n n i c t w o .

A m a n t e a G. 1923. La cristallizzazione dell'emoglobina studiata col metodo della saponina. Arch. di fisiol. 21/2. — F u n k e O. 1848. Über das Milzvenenblut. Henle's u. Pfeufer's Ztschr. f. rationelle Medizin 1, cyt. wg. H. U. K o b e r t a. 1903. Über das mikrokristallographische Verhalten des Wirbeltierblutes. — F r i e b o e s W. 1903. Über die Moserschen Kristalle. Pflügers Arch. f. d. ges. Phys. 98. (434—451). — H o p p e S e y l e r. 1867. Med. Chem. Untersuchungen. cyt. wg. G. B a r k a n: Der normale rote Blutfarbstoff. Hdb. d. norm. u. path. Phys. VI. (82). — H a m b u r g e r. Osmotischer Druck u. Jonenlehre. I. cyt. wg. P. M o r a w i t z: Messung des Blutumsatzes. Hdb. d. norm. u. path. Phys. VI. (210). 1928. K r ü g e r: Wintersteins Hdb. der norm. u. path. Phys. VI 1. (85). — M o s e r: cyt. wg. F r i e b o e s l. c. M o e l l e n h o f f: 1923. Untersuchungen über Hämoglobinkristalle von Säugetieren. Ztschr. f. Biologie. 79. (93). — U h l i k. 1904. Über den Heteromorphismus des Pferdbluthämoglobines. Pflügers Arch. f. d. ges. Phys. 104. (64—88).

[Zakład Chemji Fizjologicznej Wydziału Lekarskiego Uniwersytetu
Poznańskiego].

Kierownik: Prof. Dr. S t e f a n D a b r o w s k i.

A. Sławiński.

**O budowie roztworów koloidalnych. II. Wewnętrzna budowa
erytrocytów.**

*Sur la structure des solutions colloïdales. II. La structure intérieure
des hématies.*

Pour étudier la structure intérieure des hématies, on hémolyse une portion du sang par congélation, ou avec de l'eau, et une autre portion avec de la digitonine. Dans le premier cas la membrane des hématies est détruite, mais il se forme de suite une nouvelle membrane autour de chaque agglomération de particules d'hémoglobine; dans le second cas les nouvelles membranes ne se forment pas. En faisant des mesures de conductivité du sang ainsi hémolysé, par la méthode décrite dans la partie I de ce mémoire, on constate que dans le cas du sang hémolysé par congélation, ou dilution, le courant ne pénètre pas par les membranes nouvellement formées, mais il ne rencontre aucun obstacle et atteint chaque particule d'hémoglobine dans le sang hémolysé par la digitonine. Les données obtenues permettent de faire les conclusions suivantes sur la structure intérieure des hématies.

Les hématies sont entièrement remplies „d'hémoglobules”, qui sont des agrégats sphériques de molécules d'hémoglobine. L'espace entre les molécules d'hémoglobine est occupé par un fluide diélectrique, cytoplasma ou eau, dont la présence n'est pas révélée par les mesures osmotiques. Les „hémoglobules” se touchent et occupent environ 50 p. 100 de l'intérieur des hé-

maties, étant probablement en ordre cubique. Le milieu dispersif entre les „hémoglobules” est conducteur. Son volume correspond à peu près au volume d’„eau libre” trouvé dans les hématies osmotiquement. Il est possible que les variations du volume d’„eau libre”, constatées dans des cas pathologiques, soient dues à des changements d’arrangement des „hémoglobules” dans les hématies. L’eau contenue dans la membrane des hématies pourrait aussi jouer un rôle, si cette membrane est assez épaisse, comme on le pense généralement.

We krwi hemolizowanej otoczka krwinek jest zniszczona i uwolniona hemoglobina tworzy zawiesinę, którą łatwo badać z pomocą przewodnictwa.

Pierwsze pomiary przewodnictwa krwi hemolizowanej robił S t e w a r t ('99) i znalazł, że przewodnictwo to jest zmienne i zależne od użytego środka hemolizującego: zamrażania lub wody z jednej strony, albo saponiny z drugiej strony. Ale dopiero niedawne pomiary F r i c k e 'g o pojemności elektrostatycznej krwinek objaśniły mniej więcej powód wspomnianego zjawiska (P o n d e r '34).

Najlepszy sposób badania zawiesin polega na oznaczaniu ich objętości, a nie przewodnictwa. W przypadku krwi hemolizowanej możnaby się spodziewać, że po zniszczeniu otoczek cała faza ciekła krwinek, a więc około połowy ich zawartości według osmometrycznych lub chlorometrycznych pomiarów (R a s z e j a i S ł a w i ŋ s k i '34), złączyły się z osoczem i objętość fazy rozproszonej odpowiednio spadnie. Otóż tak nie jest: objętość zawiesin krwi hemolizowanej przez zamrażanie lub rozcieńczenie wodą jest niewiele mniejsza od objętości zawiesin krwi pierwotnej, i tylko hemoliza wykonana zapomocą digitoniny¹⁾ daje oczekiwaną bardzo zmniejszoną objętość. Jest oczywiste, że ani zamrażanie, ani rozcieńczenie krwi wodą nie uwalniają całkowicie ośrodka dyspersyjnego krwinek, które następuje dopiero pod działaniem digitoniny. P o n d e r objaśnia, że zamraża-

1) Przy pomiarach przewodnictwa należy używać digitoninę, która nie zmienia przewodnictwa, a nie saponinę, która je zmienia.

nie i rozcieńczenie wodą nie uwalnia ośrodka dyspersyjnego, bo tylko uszkadza otoczkę krwinek, która się później odnawia. To objaśnienie nie jest ściśle. Pewna reparacja otoczek jest możliwa i prawdopodobna, ale jako prawidło — krwinki kilka razy hemolizowane, przez zamrażanie i odtajanie lub rozcieńczenie wodą, tracą całą swą zawartość i otoczka już nie chroni tej zawartości od prądu. Jeżeli pomimo to uwolniony ośrodek dyspersyjny pozostaje nadal nieprzewodzącym, to prawdopodobnie dlatego, że nowa ochrona, nowa błona tworzy się wokoło niego i cząstek hemoglobiny.

Sprężystość krwinek.

Pierwsze oznaczenia objętości zawiesin krwi hemolizowanej robiliśmy mierząc stosunek przewodnictwa osocza do przewodnictwa krwi hemolizowanej. Te pomiary były dokładne, o ile chodzi o względne wielkości, ale niedokładne, o ile chodzi o wielkości absolutne, i z tego powodu zostały zaniechane na korzyść uprzednio opisanego (część I pracy) prawidłowego sposobu oznaczania objętości koloidalnych zawiesin. Ale i te pierwsze pomiary były pouczające, jako że wykazują sprężystość wewnętrznej zawartości krwinek, jak widać z załączonej tabeli.

Tabela.

Porównanie objętości krwi solonej, niehemolizowanej, z objętością tej samej krwi, ale hemolizowanej.

Nr.	R o d z a j k r w i	Objętość krwinek we krwi niehemoliz.	Objętość fazy rozproszonej we krwi hemolizowanej	
			przez zamrażanie	przez rozcień. wodą
0	Krew naturalna, podrachowana	46.52	—	—
1	Krew solona $p_1 = 0.1971$, mierzona	42.23	41.71	41.86
2	" " $p_2 = 0.4469$ "	38.75	41.57	—
3	" " $p_3 = 0.7823$ "	35.88	41.47	—

Krew końska Nr. 1 zadana szczawianem sodowym, która służyła do tych pomiarów, była rozdzielona na cztery części. Trzy części, z których dwie jeszcze więcej solone, były zhemolizowane przez zamrażanie, a czwarta była zhemolizowana przez rozcieńczenie równą sobie ilością wody. Objętość krwinek krwi

pierwotnej, nie solonej, była obliczona na podstawie wzoru (8) (Sławiński '33), a objętość zawiesin krwi rozcieńczonej wodą była pomnożona przez dwa, celem porównania z objętością krwi hemolizowanej przez zamrażanie.

Porównywując dane tej tabeli widać, że objętości zawiesin 1-ej, 2-ej i 3-ej krwi są po zhemolizowaniu jednakowe i przeważnie większe, niż odpowiednie objętości krwinek przed hemolizą. To wskazuje na sprężystość wewnętrznej zawartości krwinek, która powraca do objętości zajmowanej uprzednio w krwi naturalnej z chwilą zwolnienia od ucisku otoczek. To i inne, dalej podane doświadczenia, nastroczają następujące przypuszczenia co do wewnętrznego ustroju krwinek.

Wewnętrzny ustrój krwinek.

Już uprzednio (Raszeja i Sławiński '34) była wypowiedziana myśl, że krwinki są wypełnione „hemosferami”, a wolną przestrzeń między nimi zajmuje ośrodek dyspersyjny. Pomiary przewodnictwa krwi hemolizowanej potwierdzają to przypuszczenie. „Hemosfery” to skupienia drobin hemoglobiny z międzydrobinowym ośrodkiem dyspersyjnym, który jest dielektryczny, a więc prawdopodobnie spolaryzowany. Przestrzeń między „hemosferami” jest wypełniona wolnym, przewodzącym ośrodkiem dyspersyjnym, pozbawionym lub prawie pozbawionym zawiesin. We krwi hemolizowanej przez zamrażanie lub rozcieńczenie wodą „hemosfery” nie są indywidualnie wolne, lecz tworzą skupienia, które się pokrywają błonami. Te błony nie wytrzymują ciśnienia osmotycznego, bo sól i woda je przenikają swobodnie, jak wykazują pomiary, ale widocznie, zaraz po przerwaniu błony znów poprawiają się, bo całość nie przepuszcza prądu. Skupienia „hemosfer”, pokryte błonami, można by nazwać „workami hemosfer”. Te worki są sprężyste i zajmują we krwi hemolizowanej całą objętość, którą zajmowały uprzednio w krwinkach, nie będąc wszakże wtedy prawdopodobnie „workami”, a skupieniami niepokrytymi błonami.

Liczbowe dane.

W załączonych tabelach przedstawiamy całkowity pomiar sposobem przewodnictwa krwi końskiej hemolizowanej. Jedna

część tej krwi była użyta do pomiarów osocza, druga do pomiarów krwi hemolizowanej przez zamrażanie, a trzecia do pomiarów krwi hemolizowanej z pomocą digitoniny.

Pod Nr. 1 są podane dane i odpowiedni rachunek tyczący osocza, przeprowadzony przy pomocy wzorów (1), (2) i (3), podanych w części I tej pracy. Obliczone wielkości były:

$$v = 9.7\% ; w = 14.5\% ; c = 0.84\% .$$

Nr. I. Pomiary osocza.

Stosunek oporu naturalnego osocza do oporu:	k a b	Toniczność NaCl %	Przewodnictwo cząsteczkowe		
			$\%_d$	$\%_i$	$\%_s$
1) 0.85% roztworu NaCl	1.291	—	—	89.8	—
2) Solonego osocza $p = 0.600$	1.719	$0.84 + \frac{0.600}{0.903} = 1.50$	—	89.9	86.2
3) Rozcień. osocza $d = 0.500$	0.566	$\frac{0.84 \times 0.903}{1.903} = 0.40$	94.4	89.9	—

O b r a c h o w a n i a

		Oznaczenia
(1)	$\frac{\text{Zaw. } w}{\text{elekt. } c} = \frac{1.291 \cdot 0.84}{0.85 \cdot 89.8} = 1.278 = \frac{\text{Zaw. } 14.5\%}{\text{swój elekt.}}$	$c = 0.84\%$ $w = 14.5\%$
(2)	$c(1 - v) = \frac{0.600}{\frac{89.9}{86.2} \cdot 1.719 - 1} = 0.757 = 0.84 \times 0.903$	$c = 0.84\%$ $v = 9.7\%$
(3)	$\frac{\text{Zaw. } w}{\text{zaw. } 0.5} = \frac{89.9}{94.4 \cdot 0.903} \cdot 0.566 = 1.135 = \frac{\text{Zaw. } 14.5\%}{\text{zaw. } 7.25\%}$	$v = 9.7\%$ $w = 14.5\%$

Pod Nr. II są dane i rachunek tyczący krwi hemolizowanej przez zamrażanie. Otrzymane wielkości były:

$$v = 46.5\% ; w = 68.45\% ; c = 0.84\% .$$

Nr. II. Pomiary krwi hemolizowanej przez zamrażanie.

Stosunek oporu krwi hemolizowanej Nr. II. do oporu:	k a b	Toniczność NaCl %	Przewodnictwo cząsteczkowe		
			$\%_d$	$\%_i$	$\%_s$
1) 0.85% roztworu NaCl	4.761	—	—	89.8	—
2) Solonej krwi Nr. II $p = 0.610$	2.193	$0.84 + \frac{0.610}{0.535} = 1.98$	—	89.9	84.4
3) Rozcień. „ „ $d = 0.500$	1.037	$\frac{0.84 \times 0.535}{1.535} = 0.29$	95.7	89.9	—

O b r a c h o w a n i a		Oznaczenia
(1)	$\frac{\text{Zaw. } w}{\text{elekt. } c} = 4.761 \cdot \frac{0.84}{0.85} \cdot \frac{89.9}{89.8} = 4.721 = \frac{\text{Zaw. } 68.45\%}{\text{swój. elekt.}}$	$c = 0.84\%$ $w = 68.45\%$
(2)	$c(1-v) = \frac{0.610}{\frac{89.9}{84.4} \cdot 2.193 - 1} = 0.450 = 0.84 \times 0.535$	$c = 0.84\%$ $v = 46.5\%$
(3)	$\frac{\text{Zaw. } w}{\text{zaw. } 0.5 w} = \frac{89.9}{95.7} \cdot \frac{1.535}{0.535} \cdot 1.037 = 2.795 = \frac{\text{Zaw. } 72\%}{\text{zaw. } 36\%}$	$v = 46.5\%$ $w = 72\%$

Pod Nr. III są dane i rachunek krwi hemolizowanej digitoniną. W tym wypadku obliczone wielkości były:

$$v = 24.5\%; w = 43.9\%; c = 0.84\%.$$

Nr. III. Pomiary krwi hemolizowanej digitoniną.

Stosunek oporu krwi hemolizowanej Nr. III do oporu:	k a b	Toniczność NaCl %	Przewodnictwo cząsteczkowe		
			% _d	% _i	% _s
1) 0.85% roztworu NaCl	2.347	—	—	89.8	—
2) Solonej krwi Nr. III $p = 0.600$	1.853	$0.84 + \frac{0.600}{0.755} = 1.63$	—	89.9	85.6
3) Rozcień. „ „ „ $d = 0.500$	0.731	$\frac{0.84 \times 0.755}{1.755} = 0.36$	94.7	89.9	—

O b r a c h o w a n i a		Oznaczenia
(1)	$\frac{\text{Zaw. } w}{\text{elekt. } c} = 2.347 \cdot \frac{0.84}{0.85} \cdot \frac{89.9}{89.8} = 2.323 = \frac{\text{Zaw. } 43.9\%}{\text{swój elekt.}}$	$c = 0.84\%$ $w = 43.9\%$
(2)	$c(1-v) = \frac{0.600}{\frac{89.9}{85.6} \cdot 1.853 - 1} = 0.634 = 0.84 \times 0.755$	$c = 0.84\%$ $v = 24.5\%$
(3)	$\frac{\text{Zaw. } w}{\text{zaw. } 0.5 w} = \frac{89.9}{94.7} \cdot \frac{1.755}{0.755} \cdot 0.731 = 1.612 = \frac{\text{Zaw. } 45\%}{\text{zaw. } 22.5\%}$	$v = 24.5\%$ $w = 45.0\%$

Rozpatrując tabele widać, że zgodność równań (1), (2) i (3) jest dobra w przypadku osocza (I), ale niezupełnie zadowalniająca w przypadku krwi hemolizowanej (II i III). Powodem tej niezgodności może być niezupełne zniszczenie otoczek przy zamrażaniu i niezupełne zniszczenie nieprzewodzących błon digitoniną. Chociaż krew była zamrażana i odmrażana pięć razy, aż do zupełnego zaniku „cieni”, zniszczenie otoczek mogło nie być dostateczne. Hemolizę digitoniną należy też wystudjować lepiej. Jej działanie mogło nie być zupełne, choć wielki nadmiar

(1%) był użyty, który był odwirowany następnie, przed pomiarem.

Zobaczmy, co przedstawiają oznaczone objętości.

Objętość dielektrycznej fazy krwi hemolizowanej przez zamrażanie, $w = 68.45\%$, jest objętością „worków hemosfer”, więcej objętość dielektrycznych zawiesin osocza, więcej objętość zawiesin rozdrobnionych otoczek krwinek.

Osmotycznie wykryta, z użyciem soli i wody, objętość rozproszony fazy krwi hemolizowanej przez zamrażanie, $v = 46.5\%$, jest objętością „hemosfer”, więcej objętość białka osocza, więcej objętość białka otoczek krwinek.

Objętość dielektrycznej fazy krwi hemolizowanej digitoniną, $w = 43.9\%$, jest objętością „hemosfer”, więcej objętość białka osocza, więcej objętość białka otoczek krwinek. Ta objętość, 43.9% , niezupełnie zgadza się z tą samą objętością, 46.5% , znalezioną we krwi hemolizowanej zamrażaniem.

Osmotycznie wykryta objętość rozproszony fazy krwi hemolizowanej digitoniną, $v = 24.5\%$, jest objętością hemoglobiny, więcej objętość białka osocza, więcej objętość białka otoczek krwinek.

Powyższe dane pozwalają obliczyć objętość „worków hemosfer”, „hemosfer” i hemoglobiny.

Wiedząc, że objętość krwinek we krwi pierwotnej była 67.86% ¹⁾, i że osocze zawierało 14.5% dielektrycznych zawiesin białka, znajdujemy:

Ogólna objętość zawiesin pierwotnej krwi $67.86 + 0.3214 \times 14.5 = 72.52\%$

Ogólna objętość zawiesin krwi hemolizowanej przez zamrażanie $= 68.45\%$

Zmniejszenie objętości po hemolizie przez zamrażanie $= 4.07\%$

To zmniejszenie w stosunku do objętości krwinek $4.07 : 0.6786 = 6.0\%$

Zmniejszenie objętości po hemolizie prawdopodobnie w całości zależy od zwolnienia ośrodka dyspersyjnego, zawartego w otoczkach krwinek, ale 6% zdaje się być wartością nieco za wielką. Ponieważ tak lub inaczej musimy przyjąć pewną dowolną wielkość objętości otoczek krwinek, chcąc obliczyć inne

¹⁾ Ta krew była umyślnie stężona, by zmniejszyć szybkość opadania krwinek, w celu umożliwienia dokładnego oznaczenia ich objętości 1-szym sposobem (Sławiński '34), mierząc przewodnictwo krwi w stanie zawieszenia krwinek.

objętości, przyjmujemy liczby, które wydają się najbardziej prawdopodobne, a mianowicie:

Zawartość białka w otoczkach	8%	objętości krwinek
Objętość dielektrycznego płynu w otoczkach	4%	„ „
Objętość wolnego płynu w otoczkach	4%	„ „

Na zasadzie tego założenia obliczamy dalej:

Objętość otoczki krwinek (grubość otoczki 0.17μ) = $8 + 4 + 4 = 16\%$
„ „worków hemosfer”, lub „wewnętrzna” objęt. krwinek = 84%
„ „hemosfer” we krwi = $43.9 - 0.3214 \times 14.5 - 0.6786 \times 12.0 = 31.1\%$
„ „ w krwinkach = $31.1 : 0.6786 = 45.8\%$
„ „ w „wewnętrznej” objęt. krwinek = $45.8 : 0.84 = 55\%$
„ hemoglobiny we krwi = $24.5 - 0.3214 \times 9.7 - 0.6786 \times 8 = 15.95\%$
„ „ w krwinkach = $15.95 : 0.6786 = 23.5\%$
„ „ w „hemosferach” = $15.95 : 31.1 = 51.3\%$

„Hemosfery”.

Powyższe dane wykazują, że objętość „hemosfer” w krwinkach, która wynosi około 46%, jest prawdopodobnie objętością fazy rozproszonej krwinek oznaczonej osmometrycznie, która może wynosić 54%, mniej 8% objętość białka w otoczce krwinek. Taby znaczyło, że pomiary osmotyczne nie wykrywają płynu zawartego w „hemosferach”, i że te ostatnie są chronione *in vitro* przez nieprzepuszczalną otoczkę. Płyn między drobinami hemoglobiny nie jest również wykryty z pomocą wody i soli we krwi hemolizowanej przez zamrażanie, bo w tym przypadku woda i sól nie przenikają, przynajmniej swobodnie, do wnętrza „hemosfer”. Ale jest możliwe, że we krwi tak hemolizowanej otoczka „hemosfer” jest wółprzenikliwa i że pewna niezgoda danych Nr. II krwi badanej jest spowodowana osmometrycznymi zmianami objętości „hemosfer”.

Otoczka „hemosfer” daje się ostatecznie zniszczyć działaniem digitoniny, bo we krwi tak hemolizowanej, działając solą i wodą, wykrywamy płyn zawarty w „hemosferach”. To wykrycie mówi wyraźnie, że płyn między drobinami hemoglobiny ma własność rozpuszczania, przynajmniej w warunkach doświadczenia. Na korzyść tego przemawia także oczywista potrzeba dopuszczania tlenu do hemoglobiny.

Zjawia się teraz pytanie, czy „hemosfery” mają także otoczkę *in vivo*. Jeżeli chlor jest obecny w całej fazie płynnej krwinek, zarówno we wnętrzu „hemosfer” jak i między nimi, wtedy mogłoby nie być otoczki *in vivo* i w takim razie obrachowanie wykazuje, że stężenie chloru w fazie płynnej krwinek jest mniejsze niż w osoczu. Ale jeżeli chloru niema w fazie płynnej „hemosfer”, wtedy musi być uznana obecność *in vivo* otoczki selekcyjnej lub przeszkody wykluczającej jony chloru ze wnętrza „hemosfer”, ale dopuszczającej tlen. W tym przypadku stężenie chloru po obu stronach otoczki krwinek wydaje się być jednakowe, jak było już wskazane uprzednio (R a s z e j a i S ł a w i ń s k i '34).

Powyższe obliczenia są tylko próbne, ale wydaje się pewnym, że skupienia hemoglobiny tworzą we wnętrzu krwinek mniej lub więcej prawidłowe układy kul w styku. Dalsze badania powinny wykazać, czy te układy są stałe i te same w różnych krwinkach. Jeżeli nie, to ta zmienność może być przyczyną wahań objętości „wolnej wody” krwinek w stanach patologicznych, a także przyczyną tego, że krwinki końskie zawierają mniej „wolnej wody” niż ludzkie.

W związku z powyższem można jeszcze zaznaczyć, że objętość fazy rozproszonej w białku jaj kurzych (patrz I pracę tej serji) i w jajach niektórych bezkręgowców morskich (B i a ł a s z e w i c z '32) jest mniej więcej równa 24%, w czem można widzieć wskazówkę jednakowości układów skupień białkowych w tych przypadkach.

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

Pomiary krwi hemolizowanej, wykonane z pomocą nowego sposobu przewodnictwa, wykazują następującą budowę krwinek:

1°. Krwinki są zapełnione „hemosferami”, które są skupieniami drobin hemoglobiny i zajmują około połowy wewnętrznej objętości krwinek, będąc prawdopodobnie w układzie sześciennym.

2°. Płyn między drobinami hemoglobiny jest dielektryczny i może być cytoplazmą lub mniej więcej czystą wodą, nato-

miast płyn między „hemosferami” jest wolnym ośrodkiem dyspersyjnym i przewodnikiem prądu.

3°. Pomiary osmotyczne nie wykazują obecności płynu zawartego we wnętrzu „hemosfer”, między drobinami hemoglobiny, a tylko tą część ośrodka dyspersyjnego, która się znajduje między „hemosferami”.

P i ś m i e n n i c t w o .

Stewart G. N. 1899. The behaviour of the haemoglobin and electrolytes of the coloured corpuscles when blood is laked. *J. Physiol.*, 24 (211). — Ponder E. 1934. The mammalian red cell and the properties of haemolytic systems. Borntraeger, Berlin. — Raszeja S. et Sławiński A. 1934. Sur la répartition du chlore entre le plasma et le cytoplasma des hématies dans le sang normal et dans le sang salé. *Bull. Ac. Sc. Polon., Cl. de Médecine* (445) lub *Bull. Soc. Chim. biol.*, 16 (1692). — Sławiński A. 1934. Détermination du volume des corps diélectriques en suspension ou en dépôt dans un électrolyte, par la méthode des „deux tubes”. *Bull. Ac. Sc. Polon., Cl. de Médecine* (1) lub *Bull. Soc. Chim. biol.*, 16 (448). — Sławiński A. 1933. Une nouvelle méthode permettant de déterminer la quantité d'eau libre des hématies. *Bull. Ac. Sc. Polon., Cl. de Médecine* (21) lub *Bull. Soc. Chim. biol.*, 15 (982). — Białaszewicz K. 1932. Sur la détermination du volume de la phase dispersée dans les cellules vivantes. *Acta Biol. Exper.*, 7 (135).

[Zakład Fizjologii Instytutu im. Nenckiego T.N.W.].

G. Szwejkowska.

**Wpływ temperatury na przebieg krzywej dysocjacji
oksyhemoglobiny we krwi żółwia.**

*L'influence de la température sur le parcours de la courbe de la
dissociation de l'oxyhémoglobine dans le sang de la tortue.*

Rękopis nadesłany w dniu 2.VI. 1936 r.

Edwards et Dill ('35) ont constaté dans leurs études concernant le sang des reptiles que la courbe de dissociation d'oxyhémoglobine chez *Sauromalus*, *Heloderma*, *Alligator* et *Crocodylus* à la température de 25°C, ressemble à celle des animaux homéothermes et notamment à la lettre S, et que par contre la courbe de dissociation du sang chez *Pseudemys concinna* (Southworth et Redfield '26) à la même température se rapproche d'une hyperbole équilatère.

Le caractère de la courbe nous conduit à la question de savoir si l'hémoglobine des divers espèces animales est toujours identique, ou si sa constitution chimique varie. Krogh et Leitch ('09), qui ont étudié les poissons des eaux grandes profondeurs supposent que le sang des poissons, vivant dans des conditions de pression partielle d'oxygène plus basse, est adapté à ces conditions quant à la faculté de transporter ce gaz.

En rapport avec l'opinion de Krogh et en rapport avec la différence de forme de la courbe de dissociation du sang chez la tortue, constatée par Southworth et Redfield il nous a paru intéressant d'étudier l'influence de la température sur le tracé de la courbe chez *Emys orbicularis*. Les données relatives à l'absorption de l'oxygène par l'hémoglobine de la tortue à la température de 37°C, nous ont permis de compa-

rer le sang de la tortue à celui des animaux homéothermes quant à l'aptitude d'absorber l'oxygène.

Dans nos études relatives à l'influence de la température sur la courbe de dissociation de l'oxyhémoglobine dans le sang de la tortue nous avons employé la méthode de Barcroft pour saturer le sang d'oxygène. On effectuait la saturation à deux températures différentes: 20°—24° et 37°C, sous une pression partielle de CO₂ égale à environ 40 mm de Hg. Nous avons déterminé les gaz du sang par la méthode de van Slyke, et nous avons analysé le gaz contenu dans le saturateur à l'aide de l'appareil de Tobiesen, modifié par Biłaszewicz ('33).

Nous avons présenté les résultats quantitatifs de nos expériences dans le tableau I. En nous basant sur les chiffres qui s'y trouvent, nous avons tracé les courbes de dissociation (fig. 1). Nous y donnons aussi, pour comparer, les courbes de dissociation du sang humain, à deux températures.

Il résulte de nos données que la courbe de saturation du sang de la tortue par l'oxygène, à la température de la chambre, présente la forme rapprochée d'une hyperbole, de même que celle de *Pseudemys concinna* à la température de 25°, et que la moitié de l'hémoglobine est déjà saturée d'oxygène à la pression partielle de ce gaz = 22 mm Hg. Par contre, la courbe obtenue à la température de 37.5° a la forme de la lettre S, tandis que la moitié de la saturation se produit à une pression partielle de l'oxygène plus élevée, dépassant notamment 37 mm Hg.

Si nous comparons les courbes de dissociation chez la tortue avec les courbes analogues chez l'homme, nous verrons que le sang humain absorbe, dans les mêmes conditions, beaucoup plus d'oxygène que celui de la tortue, ce qui est conforme aux résultats obtenus par Macela et Seliškar ('25) avec des solutions d'hémoglobine de la tortue et de l'homme. En outre, à la température de 37.5°C et à des pressions partielles de O₂ variant de 0 à 8 mm Hg, nous n'avons point constaté d'absorption d'oxygène par le sang de la tortue.

Pour caractériser plus complètement le sang de la tortue il faut souligner que l'absorption d'oxygène par le sang total, exprimée en % de volume, oscille, selon les individus, de 7.66

vol % à 10.23 vol %, à la température de 20°—24°C, et de 6.89 vol % à 10.91 vol % à la température de 37° C.

En ce qui concerne l'aptitude d'absorber l'anhydride carbonique, le sang de la tortue, à la température de la chambre, absorbe en moyenne 62 vol % et, à la température de 37.5°C 52 vol %. Le premier chiffre est de 14 p. c. plus petit que celui obtenu par Southworth et Redfield à la température de 25°.

En appliquant à nos résultats l'équation bien connue de Hill $\left(\frac{y}{100} = \frac{Kx^n}{1 + Kx^n} \right)$ où y indique le degré de saturation de l'Hb par l'oxygène, x la pression partielle de l'oxygène, K la constante d'équilibre de la réaction, n le degré de polymérisation de l'Hb, et en nous basant sur la courbe logarithmique de l'expression: $\log \frac{y}{1-y} - \log x$ nous avons constaté que la valeur n est constante à la température donnée quelle que soit la pression partielle de l'oxygène; ce fait concorde avec les opinions de Hill, mais il contredit les résultats, obtenus par Bock, Field et Adair ('24) en ce qui concerne le sang humain ainsi que ceux de Wastl et Leiner ('31) qui ont étudié le sang des oiseaux, où n varie sous l'influence de la pression partielle de l'oxygène. Nous avons obtenu pour n la valeur 1.88, à la température de la chambre, et 2.36 à la température de 37.5°. Quant à la valeur de K , elle varie, à la température 20°—24°, dans les limites de 208×10^{-5} à 985×10^{-5} , tandis qu'à celle de 37.5° de 116×10^{-6} à 441×10^{-6} .

Dane, dotyczące wpływu temperatury na przebieg krzywej dysocjacji HbO₂ u zwierząt zmiennocieplnych, są bardzo skąpe. Dill, Edwards i Florkin ('32) w pracy nad właściwościami krwi ryb spodoustnych (*Raja oscillata*) podają przebieg krzywych dysocjacji oksyhemoglobiny w różnych temperaturach. W temperaturach niższych (0.2°, 10.4°) krzywa dysocjacji przebiega w ten sposób, że — przy niewielkich ciśnieniach częściowych tlenu (w obrębie 20 mm Hg) — krew wykazuje duży stopień nasycenia tlenem, wskutek czego krzywa posiada kształt, zbliżony do hiperboli prostokątnej. W temperaturach wyższych (25°, 37°) ilość zwią-

zanego tlenu jest mniejsza, przyczem w obrębie niskich ciśnień częściowych tego gazu krzywa wykazuje wypukłość w kierunku osi odciętych.

Co się tyczy krwi gadów, to posiadamy dane, dotyczące wiązania tlenu przez hemoglobinę, jedynie w temperaturze około 20°C. Z prac E d w a r d s a i D i l l a ('35) nad gadami (*Sauromalus*, *Heloderma*, *Alligator*, *Crocodilus*) wynika, że wiązanie tlenu przebiega podobnie jak u ssaków, gdyż wszystkie krzywe posiadają charakterystyczne wygięcie w kształcie litery S.

Inaczej przedstawia się ta sprawa u żółwia *Pseudemys concinna* (S o u t h w o r t h i R e d f i e l d '26). Wymienieni autorowie podają przebieg krzywej dysocjacji HbO₂ w temperaturze 25° pod ciśnieniem częściowym CO₂ około 40 mm Hg. Z przebiegu tej krzywej widać, że w obrębie niskich ciśnień częściowych tlenu (około 20 mm Hg) nie posiada ona wygięcia w kierunku osi odciętych, lecz początkowy jej odcinek jest linią prostą.

Jeżeli dla scharakteryzowania właściwości krwi pod względem zdolności wiązania tlenu zastosujemy wartość ciśnienia częściowego O₂, przy którym połowa hemoglobiny nasycza się tym gazem („tension unloading” K r o g h a), to okazuje się, że krew żółwia posiada zdolność wiązania tlenu w stopniu wyższym niż inne gady (tab. II).

Z charakterem przebiegu krzywej dysocjacji wiąże się zagadnienie, czy Hb różnych gatunków zwierzęcych jest identyczna, czy różni się pod względem budowy chemicznej. Na podstawie przebiegu krzywej dysocjacji HbO₂, znalezionej przez K r o g h a i L e i t c h ('19) u ryb dennych, żyjących w warunkach mniej korzystnych od innych ryb pod względem zaopatrzenia w tlen, K r o g h wypowiedział przypuszczenie, że krew ryb, żyjących w warunkach niższych ciśnień tlenu, jest przystosowana do tych warunków pod względem zdolności przenoszenia tego gazu.

W związku z powyższym poglądem K r o g h a oraz ze stwierdzoną przez S o u t h w o r t h a i R e d f i e l d a różnicą, dotyczącą kształtu krzywej dysocjacji krwi żółwia w porównaniu z innymi gadami, uważaliśmy za rzecz ciekawą zbadanie wpływu temperatury na przebieg krzywej u *Emys orbicularis*. Uzyskanie danych, dotyczących wiązania tlenu przez Hb żółwia w temperaturze 37°, dałoby nam możliwość porównania krwi żółwia z krwią zwierząt stałocieplnych pod względem zdolności wiązania tlenu.

Metodyka.

Zadanie nasze polegało na wyznaczeniu przebiegu krzywej dysocjacji HbO₂ we krwi żółwia w zależności od temperatury. W tym celu przygotowaliśmy mieszaniny gazowe o stałej zawartości CO₂ (około 40 mm Hg) i zmiennej ilości tlenu. Wartość około 40 mm dla CO₂ uzyskaliśmy, analizując powietrze pęcherzykowe żółwia. W charakterze gazu obojętnego uży-

wano w tym przypadku azotu. Przy nasycaniu krwi posługiwaliśmy się metodą Barcrofta. Krew, pobrana z lewego łuku aorty, przechowywana na lodzie, wprowadzaliśmy do saturatora z odpowiednią mieszaniną gazową, przygotowywaną w następujący sposób: saturator o pojemności około 250 cm³, opróżniony przy pomocy pompy, wypełniany był azotem; po usunięciu odpowiedniej objętości azotu, wprowadzano do saturatora dwutlenek węgla. Po wymieszaniu gazów i wyrównaniu ciśnienia w saturatorze z ciśnieniem atmosferycznym wprowadzano do saturatora tlen z biurety, opisanej przez Hendersona ('35). Krew wprowadzano do saturatora przy pomocy strzykawki przez nakłócie grubej rurki gumowej, łączącej wylot saturatora z niewielką krótką próbkówką. Nasycanie krwi odbywało się w dwu temperaturach (około 20^o i 37^o) w ciągu 20 min. Gdy po nasyceniu krew spłynęła do próbkówki, wprowadzaliśmy do niej płynną parafinę. Po nałożeniu na rurkę gumową mocnego zaciskacza, próbkówkę z krwią odłączaliśmy, a gaz, zawarty w saturatorze, analizowaliśmy w aparacie Tobiesena, zmodyfikowanym przez Białaszewicza ('33). Gazy, zawarte we krwi, oznaczano przy pomocy metody van Slyke'a ('24).

Część doświadczalna.

W celu zbadania wpływu temperatury na przebieg krzywej dysocjacji oksyhemoglobiny u żółwia wykonaliśmy szereg analiz krwi na zawartość w niej gazów w temperaturze pokojowej, wahającej się od 20^o—24^oC oraz w temperaturze 37.5^o. Pozostałe warunki nasycania krwi tlenem w obu przypadkach były identyczne. Wyniki liczbowe, otrzymane przy pomocy tych analiz, podaliśmy w tab. I. Na podstawie tych liczb wykreśliśmy krzywe, które podajemy na rys. 1. Krzywa dysocjacji w temperaturze pokojowej (20^o) w początkowym swym przebiegu w obrębie niskich ciśnień częściowych tlenu (15 mm Hg) posiada zaledwie nieznaczne wygięcie w kierunku osi odciętych, wskutek czego zbliżona jest na tym odcinku do linii prostej. W obrębie ciśnienia tlenu od 15 mm do 60 mm Hg krzywa uzyskuje znaczną wypukłość w kierunku osi rzędnych. Jeżeli weźmiemy pod uwagę krzywą, otrzymaną w temperaturze 37.5^o, to widzimy, że ilość O₂, związanego pod temi samymi ciśnieniami częściowymi gazu, jest znacznie mniejsza, a oprócz tego krzywa uzyskuje wyraźniejszy kształt litery S, dzięki czemu staje się podobna do analogicznej krzywej dla krwi ssaków (rys. 1). W temperaturze tej w obrębie niskich ciśnień tlenu nie stwierdziliśmy przy pomocy stosowanej metody wiązania tlenu przez hemoglobinę; pod ciśnieniem częściowym tlenu około 12 mm Hg

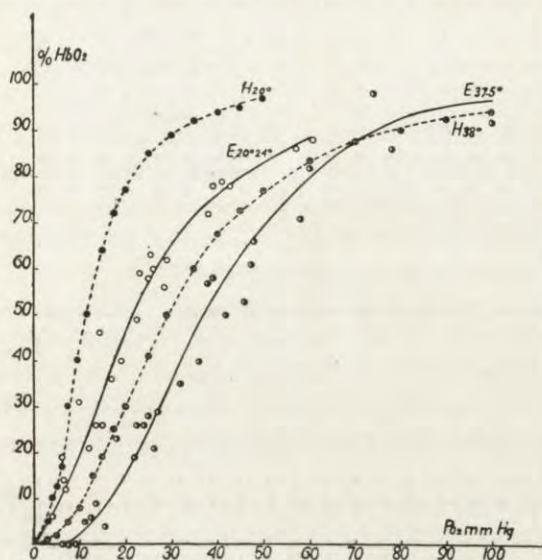
Tabela I.

Zawartość gazów we krwi żółwia w zależności od temperatury.

Influence de la température sur la teneur du sang de tortue en gaz.

Nr. doświad. Nr. de l'expér.	Data — Date	Temperatura 20° — 24° Température 20° — 24°					Temperatura 37° Température 37°				
		p_{CO_2}	CO ₂	p_{O_2}	O ₂	$\frac{\%}{\text{nasy-ceniade satu-rotation}}$	p_{CO_2}	CO ₂	p_{O_2}	O ₂	$\frac{\%}{\text{nasy-ceniade satu-rotation}}$
		mmHg	vol %	mmHg	vol %		mmHg	vol %	mmHg	vol %	
2	31.V.35	37	58	140.0	9.03	100					
		36	58	6.6	1.27	14					
		38	62	9.6	2.80	31					
		36	56	14.6	4.17	46					
		36	57	25.6	5.65	63					
4	5.VI.35	37	78	142.0	9.75	100					
		36	77	7.3	1.21	12					
		37	79	14.5	2.54	26					
		36	76	22.6	4.75	49					
6	15.VI.35	39	54	144.0	8.09	100	38	44	145.0	6.89	100
		37	61	11.7	1.71	21	38	48	7.1	0	0
		38	64	13.4	2.08	26	38	47	12.6	0.38	6
		37	54	25.0	4.73	58	39	44	24.0	1.82	26
		36	56	41.0	6.43	79	37	41	39.0	4.01	58
		35	51	60.4	7.15	88	36	40	57.0	5.95	86
7	17.VI.35	38	67	144.0	8.34	100	39	52	143.0	7.46	100
		36	65	4.1	0.49	6	39	54	7.7	0	0
		36	62	23.0	4.89	59	38	54	18.0	1.7	23
		37	64	29.0	5.21	62	35	49	25.0	2.07	28
		36	62	43.0	6.48	78	35	49	42.0	3.75	50
		39	60	145.0	7.66	100					
8	25.VI.35	38	62	6.1	1.48	19					
		37	58	25.8	4.56	60					
		34	54	38.0	5.55	72					
		38	58	39.0	5.97	78					
		38	56	146.0	10.13	100					
10	27.VI.35	35	51	17.0	3.72	36	39	47	146.0	8.78	100
		38	53	19.3	4.08	40	40	49	8.2	0	0
		37	57	28.5	5.43	56	38	45	15.5	0.36	4
		38	45	22.6	2.27	26	38	45	22.6	2.27	26
14	24.VIII.35	39	67	144.0	9.42	100	39	67	144.0	9.42	100
		38	68	26.4	1.97	21	37	66	32.4	3.31	35
		37	66	36.3	3.79	40	37	66	36.3	3.79	40
		36	63	38.4	5.22	57	36	63	38.4	5.22	57
		36	61	47.7	6.22	66	36	61	47.7	6.22	66
		34	60	60.2	7.73	82	34	60	60.2	7.73	82
		34	58	73.8	9.19	98	34	58	73.8	9.19	98
		38	59	144.0	10.91	100	38	59	144.0	10.91	100
		37	60	11.0	0.51	5	37	60	11.0	0.51	5
		37	60	13.4	1.00	9	37	60	13.4	1.00	9
15	28.VIII.35	36	60	21.7	2.10	19	36	60	21.7	2.10	19
		37	58	27.0	3.19	29	37	58	27.0	3.19	29
		36	56	46.0	5.76	53	36	56	46.0	5.76	53
		37	56	47.5	6.61	61	37	56	47.5	6.61	61
		36	54	58.0	7.77	71	36	54	58.0	7.77	71
		34	53	78.0	9.42	86	34	53	78.0	9.42	86
		34	51	102.0	10.13	92	34	51	102.0	10.13	92

zaledwie kilka procentów hemoglobiny nasycy się tlenem; dopiero począwszy od ± 20 mm Hg ilość związanego tlenu znacznie się zwiększa, dzięki czemu w obrębie ciśnień od 0 do 20 mm Hg krzywa uzyskuje wygięcie w kierunku osi odciętych.



Rys. 1. Krzywe dysocjacji krwi żółwia i człowieka w różnych temperaturach pod ciśnieniem częściowym CO_2 , równym 40 mm Hg. H_{28}° — krew ludzka w 38° ; E_{20-24}° — krew żółwia w temperaturze 20° — 24° ; $\text{E}_{37,5}^{\circ}$ — krew żółwia w $37,5^{\circ}$.

Fig. 1. Courbes de dissociation du sang de tortue et de l'homme à différentes températures, sous pression partielle de CO_2 égale à 40 mm de Hg. H_{28}° — sang humain à 38° C; H_{38}° — sang humain à 38° C; E_{20-24}° — sang de tortue à 20° — 24° C; $\text{E}_{37,5}^{\circ}$ — sang de tortue à $37,5^{\circ}$.

Porównywując krzywą dysocjacji HbO_2 u *Emys orbicularis* w temperaturze 20° — 24° z krzywami, które otrzymali Southworth i Redfield ('26) na krwi *Pseudemys concinna* w temperaturze 25° , stwierdzamy, że krzywe wymienionych autorów odbiegają od naszej w tym znaczeniu, że posiadają nieznaczny wklęsłość od strony osi odciętych, co czyni je podobnymi do krzywej hiperbolicznej. Zdolność wiązania tlenu przez krew *Emys* i *Pseudemys* przedstawia się w sposób następujący: u pierwszego gatunku 50% nasycenia Hb występuje pod ciśnieniem częściowym tlenu, równym 21,5 mm Hg, u drugiego pod ciśnieniem 19 mm dla krwi o zawartości 14,5% erytrocytów i 27 mm dla krwi, zawierającej 22% czerwonych ciałek.

łek, czyli zdolność wiązania tlenu przez Hb u tych gatunków zółwi jest prawie jednakowa.

Zestawiając następnie nasze krzywe dysocjacji z krzywymi, otrzymanymi dla człowieka (Brown i Hill '23), należy podkreślić, że krew zółwia zarówno w temperaturze pokojowej, jak i w 37° wiąże w jednakowych warunkach ciśnienia tlenu znacznie mniej tlenu niż krew ludzka. Fakt ten zgadza się z wynikami, otrzymanymi przez Macela'ę i Seliškara ('25) na roztworach hemoglobiny zółwia i człowieka. Autorowie ci znaleźli, że w jednakowych warunkach chemicznych i termicznych hemoglobina ludzka wykazuje większą zdolność wiązania tlenu niż Hb zółwia.

Przechodząc do bardziej szczegółowego omówienia krzywych, widzimy, że w temperaturze 37° kształt obu krzywych jest podobny, z tą różnicą, że w obrębie niskich ciśnień tlenu (od 0 do 8 mm Hg) u zółwia nie stwierdziliśmy wiązania tlenu.

W temperaturze pokojowej krzywa dysocjacji u człowieka posiada wyraźny kształt litery S, natomiast u zółwia w początkowym odcinku zbliżona jest do linii prostej. Poza to należy zaznaczyć, iż z przebiegu 4-ch krzywych widać, że różnica w zdolności wiązania tlenu przez krew zółwia i człowieka w temperaturze pokojowej wyrażona jest o wiele ostrzej na korzyść krwi ludzkiej niż to ma miejsce w temperaturze 37°, gdzie ta różnica w miarę coraz wyższych ciśnień tlenu zaciera się, a wreszcie pod ciśnieniem 70 mm Hg obie krzywe przecinają się.

W celu lepszego zorientowania się, jak pod względem zdolności wiązania tlenu przedstawia się krew zółwia w porównaniu z krwią innych zwierząt, podajemy dokonane na podstawie danych z literatury zestawienie ciśnień częściowych tlenu, pod którymi połowa hemoglobiny nasycy się tym gazem (tab. II). Z zestawienia wynika, że zdolność wiązania tlenu przez hemoglobinę różnych gatunków zwierzęcych nie jest jednakowa. U ryb „tension unloading” w temperaturze około 20°, z wyjątkiem *Raja*, przedstawia wartości niskie: od 1 do 15 mm Hg; u płazów i gadów (z wyjątkiem krokodyla) wynosi w tej samej temperaturze 20 mm do 30 mm Hg. Jeżeli chodzi o zwierzęta stałocieplne, to w temperaturze 37.5° t_u u ptaków jest dwu-

Tabela II.

Prężność tlenu, przy której Hb jest nasycona w 50%.

Pression partielle d'oxygène correspondant à la demisaturation de l'hémoglobine.

Zwierzę <i>Animal</i>	t°	P _{CO₂} mm Hg	t _u mm Hg	Autor <i>Auteur</i>
<i>Cyprinus, Anguilla</i>	15	1—6	1—3	Kroghi Leitch ('18—'19)
<i>Gadus, Pleuronectes</i>	15	1—6	12—15	" "
<i>Cyprinus</i>	18	30	12—13	Wastl ('28)
<i>Raja</i>	25	1	45	Dill, Edwards i Florkin ('32)
<i>Rana esculenta</i>	20	16	21	Wolvekamp i Lodewijks ('34)
<i>Rana temporaria</i>	20	17	21	" "
<i>Heloderma</i>	20	37	32	Edwards i Dill ('35)
<i>Sauromalus</i>	20	37	24	Dill, Edwards, Bock i Talbott ('35)
<i>Alligator</i>	20	42	28	Dill i Edwards ('35)
<i>Crocodilus</i>	29	29	40	" " ('31)
<i>Pseudemys</i>	25	40	19—28	Southworth i Redfield ('26)
<i>Emys</i>	20	38	21	Szwejkowska (p. rys. 1)
<i>Columba</i>	37.5	40	44	Wastl i Leiner ('31)
<i>Homo</i>	37.5	40	25	Bock, Field i Adair ('24)

Tabela III.

Wpływ temperatury na wartość t_u.*Influence de la température sur la valeur t_u.*

Zwierzę <i>Animal</i>	t°	P _{CO₂} mm Hg	t _u mm Hg	Autor <i>Auteur</i>
<i>Raja oscillata</i>	25	1	45	Dill, Edwards i Florkin ('32)
	37.5	1	98	
<i>Rana esculenta</i>	12	—	7	Wolvekamp i Lodewijks ('34)
	20	—	10	
<i>Heloderma suspectum</i>	20	37	32	Edwards i Dill ('35)
	25	37	39	
	37.5	37	60	
<i>Emys orbicularis</i>	20—24	38	22	Szwejkowska (por. rys. 1)
	37.5	38	37	
<i>Columba</i>	12	40	12	Wastl i Leiner ('31)
	22	40	24	
	32	40	37	
	37.5	40	44	
	42	40	51	
<i>Homo</i>	20	40	12	Brown i Hill ('23)
	30	40	19	
	38	40	29	
	43	40	36	

krotnie wyższe niż u człowieka. Przy wzroście temperatury od normalnej, w jakiej żyje dane zwierzę zmiennoocieplne, do temperatury ciała stałocieplnych następuje prawie dwukrotne zwiększenie wartości t_u (tab. III).

Kształt krzywej dysocjacji HbO_2 zależy, według teorii Hilla - Barcrofta, od stopnia polimeryzacji cząsteczek Hb wzgl. HbO_2 . Stopień polimeryzacji oznacza Hill w swym równaniu literą n ; wartość n jest według tego autora wielkością stałą.

Nie wszyscy jednak autorowie podzielają ten pogląd. Bock, Field i Adair ('24), badając przebieg krzywej dysocjacji HbO_2 ludzkiej, wykazali, że wartość wyrazu $\log \frac{y}{1-y} - \log x$ nie jest linią prostą, jak u Hilla, lecz krzywą, której nachylenie do osi odciętych zmienia się w miarę, jak rośnie stopień nasycenia Hb tlenem. Z tego wynika, że n nie jest wielkością niezmienną. Wastli i Leiner ('31) stwierdzili to samo również u ptaków.

Stosując równanie Hilla $\left(\frac{y}{100} = \frac{Kx^n}{1 + Kx^n} \right)$ do wyników, uzyskanych na krwi żółwia, otrzymaliśmy dla wyrażenia $\log \frac{y}{1-y} - \log x$ linię prostą; stopień jej nachylenia do osi odciętych zależy tylko od temperatury. Zatem wartość n jest w danej temperaturze wielkością stałą, niezależną od stopnia nasycenia Hb, a zmienia się tylko ze zmianą temperatury: w pokojowej wynosi 1.88, w temperaturze 37.5° — 2.36.

Fakt ten nie jest zgodny z tem, co otrzymali Wastli i Leiner u ptaków, a mianowicie: wartość n (u gołębia i kaczki) nie zmienia się w zależności od temperatury, natomiast rośnie ze wzrostem nasycenia Hb tlenem; wykazali oni, że w granicach nasycenia od 10% do 90% wartość n wzrasta od 1 do 5.4.

Co się tyczy stałej dysocjacji oksyhemoglobiny K , to wartość jej w naszych doświadczeniach jest niezależna od ciśnienia częściowego tlenu, zależy jednak od temperatury. W temperaturze pokojowej wartości dla K wahają się w granicach od 208×10^{-5} do 985×10^{-5} , w temperaturze 37.5° są mniejsze i wynoszą od 116×10^{-6} do 441×10^{-6} . Wartości K , uzyskane dla żółwia są tego samego rzędu, co wartości, otrzymane dla ptaków. Pozatem wpływ temperatury na stałą K jest u ptaków

taki sam, jak u żółwia, natomiast pod wpływem wzrostu stopnia nasycenia K u ptaków maleje.

Jeżeli będziemy interpretowali charakter krzywych dysocjacji HbO_2 u ptaków i u żółwia z punktu widzenia wartości K i n , to możemy powiedzieć, że w obu przypadkach temperatura wpływa na ten czynnik, który warunkuje położenie krzywej dysocjacji w stosunku do osi spórzędnych; zatem K , określające to położenie, maleje w miarę wzrostu temperatury zarówno u żółwia jak i u ptaków, co wyraża się w większym nachyleniu krzywych w kierunku osi odciętych. Wartość n natomiast, określająca kształt krzywej dysocjacji, u ptaków nie ulega pod wpływem temperatury zmianie. U żółwia zaś zależność wartości n od temperatury wyrażona została na krzywej w ten sposób, że w temperaturze $20^\circ\text{--}24^\circ$ krzywa w początkowym swym odcinku wykazuje zaledwie nieznaczne, w porównaniu z krzywą w 37.5° , wygięcie w kierunku osi odciętych. Wartość n dla Hb żółwia wynosi 1.88 w temperaturze $20^\circ\text{--}24^\circ$, oraz 2.36 w 37.5° .

Jeżeli zmiany w charakterze przebiegu krzywej dysocjacji oksyhemoglobiny we krwi żółwia pod wpływem temperatury będziemy rozpatrywali pod kątem widzenia swoistości budowy chemicznej Hb u różnych gatunków zwierzęcych, to wydaje nam się, że nie mamy podstaw do przypisywania hemoglobinie żółwia jakichś odrębnych właściwości pod względem wiązania tlenu.

W dalszej charakterystyce krwi żółwia należy zaznaczyć, że pojemność tlenowa krwi pełnej, wyrażona w % obj. waha się dla różnych osobników w granicach od 7.66 vol % do 10.23 vol % w temperaturze $20^\circ\text{--}24^\circ$ i od 6.89 vol % do 10.91 vol % w 37.5° . U *Pseudemys concinna* pojemność tlenowa w temperaturze 25° wynosi 8.08 vol %. U człowieka waha się w granicach od 16.5 do 18.5 vol %.

Streszczenie wyników.

Wyzaczyliśmy dwie krzywe dysocjacji oksyhemoglobiny u żółwia w temperaturach pokojowej ($20^\circ\text{--}24^\circ$) oraz w 37.5° .

1°. Krzywa nasycenia Hb żółwia w temperaturze pokojowej posiada kształt zbliżony do krzywej hiperbolicznej, przyczem połowa hemoglobiny nasycy się tlenem już przy jego ciśnieniu częściowym = 22 mm Hg.

2°. Krzywa zaś, otrzymana w temperaturze 37.5°, posiada kształt litery S, a 50% nasycenia występuje pod ciśnieniem większym, wynoszącym 37 mm Hg.

3°. W porównaniu z krzywą dysocjacji oksyhemoglobiny ludzkiej krzywa u żółwia wykazuje następujące różnice: krew żółwia wiąże w tych samych warunkach znacznie mniej tlenu niż krew człowieka, poza to w temperaturze 37.5° w obrębie niskich ciśnień częściowych tlenu od 0 do 8 mm Hg wcale nie stwierdziliśmy wiązania tlenu przez krew żółwia.

4°. Stosując równane Hilla do naszych wyników stwierdziliśmy, że wartość K w temperaturze pokojowej waha się w granicach od 208×10^{-5} do 985×10^{-5} , w temperaturze 37.5° w granicach od 116×10^{-6} do 441×10^{-6} . Wartość n jest w danej temperaturze stała; w temperaturze pokojowej wynosi 1.88, w 37.5° — 2.36.

P i ś m i e n n i c t w o .

Barcroft J. a. King W. O. R. 1909. The effect of temperature on the dissociation curve of blood. Journ. of Physiol. 39 (374). — Białaszewicz K. 1933. Recherches sur les échanges gazeux chez l'homme pendant le travail. I. Méthode et technique expérimentale. Przegląd Fizjol. Ruchu. 4 (1). — Bock A. V., Field H. and Adair G. S. 1924 The oxygen and carbon dioxide dissociation curves of human blood. Journ. of biol. Chem. 59 (353). — Bohr Chr., Hasselbalch K. und Krogh A. 1904. Über den Einfluss der Kohlensäurespannung auf die Sauerstoffaufnahme im Blute. Zentrbl. f. Physiol. 17 (661). — Brown W. E. L. a. Hill A. V. 1923. The oxygen-dissociation curve of blood, and its thermodynamical basis. Proc. Roy. Soc. Ser. B. 94 (297). — Mc Carthy E. F. 1936. Oxygen dissociation curves and osmotic pressures of haemoglobins of different species. Journ. of Physiol. 86 (77). — Dill D. B., and Edwards H. F. 1931. Physicochemical properties of crocodil blood (*Crocodylus acutus* Cuvier). Journ. of biol. Chem. 90 (515). — Dill D. B., Edwards H. F. and Florkin M. 1932. Properties of the blood of the skate (*Raja oscillata*). Biol. Bull. 62 (23). — Dill D. B., Edwards H. F., Bock A. V. and Talbott J. H. 1935. Properties of reptilian blood. III. The chuckwalla (*Sauromalus obesus* Baird). Journ. of Cell. a. Comp. Physiol. 6 (37). — Dill D. B. and Edwards H. F. 1935. Properties of reptilian blood. IV. The alligator (*Alligator mississippiensis* Daudin). Journ. of Cell. a. Comp. Physiol. 6 (243). — Edwards H. F. and Dill D. B. 1935. Properties

of reptilian blood. II. The gilla monster (*Heloderma suspectum Cope*). Journ. of Cell. a. Comp. Physiol. 6 (21). — Henderson L. J. 1932. Blut. Seine Pathologie und Physiologie. — Hill A. V. 1910. The possible effects of the aggregation of the molecules of haemoglobin on its dissociation curves. Journ. of Physiol. 40 (IV). — Krogh A. and Leitch J. 1918—19. The respiratory function of the blood in fishes. Journ. of Physiol. 52 (288). — Macela J. and Seliškár A. 1925. The influence of temperature on the equilibrium between oxygen and haemoglobin of various form of life. Journ. of Physiol. 60 (428). — Southworth F. C. and Redfield A. C. 1926. The transport of gas by the blood of the turtle. Journ. of Gen. Physiol. 9 (387). — Wastl H. 1928. Beobachtungen über die Blutgase des Karpfenblutes. Bioch. Zeitschr. 197 (361). — Wastl H. und Leiner G. 1931. Beobachtungen über die Blutgase bei Vögeln. I. Mitteilung. Pflüger's Arch. 227 (367). — Wastl H. und Leiner G. 1931. Beobachtungen über die Blutgase bei Vögeln. II Mitteilung. Pflüger's Arch. 227 (421). — Wastl H. und Leiner G. 1931. Beobachtungen über die Blutgase bei Vögeln. III Mitteilung. Pflüger's Arch. 227 (460). — Wolvekamp H. P. und Lodewijks J. M. 1934. Über die Sauerstoffbindung durch Hämoglobin vom Frosch (*Rana esculenta* und *Rana temporaria*). Zeitschr. f. vergl. Physiol. 20 (382).

[Zakład Chemji Fizjologicznej U. S. B. w Wilnie].
Kierownik: Prof. Dr. Wł. M o z o ł o w s k i.

T. Baranowski.

Sacharozurja i sacharozemja.

Saccharosurie und Saccharosämie.

Manuskript nadestany w dniu 6.VI.1936 r.

Es wurde die endogene Rohrzuckerbildung im menschlichen Organismus festgestellt. In der Literatur liegt bisher nur ein einziger Fall von spontaner Saccharosurie vor (H ö s c h '34). Im beschriebenen Falle (die Kranke mit Pankreopathie) wurde die Saccharose aus dem Harn isoliert und seine Identität durch Nichtreduktion, Drehung, polarimetrisch verfolgte Inversion durch ein hochgereinigtes Ferment sichergestellt. Es wurde eine spezifische Methode für Mikrobestimmung der Saccharose im Blute ausgearbeitet und das Auftreten des Rohrzuckers im Blute mittels Invertase festgestellt. Es gab eine strenge Beziehung zwischen dem Auftreten der Saccharose im Blute und den Anfällen von Pankreolithiasis. In anfallsfreien Perioden wurde weder im Blute noch im Harn Saccharose gefunden; während den Anfällen dagegen fand man nüchtern im Blute die Werte bis 52 mg %. Die perorale Darreichung von Glukose und Fruktose in den Anfallsperioden führte zu einer Saccharosämie, in den Zwischenperioden war ohne Einfluss auf die Rohrzuckerbildung. Die stärkste Saccharosämie beobachtete man nach intravenöser Einführung von Glukose: der Saccharosegehalt des Blutes stieg vom 10 auf 60 mg %. Die Frage nach der Herkunft des Rohrzuckers im Organismus ist diskutiert worden.

Przegląd literatury i stan zagadnienia.

Spożyte węglowodany zostają w przewodzie pokarmowym rozłożone działaniem fermentów trawiennych na związki prostsze, które wchłaniają się do krwi przez ścianę jelita. Skrobja i glikogen pod wpływem amylazy przechodzą w maltozę, która skolei w obecności maltazy rozpada się na dwie cząsteczki glukozy. Cukier mlekowy podlega działaniu laktazy, rozszczepiającej go na glukozę i galaktozę, cukier trzcinowy, — czyli sacharoza zostaje zwinwertowana przez sacharazę na glukozę i fruktozę. Procesy te mają na celu przeprowadzenie wielocukrów w jednocukrowce, gdyż w normalnym przebiegu wchłaniania tylko takie mogą przejść do krwi.

Cukier trzcinowy w niezmienionej postaci nie może być użytkowany przez ustrój zwierzęcy, natomiast jako częsty składnik pożywienia jest źródłem powstawania jednocukrów w jelicie. W zwykłych warunkach cukier trzcinowy do krwi się nie dostaje. Mamy wprawdzie po spożyciu dużych ilości sacharozy ślady tego związku w moczu, jednak ta sacharozurja alimentarna jest bardzo nieznaczna i stoi pod względem ilości wydalonego cukru bardzo daleko w tyle poza cukromoczami, spowodowanymi nadmiernym spożyciem innych węglowodanów. Dotychczas nie znano faktów przemawiających za tem, że cukier trzcinowy gra jakąkolwiek rolę w cyklu przemian ustrojowych węglowodanów wyższych ssaków, przemian normalnych czy patologicznych. W literaturze znajdują się bardzo skąpe dane dotyczące zagadnienia sacharozurji. Brakuje zupełnie szczegółowszych badań w tych nielicznych przypadkach wydalania sacharozy w moczu, które opisano.

Stosunkowo najlepiej zbadano warunki, w jakich wydalą się cukier trzcinowy w moczu ludzi zdrowych. W o r m - M ü l l e r ('84) obserwował u dwóch zdrowych osobników, normalnie nie wydalających cukru w moczu, zjawianie się cukromoczu po spożyciu różnych węglowodanów. Cukier trzcinowy wydalal się jako taki w ilościach nieprzekraczających nigdy 1% podanej ilości (autor podawał od 50—250 g cukru trzcinowego). Ilościowe oznaczenia przedstawiały się następująco: po spożyciu 50 g w moczu znaleziono 0.1 g cukru trzcinowego, po 150 g — 0.85 g. Ch a r r i n i B r o c a r d ('02) podawali drogą doustną znaczne ilości cukru trzcinowego (250 g w dwóch porcjach w odstępie 15 minut), co wywoływało zjawienie się zarówno cukru trzcinowego, jak i jego części składowych w moczu. Autorowie tłumaczą to zjawisko tem, że wchłanianie cukru trzcinowego było szybsze, niż jego hydroliza. H. M u r s c h h a u s e r ('21) badał rodzaj cukrów występujących w moczu osesków, jeżeli podawało się w pożywieniu cukier trzcinowy w ilościach przekraczających granicę przyswajania. Stwierdził, że po spożyciu dużych ilości cukru trzcinowego, dochodzących do 20 g na 1 kg wagi dziecka, w moczu znajdowała się mieszanina cukrów: trzcinowego, owocowego i gronowego. Stosunek glukozy do lewulozy był inny, niżby wypadało z rozpadu sacharozy; lewuloza przeważała. Jako granicę przyswajalności cukru trzcinowego dla oseska autor określił ilość 8—10 g. F. V o i t ('97) badał zachowanie się różnych cukrów w orga-

nizmie człowieka po wstrzyknięciu ich podskórnem. Znalazł on, że zarówno cukier trzcinowy jak i mlekowy podany podskórnem wydalają się w moczu prawie ilościowo. W. O p p e l ('28) zajmował się oznaczaniem cukru trzcinowego we krwi w celu obserwowania przebiegu sacharozemji doświadczalnej. Metodyka była następująca: przesącz odbiałczony krwi, otrzymany według H a g e d o r n a i J e n s e n a, hydrolizowano z kwasem siarkowym. Następnie zobojętniano i dalej oznaczano tak, jak w metodzie H a g e d o r n a i J e n s e n a. Doświadczenia wykonane na króliku dały następujące wyniki: naczeczko we krwi hydroliza kwaśna powodowała tylko niewielki przyrost redukcji (nie większy od 10 mg glukozy na 100 cm³ krwi); przebieg krzywej cukru trzcinowego krwi u królika po wstrzyknięciu dożylnem tego cukru (od 0.15—0.4) był tego rodzaju, że jeżeli najwyższy poziom tego cukru osiągał 100 mg na 100 cm³ krwi, to znikał on z krwi zupełnie po 90 minutach. Jeżeli zaś najwyższy poziom był 60—70 mg % to cukier znikał z krwi po 60 minutach. Zawartość glukozy we krwi nie ulegała zmianie. Wlanie sondą do żołądka roztworu 2—4 g cukru trzcinowego na kg wagi zwierzęcia wywołuje glikemję oraz nieznaczną fruktozemję; nie daje sacharozemji. Przyczyną nieobecności sacharozy we krwi może być według autora: 1) działanie inwertazy w przewodzie pokarmowym, albo 2) nieprzepuszczalność ściany przewodu pokarmowego dla sacharozy. Tę drugą możliwość autor wyłącza na podstawie następującego doświadczenia: cukier trzcinowy wprowadził operacyjnie wprost do jelita czczego; w krwi wtedy znajdował ten cukier. Fakt zjawiania się cukru trzcinowego w moczu po obfitem żywieniu nim, obserwowany przez wielu autorów, również przemawia przeciw nieprzepuszczalności ściany przewodu pokarmowego.

Z przypadków patologicznej sacharozurji zanotować należy obserwację J o l l e s a ('13): dziecko z silnym katarem żołądka po spożyciu mocno osłodzonej herbaty wydalało w moczu cukier trzcinowy, który oznaczano polarymetrycznie. Pierwsze ściślejsze dane o patologicznej sacharozurji pochodzą od K. S m o l e ń s k i e g o ('09). Badania dotyczyły moczu z wyraźnym odczynem C a m m i d g e ' a, zebranego od starca z rakiem żołądka (rozpoznanie potwierdzone sekcją). Trzustka była zupełnie normalna. Mocz redukował wyraźnie dopiero po ogrzaniu z kwasem solnym. Podczas ogrzewania z HCl stęż. mocz barwił się na wiśniowo i uchodziły pary o wstrętnej woni. Z moczu, poddanego hydrolizie z kwasem, autor otrzymał osazon o punkcie topliwości 193⁰—194⁰. S m o l e ń s k i był pierwszym, który izolował z moczu sacharozę w czystym stanie, strącając ją jako sól strontową (według metody E. S c h u l t z e ' g o). Przypadek opisany przez S m o l e ń s k i e g o zalicza się do sacharozurji alimentarnej; cukier trzcinowy wydalają się w moczu po spożyciu tego cukru przez chorego, ustrój nie miał zdolności rozkładania cukru trzcinowego.

Nie było dotąd żadnych danych, odnoszących się do istnienia sacharozurji samoistnej. Samorzutne wydalanie cukru trzcinowego spowodowane endogenicznem jego powstawaniem, a więc sacharozurja samoistna przedstawiałaby fakt bez porównania więcej interesujący, niż sacharozurja alimentarna. N e u b e r g w swoim dziele p. t. „Der Harn” zaznacza: „od-

powiednio do wysokości granicy przyswajania dla cukru trzcinowego wyjątkowo tylko przychodzi do sacharozurji alimentarnej. Nigdy nie stwierdzono napewno samoistnego wydalania cukru trzcinowego („Eine spontane Rohrzuckerausscheidung ist nie mit Sicherheit festgestellt”). Dopiero w r. 1934 w sprawozdaniu z posiedzenia Towarzystwa Lekarskiego w Düsseldorfie ('34) znajdujemy opis przypadku sacharozurji samoistnej podany przez H ö s c h a. Jest to jedyny, znany dotąd przypadek samoistnego wydalania cukru trzcinowego w moczu. Ze względu na związek z przypadkiem ogłoszonym w powyższej pracy cytuję go w całości:

„U 22-letniej chorej stwierdzono w kilka miesięcy po ostrem zapaleniu trzustki umiarkowaną glikozurję przy normalnym cukrze we krwi. Po zmniejszeniu węglowodanów glikozurja zmniejsza się. Ciężar właściwy moczu nie daje się zmierzyć zwykle używanymi areometrami. Piknometrem i mikro wagą znaleziono wartości od 1100—1145 (Δ do -4.5^0). Z powodu podejrzenia w kierunku wydalania dużej ilości kwasu glukuronowego mocz polarymetrowano; znaleziono silną prawoskrętność aż do 40%, po hydrolizie i redukcji¹⁾ występuje lewoskrętność.

Na podstawie badania metodą J o l l e s a oraz działania sacharazy na mocz przypuszczano wydalanie cukru trzcinowego w moczu, co potwierdzono strąceniem cukru trzcinowego metodą strontową.

Przeciwno alimentarnej sacharozurji przemawiają duże ilości wydalanego cukru trzcinowego (do 130 g w ciągu 2 dni), perjodyczne wydalanie mimo jednakowej diety (przez przeciąg około 2—3 dni), oraz zredukowane do minimum spożywanie cukru trzcinowego w pożywieniu. Dla wyjaśnienia przyjęto syntezę cukru trzcinowego w ustroju. Zawartość cukru trzcinowego we krwi była nieznaczna (do 35 mg % redukującego cukru po hydrolizie). Objąsniano sprawę sacharozurji czasowym brakiem sacharazy w jelicie albo czasowo wzmogoną przepuszczalnością ściany jelita dla cukru trzcinowego. Po podaniu lewulozy chora wykazała równocześnie sacharozurję i lewulozurję. W końcu prelegent zwraca uwagę na olbrzymią pracę koncentracyjną nerki w obserwowanym przypadku. Zademonstrowano na tablicach występujący podczas silnego wydalania cukru trzcinowego: brak barwników (niezatrzymywanie barwników, w moczu dają się wykazać chromogeny), prawie że brak amonjaku i przesunięcia Cl, mocznika oraz fosforanów w moczu”.

Uwzględniwszy wreszcie należy prace R. L e p i n e ' a i B o u l u d ' a ('01, '02) oraz C a m m i d g e ' a ('27). Autorowie ci zajmowali się oznaczeniem cukrów w moczu i krwi zwierząt w związku z sprawami zapaleniami trzustki. Szczegółowe zestawienie badań w tej dziedzinie znajdujemy w obszernej pracy C a m m i d g e ' a o dekstrynurji. Następujące dane, cytowane według powyższej pracy, zasługują na uwagę: P e k e l h a r i n g i v a n H o o g e n h u y s e wykazali, że gdy spożywano dziennie 175 g cukru trzcinowego przez 4 dni, to ilość dekstryn moczowych wzrastała od

1) Prawdopodobnie powinno być zamiast redukcji — inwersji.

5.4 g w pierwszym dniu do 14.6 g w czwartym dniu. Cammidge podawał glukozę w dwóch porcjach, przyczem drugą w momencie najwyższego przecukrzenia krwi po pierwszej. Wystąpił wtedy wzrost w ilości węglowodanów krwi ulegających hydrolizie, co autor tłumaczy występowaniem związków leżących między glukozą a glikogenem. Franke i Wegner wstrzykiwali śródżylnie i śródotrzewnowo roztwór glukozy z ominięciem wątroby, co ich zdaniem wywołuje wzrost węglowodanów krwi, dających się zhydrolizować. Cammidge rozważa obszernie występowanie w moczu i krwi cukrów redukujących dopiero po hydrolizie kwaśnej w związku z uszkodzeniem wątroby i trzustki. W moczu znajduje się w takich przypadkach dekstryny, które — jak można wykazać — są pochodzenia endogenicznego. Autor stwierdził, że jeżeli głodzonego królika zatruje się fosforanem hydrazyny, to ilość cukru redukującego we krwi opada, a wzrastają węglowodany dające się zhydrolizować, które przechodzą do moczu; przed śmiercią zwierzęcia $\frac{2}{3}$ całości węglowodanów były w postaci związków nieredukujących, a tylko $\frac{1}{3}$ w postaci cukru redukującego. Ten nieredukujący cukier może być tylko pochodzenia endogenicznego i powstaje, zdaniem autora, z glikogenu wątroby, która — będąc zatruta — nie jest w stanie rozkładać go aż do cukru gronowego. Zaburzenie czynności trzustki autor uważa za częstsze przyczyny dekstrynurji, niż zaburzenia w pracy wątroby. Cammidge i Senon wykazali, że podostre zapalenie trzustki, wywołane u psa wstrzyknięciem nieznacznej ilości terpentyny do przewodu trzustkowego, wywołuje w przeciągu 24 godzin zjawianie się we krwi i w moczu znacznych ilości węglowodanów nieredukujących, dających się jednak zhydrolizować na cukry redukujące. Również zwiększyła się dekstrynurja, gdy wywołano chroniczne zapalenie trzustki przez przewleczenie nitki jedwabnej od dwunastnicy do *ductus Virsungianus*. Gdy później trzustkę wycięto, znikły „dekstryny”, a zjawił się w moczu cukier redukujący. Zjawiska opisane mają swój odpowiednik w patologji ludzkiej. Znana jest t. zw. reakcja Cammidge'a w moczu w przypadkach przewlekłych spraw zapalnych trzustki i kamieniach trzustkowych. Pierwotnie podana metoda polegała na wykazaniu osazonu w moczu nieredukującym, po zhydrolizowaniu go z kwasem. Próba ta nie dawała jednoznacznych wyników i autor zaproponował później oznaczanie redukcji przed i po hydrolizie. Cukier trzcinowy daje oczywiście dodatnią reakcję Cammidge'a, co miało miejsce w przypadku sacharozurji, opisanym przez Smoleńskiego. W przypadku Höscha sacharozurja wystąpiła w związku ze sprawą zapalną trzustki, dlatego zawsze można myśleć o możliwości związku przyczynowego sacharozurji z dekstrynurją.

Jak widać z zestawienia literatury, nasze dotychczasowe wiadomości o sacharozurji są bardzo skąpe. Niniejsza praca ma za zadanie uzupełnić te braki; szczęśliwym zbiegiem okoliczności można było przeprowadzić badania chemiczne nad dwoma przypadkami, z których jeden wykazywał cechy sacharozurji

alimentarnej, drugi — samoistnej. Badania dotyczą wyłącznie strony chemicznej zagadnienia; obserwacje kliniczne były prowadzone przez ordynatorów obu przypadków i dane kliniczne, które dla jasności i całości obrazu schorzenia przemiany materji podaje, są cytowane z materiału przez nich ogłoszonego.

Metodyka.

Celem oznaczania sacharozy we krwi zastosowano dwie metody: hydrolizy z HCl i enzymatyczną. Początkowo posługiwano się metodą, opierającą się na oznaczeniu redukcji odbiaćzonego przesączu krwi metodą Hagedorna i Jensena ('23) przed i po hydrolizie z kwasem solnym. Do każdego oznaczenia pobierano $2 \times 0.1 \text{ cm}^3$ krwi. W jednej porcji oznaczano redukcję wprost metodą Hagedorna i Jensena, drugą, po odbiaćczeniu wodorotlenkiem cynku zadawano kwasem solnym, aż do stężenia 0.025 m. Następnie probówkę z płynem wstawiono do wrzącej łaźni na 15 minut. Po ochłodzeniu zobojętniano zapomocą tej ilości NaOH, która odpowiadała dodanemu kwasowi solnemu i oznaczano redukcję płynu tak, jak w metodzie oryginalnej Hagedorna i Jensena. Jeżeli we krwi znajduje się z oligosacharydów tylko cukier trzcinowy, metoda daje dobre wyniki. Z drobiny cukru trzcinowego powstaje 1 drobina glukozy i 1 fruktozy. Fruktoza ma dla tej metody redukcję, odpowiadającą 98% redukcji glukozy. Ponieważ jednak cukier trzcinowy składa się z glukozy i fruktozy mniej cząsteczka wody, możemy z nieznacznym błędem uważać przyrost redukcji po hydrolizie za odpowiadający zawartości cukru trzcinowego.

W ciągu dalszych badań okazała się konieczność zastosowania metody, którą możnaby oznaczyć wyłącznie cukier trzcinowy we krwi, a więc metody ściśle swoistej. Dla tego celu nadaje się metoda enzymatyczna, według której rozkład cukru trzcinowego uskutecznia się fermentem inwertazą czyli sacharazą. Metodę tę opracowano dla oznaczania cukru trzcinowego w małych ilościach krwi (0.1 cm^3). Nadaje się ona również do oznaczenia sacharozy obok glukozy w moczu po odpowiedniem rozcieńczeniu go. Sposób wykonania oznaczenia jest następujący: Pobiera się dwukrotnie po 0.1 cm^3 krwi. W jednej próbie (I) oznacza się cukier metodą Hagedorna i Jensena. Drugą (II) wdmuchuje się do probówki z 2.0 cm^3 wody destylowanej, przemywając pipetkę przez dwukrotne wciągnięcie i wypuszczenie płynu. Kontrolna probówka zawiera tylko 2.0 cm^3 wody. Hemoliza hamuje glikolizę krwi, praktycznie biorąc, zupełnie. Zahamowanie to jest jeszcze wzmożone przez dodawanie fosforanu pierwszorzędowego, który przesuwą pH roztworu na 4.8. Do obu probówek dodaje się po 0.5 cm^3 1% KH_2PO_4 i po 0.5 cm^3 roztworu sacharazy (inwertazy) specjalnie sporządzonej. Miesza się starannie zawartość probówek i umieszcza się je w łaźni wodnej o temp. 38° — 40° na przeciąg 30 minut. Następnie dodaje się do obu po 1.0 cm^3 n/10 NaOH i po 2.0 cm^3 1.1% ZnSO_4 (świeżo sporządzonego z 45% roztworu przez rozcieńczenie w stosunku 1:40) i wsta-

wia się je do wrzącej łązni wodnej na 3 minuty. Sączy się przez możliwie mały sącdek i wymywa dwukrotnie małą ilością wody. W przesączu oznacza się redukcję ściśle według Hagedorna i Jensena. Od otrzymanej wartości odciąga się wartość kontroli; w ten sposób oznaczamy zawartość cukru we krwi po zinvertowaniu. Z różnicy między zawartością cukru przed i po inwersji (II—I) otrzymujemy ilość cukru trzcinowego, znajdującego się w 0.1 cm³ krwi.

Zanim przystąpiono do badań we krwi, wykonano szereg oznaczeń na znanych roztworach cukru gronowego, trzcinowego i mieszaninach obu tych cukrów; dalej na roztworze maltozy i mieszaninach: maltozy, glukozy i sacharozy. Jak to widać z zebranych w tabeli I wyników w warunkach oznaczania maltoza zupełnie nie jest rozkładana przez inwertazę. W inwertazie drożdżowej znajdują się dwa fermenty rozkładające cukier trzcinowy: α — glukozydaza i β — h-fruktozydaza. Pierwsza z nich działa zarówno na sacharozę, jak i maltozę, jednak ma dość ostre optimum działania koło pH = 6.5, nie działa zaś zupełnie w pH = 5. Rozkładanie więc maltozy w warunkach oznaczania nie wchodzi zupełnie w grę.

Tabela I.

Kontrola metody. — Kontrolle der Methode.

Czas inkubacji: 30 min. w 38°—40°, 0.5 cm³ inwertazy, pH = 4.8.
Inkubationsdauer: 30 Min. in 38°—40°, 0.5 cm³ Invertaselösung, pH = 4.8.

2 cm ³ wody zawierają: 2 cm ³ Wasser enthalten:				Redukcja w mg glukozy Reduktion in mg Glukose	
Krew w cm ³ Blut in cm ³	Glukozę w mg Glukose in mg	Sacharozę w mg Saccharose in mg	Maltozę w mg Maltose in mg	Wprost Direkt	Po inwersji z sacharazą Nach Inversion mit Saccharase
—	0.103	—	—	0.102	0.102
—	—	0.100	—	0	0.100
—	—	0.200	—	0	0.202
—	—	—	0.100	0.076	0.072
0.1	—	—	—	0.093	0.093
—	0.103	0.100	—	0.102	0.202
—	—	0.096	0.100	—	0.168
0.1	—	0.096	—	0.093	0.191
0.1	—	—	0.100	0.163	0.160
0.1	—	0.096	0.100	0.159	0.258

Użyta maltoza wykazywała redukcję równą 76% glukozy.

Die Reduktion des Maltoselösung entspricht 76% der Glukose.

Wszystkie znalezione wartości są zgodne z obliczonymi dla roztworów, sporządzonych przez rozpuszczenie czystych cukrów. Również i w obecności krwi zgodność ta utrzymuje się. Dodana do krwi sacharaza, maltoza i mieszanina obu tych cukrów została odnaleziona z wahaniami, leżącymi w granicach błędu dla metody Hagedorna i Jensena.

Sporządzenie roztworu sacharazy, nadającej się do oznaczania tak małych ilości cukru trzcinowego, jakich można spodziewać się we krwi, wy-

magają specjalnego oczyszczenia jej od związków redukujących. Posługiwano się przepisem Svanberga.

Sporządzenie sacharazy. Drożdże piwne (fermentacji dolnej) autolizowano z dodatkiem toluenu przez 14 dni w temp. pokojowej. Przesączono następnie przez sączek fałdowany i przesącz zadano równą objętością alkoholu. Osad odwirowano, zawieszono w wodzie i znowu odsączono. Przesącz w ilości 1 l wiano do 10 l wody destylowanej, dodano mieszając 300 cm³ świeżo sporządzonego 3% wodorotlenku glinu i pozostawiono przez noc. Na drugi dzień zdekantowano płyn z nad osadu, pozostałość przesączono. Osad kłócono z 200 cm³ 1% roztworu arsenianu potasowego, zawierającego 0.1% amonjaku. Przesącz dializowano w woreczku kolodjonowym przez 24 godziny w wodzie bieżącej, poczem wiano go do 10 l 0.04% kwasu octowego. Do rozcieńczonego roztworu dodano 100 cm³ 33% zawiesiny kaolinu, wymieszano starannie i odwirowano. Zadsorbowany na kaolinie ferment wymyto zapomocą 120 cm³ rozcieńczonej sody (pH=9) roztwór zobojętniono kwasem octowym i dializowano w bieżącej wodzie przez 8 dni.

Otrzymany w ten sposób roztwór sacharazy był dostatecznie aktywny; 0.5 cm³ fermentu rozkładało całkowicie 0.15 mg cukru trzcinowego w 2 cm² wody w ciągu 5 minut (w temp. 38^o—40^o). Pozatem okazał się, praktycznie biorąc, wolnym od związków redukujących; redukcja własna 1.0 cm³ roztworu sacharazy odpowiadała 0.003 — 0.007 mg glukozy. Ta niewielka wartość była eliminowana przy każdym oznaczaniu przez próbę kontrolną.

Wyniki badań.

Oznaczenia cukru trzcinowego w moczu i krwi przeprowadzono najpierw w przypadku sacharozurji alimentarnej, opisanym przez Krasowską i Ptaszka ('35).

Badania dotyczyły kobiety wagi około 50 kg, wieku około 21 lat, u której ze względu na uciążliwość oznaczeń wykonano tylko dwie próby obciążenia cukrem trzcinowym. Przypadek ten przedstawiał na podstawie dłuższej obserwacji cechy sacharozurji alimentarnej. Badana była od 12 godzin naczeco. Po opróżnieniu pęcherza spożyła 100 g sacharozy w 500 cm³ herbaty. Zawartość cukru we krwi oznaczano co 30 minut, sacharozę metodą inwersji zapomocą sacharazy, glukozę metodą H a g e d o r n a i J e n s e n a. Wyniki są zebrane w tabeli II.

Zawartość glukozy krwi nie odbiega od normalnego przebiegu. Cukier trzcinowy zjawia się we krwi po 60 minutach, osiąga najwyższy poziom wynoszący 35 mg na 100 cm³ krwi po 90 minutach, poczem powoli opada. W moczu zebrany po upływie 2 godzin w ilości 565 cm³ o c. wł. 1.025 znaleziono 0.36%

Tabela II.

Sacharozurja alimentarna — *Alimentäre Saccharosurie.*
Zawartość cukru trzcinowego we krwi po podaniu 100 g sacharozy.
Rohrzuckergehalt des Blutes nach der Belastung mit 100 g Saccharose.

Czas w min.	Zawartość cukru w mg na 100 cm ³ krwi <i>Zuckergehalt des Blutes in mg pro 100 cm³</i>		
	oznaczona wprost <i>direkt</i>	oznaczona po inwersji <i>nach Inversion</i>	przypada na cu- kier trzcinowy <i>entspricht Saccharose</i>
0	110	107	0
30	155	155	0
60	98	112	14
90	117	152	35
120	122	139	17

glukozy (redukcja wprost) oraz 3.92% sacharozy (oznaczono polarymetrycznie oraz na podstawie redukcji po inwersji sacharazą). W sumie badana wydalila w ciągu 2 godzin 25.6 g cukru trzcinowego. W dalszych porcjach moczu cukru nie znaleziono. Drugie doświadczenie wykonano w sposób analogiczny do pierwszego. Wyniki podaje tabela III.

Tabela III.

Sacharozurja alimentarna — *Alimentäre Saccharosurie.*
Zawartość cukru trzcinowego we krwi po podaniu 100 g sacharozy.
Rohrzuckergehalt des Blutes nach der Belastung mit 100 g Saccharose.

Czas w min. <i>Zeit in Min.</i>	Zawartość cukru w mg na 100 cm ³ krwi <i>Zuckergehalt des Blutes in mg pro 100 cm³</i>		
	oznaczona wprost <i>direkt</i>	oznaczona po inwersji <i>nach Inversion</i>	przypada na cu- kier trzcinowy <i>entspricht Saccharose</i>
0	114	112	0
30	151	162	11
60	129	153	24
90	115	160	45
120	120	130	10

Wyniki są podobne do wyników z poprzedniego obciążenia. Najwyższy poziom cukru trzcinowego we krwi wynosi 45 mg na 100 cm³ krwi. Przed rozpoczęciem doświadczenia badana (będąca naczczo od 12 godzin) oddała 28 cm³ moczu o c. wł. 1.028, nie zawierającego ani cukru gronowego, ani trzcinowego. Po dwóch godzinach zebrano 120 cm³ moczu o c. wł. 1.032, nieredu-

kującego wprost, w którym znaleziono 4.3% sacharozy. Diureza była skąpa, zwracało natomiast uwagę silne pocenie się chorej z powodu upalnego dnia. Wydaliło się w sumie 5.16 g cukru trzcinowego. Jak widać z powyższych badań, chora, niewydalająca naczczo cukru w moczu, po obciążeniu 100 g sacharozy wydała go w ilościach od 5 do 25% spożytej ilości. Poziom sacharozy we krwi jest stosunkowo niewielki, co tłumaczyć można szybkim wydalaniem przez nerki. Zdolność rozkładania cukru trzcinowego w jelicie jest utrzymana, co wynika z podnoszenia się zawartości glukozy we krwi po spożyciu cukru trzcinowego, jednak albo jest ona bardzo słaba, albo mamy do czynienia ze wzmożoną przepuszczalnością jelita cienkiego dla tego cukru. Jest to więc niewątpliwie alimentarna forma sacharozurji w czystej postaci.

Dziwnym zbiegiem okoliczności w tym samym czasie otrzymano do zbadania mocz chorej, u której podejrzewano sacharozurję. Ponieważ już pierwsze obserwacje wskazywały na to, że jest to sacharozurja samoistna, należało przypadek ten opracować w miarę możliwości wszechstronnie i z zachowaniem ostrożności. Zadaniem pracy było stwierdzenie istnienia sacharozurji samoistnej, a więc endogenicznego powstawania cukru trzcinowego, oraz zbadania warunków, w jakich cukier trzcinowy pojawia się we krwi i w moczu chorej.

Badania dotyczyły kobiety w wieku 34 lat. Dane kliniczne¹⁾ są następujące:

„22.III.1933 r. Wywiady rodzinne bez znaczenia; poza grypą w 18-m roku życia zawsze była zdrowa. Obecna choroba zaczęła się powolnie od 3-ch miesięcy; początkowo chora miała perjodyczne silne pragnienie, przetem częste parcie na mocz, który oddawała w większej ilości niż poprzednio, potem wystąpiło zwiększające się wychudzenie i ogólne osłabienie; od 2 miesięcy co drugi — czwarty dzień gwałtowne, samorzutnie lub po ruchu występujące napady bólów w górnej części brzucha z promieniowaniem do obu łuków żebrowych i ku tyłowi pod lewą łopatką z dreszczami, gorączką, nudnościami i często wymiotami, niekiedy z lekkim parciem na mocz, bez promieniowania bólów w dolną okolicę brzucha. Po napadach, które trwały od 1—5 godzin, chora miała silne pragnienie, trwające 1—3 dni. W ostatnich dniach wymioty prawie po każdym jedzeniu. Lekarz domowy stwierdził po jednym z napadów subikteryczne zabarwienie biał-

1) Według Renckiego i Falkiewicza ('34).

kówek (wieczorem!). *Status praesens*: dobra budowa ciała, średni stan odżywienia, głowa i szyja bez zmian, płuca bez zmian, granice serca normalne, przysłuchem nad wszystkimi ujściami 2 tony, przy pierwszym na końcu lekki systoliczny szmer; tętno 64 na minutę, miarowe. Ciśnienie krwi 115/70 Hg RR. Brzuch: powłoki miękkie, lekkie wzdęcie. Górne nadbrzusze bardzo wrażliwe na ucisk, przytem chora skarży się na ból w okolicy lędźwiowej lewej i pod lewą łopatką, które są silnie bolesne na ucisk; wątroba pod łukiem łatwo macalna. Wrażliwość na dotyk w hypochondrium z obu stron, szczególnie w prawem w okolicy pęcherzyka żółciowego, który jest niemacalny; brak oporu. Śledziona normalna. Kończyny bez zmian. Reakcja Wassermana i S-G w surowicy ujemna. Zdjęcie rentgenologiczne pęcherzyka żółciowego ujemne, po podaniu doustnem jodtetragnostu niewidoczny. Badanie krwi: cytologicznie normalne ilości czerwonych i białych ciałek krwi, zawartość hemoglobiny normalna, limfocytoza 42—49%. Glukoza we krwi naczno 100—114 mg % (według Folina-Wu). Mocz: pierwszego dnia po przyjęciu bez składników patologicznych: klarowny, kwaśny, o barwie słomkowo-żółtej, normalnym ciężarze właściwym, brak cukru (próba Heyne'a). Badanie treści żołądkowej wykazało normalną kwasowość i czas opróżnienia; treść dwunastnicza i żółć normalna, trypsyna i lipaza normalna, diastaza w moczu normalna (Wohlgemuth). Badanie kału: bez zmian. Temperatura wieczorem 37.20, pozatem normalna. Chora odczuwała w pierwszych dniach stały, tępy ból promieniujący ku tyłowi i stronie lewej, oraz nudności i wymioty, występujące prawie po każdym posiłku. Ponieważ środki przeciwko wymiotom (adrenalina, kokaina i t. d.), pozostały bez skutku, po tygodniu podjęto odżywianie sondą jelitową (skład jak przy *ulcus ventriculi*: 1200 g mleka, 4 jaja, 100 g masła, 50 g cukru, sól kuchenna, 1 cytryna). Wymioty ustąpiły, pozostał jednak ból w nadbrzuszu i nudności przy wprowadzaniu pożywienia. 9.IV.1933 napad bólów, promieniujących z górnego nadbrzusza do obu łuków żeberowych i ku tyłowi — tak jak podano w wywiadach. Badanie podczas napadu trwającego 2 godziny, który ustąpił dopiero po podaniu 0.02 pantoponu podskórnie, wykazało lekkie wzdęcie, brak szczególnego napięcia powłok brzusznych, silną bolesność epigastrium, oraz lewej okolicy podłopatkowej przy obmacywaniu. Wątroba jak poprzednio. Język suchy, nieobłożony. Atak rozpoczął się dreszczami, potem gorączką do 38.80. Podczas napadu liczba leukocytów 10,900, limfocytoza 40.9%. W ciągu najbliższych dni stały ucisk w nadbrzuszu, wieczorem temperatura 37.3. Odżywianie sondą jelitową wstrzymano.

13.IV, a więc w 4 dni po pierwszym napadzie, po którym chora miała silne pragnienie, badanie moczu wykazało ilość dobową 1300 cm³, ujemną próbę na cukier odczynnikami Heyne'a i Nylandera, barwę normalną, reakcję kwaśną, c. wł. 1.035. Polarymetrycznie prawoskrętność 70 (w rurze 200 mm).

17.IV mocz po gwałtownym napadzie bólów miał c. wł. 1.056, przy normalnem pozatem zachowaniu. Próby na cukier wypadły znowu ujemnie, badanie polarymetryczne wykazało 150 na prawo. Po hydrolizie z kwasem

dotatnia próba na glukozę. Badania przeprowadzone na tym moczu przez Baranowskiego i Mozółowskiego wykazały obecność cukru trzcinowego. Oznaczenie diastazy w moczu oraz trypsyny i lipazy w treści dwunastnicy (metoda Carnot'a i Carnot-Maouban'a) wykazało w najbliższych dniach, w których nie było sacharozy w moczu, normalne wartości.

2.V. równocześnie z ponownym wystąpieniem napadów bólów, zjawił się znowu cukier trzcinowy w moczu. Wydalanie go trwało teraz — z krótkimi 2—4 dniowymi przerwami — prawie 5 tygodni. Przy diurezie dziennej 500—1400 cm³ polarymetrycznie znajdowano prawoskrętność do 8.8°; wydalana ilość cukru trzcinowego osiągała do 60 g dziennie”.

Dalsza obserwacja wykazywała już tylko powtarzanie się opisanych zjawisk w różnym nasileniu. Rozpoznanie kliczne brzmiało: *pankreatia*, wykazująca cechy *pankreatolithiasis*.

Zaobserwowane własności moczu chorej a mianowicie: prawoskrętność, redukowanie płynu Fehlinga dopiero po zagotowaniu z kwasem oraz dodatni odczyn Seliwana wskazywały na obecność cukru trzcinowego. Aby można było stanowczo twierdzić, że jest to cukier trzcinowy, należało izolować go w czystym stanie z moczu i zidentyfikować na podstawie własności fizycznych i chemicznych. Pierwszą więc czynnością była próba izolowania cukru z moczu (Baranowski i Mozółowski '34). Przy pobieraniu moczu zastosowano specjalne środki ostrożności, aby wyłączyć możliwość jakiegokolwiek symulacji. Mocz pobierano dwukrotnie do próby izolowania cukru, raz kateterem, drugi raz pod ścisłą obserwacją lekarską. Cukier trzcinowy izolowano według przepisu podanego przez Smoleńskiego.

Mocz zebrany dn. 20.X.1933 r. w ilości 1500 cm³ skręcał w polarymetrze + 10.0° (rura 200 mm), nie redukował płynu Fehlinga wprost, dopiero po hydrolizie z kwasem. 500 cm³ moczu zadano sproszkowanym octanem ołowiowym, przesączono i uwolniono od ołowiu siarkowodorem. Po odsączeniu od PbS roztwór zubożono dokładnie sodą żrącą na błękit bromotymolowy, zagęszczono do 100 cm³ i dodano 500 cm³ alkoholu etylowego. Odsączono od osadu, przesącz podgrzano do wrzenia, zadano gorącym roztworem wodorotlenku strontu (10 g) i gotowano przez 15 minut. Po ostudzeniu osad odsączono na nuczcy, wymyło alkoholem etylowym, zawieszono w wodzie i rozłożono

go zapomocą CO_2 . Odsączono od węglanu baru, przesącz zagęszczono do objętości 25 cm^3 , zadano alkoholem aż do wystąpienia słabego, nieprzemijającego zmętnienia i pozostawiono nad wapnem sodowanym do krystalizacji. Po 2 tygodniach kryształy odsączono na małej nuczy i wymyto alkoholem. Otrzymano 4.5 g zupełnie białych kryształków o słodkim smaku. Dawały one reakcję Molischa i Seliwanowa, nie redukowały płynu Fehlinga, lecz dawały silną redukcję po zagotowaniu z kwasem solnym. 1.6 g tych kryształków rozpuszczono w 25.0 cm^3 wody; w polarymetrze odczytano, w rurze 200 mm długiej, w temperaturze pokojowej i świetle lampy sodowej skręcenie $+8.50^\circ$, co odpowiada skręcalności dla sacharozy ($[\alpha_D] = +66.50$). Następnie zbadano przebieg inwersji izolowanego cukru trzcinowego zapomocą wysoko oczyszczonej sacharazy drożdżowej (przepis podano powyżej), wolnej zupełnie od związków redukujących. Porównano przebieg inwersji cukru trzcinowego kupnego (odznaczającego się dużą czystością) i izolowanego z moczu. Odważono po 1.50 g każdego z nich, rozpuszczono w 25.0 cm^3 wody, dodano po 10 cm^3 4% KH_2PO_4 i 5 cm^3 roztworu sacharozy (inwertazy) drożdżowej. Oba roztwory umieszczono w łaźni wodnej o temp. 35° . Próbkę pobierane dla oznaczenia skręcalności początkowej, po $30, 60$ i 360 minutach wlewano do równej objętości 5% Na_2CO_3 i polarymetrowano w rurze długości 100 mm w temp. 18° , używając światła sodowego. Wyniki zestawiono w tabeli IV.

Tabela IV.

Przebieg inwersji związku izolowanego i kupnego c. trzein.
Verlauf der Inversion der isolierten Verbindung und des käuflichen Rohrzuckers.

Czas w min. <i>Zeit in Min.</i>	S t o p n i G r a d	
	izolowany związek <i>isolierte Verbindung</i>	kupny cukier trzein. <i>käuflicher Rohrzucker</i>
0	+ 1.17	+ 1.18
30	+ 0.22	+ 0.23
90	- 0.38	- 0.37
360	- 0.39	- 0.39

Jak widać, przebieg inwersji w roztworze cukru trzcinowego kupnego i izolowanego z moczu jest identyczny. Roztwory po inwersji miały także jednakową redukcję; 1 cm^3 dopełniono

wodą w kolbce do 200 cm³ i w 1 cm³ tak rozcieńczonego roztworu oznaczano redukcję metodą Hagedorna i Jensena. Jako średnie wartości z kilku równoległych oznaczeń znaleziono: dla cukru izolowanego wartość, odpowiadającą redukcji 0.194 mg glukozy, dla cukru kupnego 0.190 mg.

Opisane badania wykazały jednoznacznie, że związek izolowany z badanego moczu jest czystym cukrem trzcinowym. Nasuwało się teraz pytanie: czy można wykryć cukier trzcinowy także i we krwi i do jakich wartości tam dochodzi. Dalszym pytaniem było: jakie czynniki wpływają na zjawianie się cukru trzcinowego we krwi, w szczególności — jak działa podawanie różnych cukrów¹⁾.

W tabeli V zestawiono wszystkie wyniki oznaczeń cukru trzcinowego we krwi, otrzymane zapomocą metody hydrolizy kwaśnej.

W rubryce „obciążenie” zaznaczono rodzaj i ilość podanego cukru, w „uwagach” — dane, dotyczące występowania cukru trzcinowego w moczu. Doświadczenia są przedstawione chronologicznie, dla uwydatnienia związku między napadem bólów a wydalaniem cukru trzcinowego. Na drugi dzień po silnym napadzie bólów²⁾ i wydalaniu w moczu 150 g cukru trzcinowego (polarymetryczne oznaczenie) podano chorej naczeczko 100 g glukozy doustnie, w 2 szklankach lekkiej herbaty z połówką cytryny (Doświadczenie 1). Glukoza we krwi naczeczko była podwyższona, w 30 minut po spożyciu cukru osiągnęła najwyższe wzniesienie, 206 mg na 100 cm³ krwi, aby po dwóch godzinach opaść do poziomu początkowego. W moczu nie znaleziono żadnego cukru redukującego. Cukier trzcinowy naczeczko był nieobecny, gdyż redukcja przed i po hydrolizie z kwasem jest jednakowa (w granicach błędu metody). Po 60 minutach od chwili spożycia glukozy obserwujemy przyrost cukrów redukujących po hydrolizie; po 90 minutach przyrost ten osiąga najwyższe wzniesienie, wynosząc 118 mg na 100 cm³ krwi. Po dwóch godzinach zawartość cukrów hydrolizujących spada do zera. W moczu w tym czasie znaleziono naprzód ślad cukru trzcinowego, następnie ilości do 0.4% (skręcanie +0.5° w rurze 200 mm). Ilości te

¹⁾ Częściowo ogłoszono wyniki tych badań w pracy Baranowskiego ('35).

Tabela V.

Zawartość cukru trzcinowego we krwi po obciążeniu glukozą i sacharozą. Metoda hydrolyzy z HCl.
Rohrzuckergehalt des Blutes nach der Belastung mit Glukose und Saccharose. Säurehydrolysemethode.

Nr. do- swiad. czenia	Data i czas	Zawart. cukru w mg na 100 cm ³ krwi		wprost direkt	po inwersji przyp. na z. HCl cuk. trzcin nach Inver- sionsricht sion mit HCl Saccharose	O b c i ą ż e n i e <i>B e l a s t u n g</i>	U w a g i <i>B e m e r k u n g e n</i>
		Zucker- gehalt 100 cm ³	in 100 cm ³				
1	1933						
	21.X						
	8h	141	146	5		Naczezo. O godz. 8 100 g glukozy doustnie.	20.X. Cukier trzcinowy w moczu (polary- metr +10°, rura 2 dm). <i>Rohrzucker im Harn (Polarimeter +10°, 2 dm Rohr).</i>
	8h 30'	206	200	0		Nüchtern. Um 8 Uhr 100 g Glukose peroral.	21.X. 10h Siad c. trzezin. w moczu. 11h Cukier trzcinowy w moczu (+0.5°, 2 dm). <i>Sour von Rohrzucker im Harn. Rohrzucker im Harn (+0.5°, 2 dm Rohr).</i>
	9h	179	206	27			12h Cukier trzcinowy w moczu (+0.2°, rura 2 dm). <i>Rohrzucker im Harn (+0.2°, 2 dm Rohr).</i>
	9h 30'	180	248	118			
	10h	152	150	0			
2	25.X						
	8h	96	112	16		Naczezo. O godz. 8 100 g glukozy doustnie.	24.X. Niema cukru w moczu. <i>Kein Zucker im Harn.</i>
	8h 30'	190	205	15		Nüchtern. Um 8 Uhr 100 g Glukose peroral.	25.X. Niema cukru w moczu. <i>Kein Zucker im Harn.</i>
	9h	250	316	66			
	9h 30'	143	170	27			
	10h	121	141	20			
3	27.X						
	8h	83	105	22		Naczezo. O godz. 8 100 g sacha- rozy doustnie.	26.X. Niema cukru w moczu. <i>Kein Zucker im Harn.</i>
	8h 30'	152	190	38		Nüchtern. Um 8 Uhr 100 g Saccharose peroral.	27.X. Niema cukru w moczu. <i>Kein Zucker im Harn.</i>
	9h	143	164	21			
	9h 30'	123	148	25			
	10h	105	132	27			

Chora na diecie mleczno-kaszkowej, bezcukrowej.
Diät: Milch und Griess, ohne Zucker.

w stosunku do wysokiej zawartości cukrów ulegających hydrolizie we krwi są niewielkie, dlatego też należało przypuszczać, że we krwi oznaczano powyższą metodą nie tylko cukier trzcinowy. Przypuszczenie to wkrótce znalazło potwierdzenie. Po upływie 4 dni wykonano ponowne obciążenie 100 g glukozy (Dośw. 2). Chora od dnia poprzedzającego badanie nie wydalala cukru trzcinowego w moczu. Stwierdzono przedewszystkiem przyrost redukcji po hydrolizie z HCl już w próbce krwi pobranej naczeczko. Podczas gdy poziom cukru gronowego jest już prawidłowy (96 mg na 100 cm³ krwi), po hydrolizie znajdujemy 112 mg. Po godzinie krew przecukrza się do poziomu 250 mg, przyczem przyrost redukcji po hydrolizie zwiększa się do 66 mg na 100 cm³ krwi, aby po 2 godzinach spaść na 20 mg, a więc ilość prawie taką samą jak naczeczko. W moczu nie znaleziono żadnego wogóle cukru, ani przed ani po próbie obciążenia. Zwracają uwagę dwa zjawiska: wysoki próg nerkowy dla glukozy, która mimo przecukrzenia krwi do 250 mg na 100 cm³ krwi do moczu nie przeszła, oraz obecność we krwi związków redukujących po hydrolizie z kwasem, które nie były cukrem trzcinowym, gdyż w moczu nie znaleziono ani śladu tych cukrów. Te związki łatwo hydrolizujące pojawiły się we krwi dopiero w parę dni po ataku, znajdowano je już naczeczko, i wzrastały nieco po spożyciu glukozy. W sześć dni po napadzie, gdy przystąpiono do obciążenia sacharozą (Dośw. 3), naczeczko jeszcze je znajdowano. Po spożyciu 100 g sacharozy cukier gronowy we krwi podniósł się z zawartości 83 mg na 100 cm³ krwi naczeczko do 152 mg po 30 minutach, poczem powoli opadł do 105 mg po 2 godzinach. Podanie sacharozy nie wywarło natomiast żadnego wpływu na ilość związków łatwo hydrolizujących. W moczu nie znaleziono żadnego cukru ani przed ani po obciążeniu. Doświadczenie to jest zupełnie jednoznaczne: w okresie po napadzie (7 dni), gdy chora nie wydalala już cukru trzcinowego w moczu, sacharoza nie przechodzi z jelita do krwi, zostaje natomiast rozłożona i we krwi obwodowej znajdujemy ją wyłącznie pod postacią glukozy. Zdolność wytwarzania przez organizm związków łatwo hydrolizujących ogranicza się do pewnego, dość stałego ich poziomu we krwi. Zwiększenie się redukcji po hydrolizie z kwasem zdaje się być w tym okresie ponapadowym w związku

Tabela VI.

Zawartość cukru trzcinowego we krwi po obciążeniu glukozą, fruktozą, sacharozą oraz po wstrzyknięciu podskórnym adrenaliną.
 Rohrzuckergehalt des Blutes nach der Belastung mit Glukose, Fruktose, Saccharose und nach der subcutanen Injection von Adrenalin.

Nr. do- świad- czenia	Data i czas	Zawart. cukru w mg na 100 cm ³ krwi		Zuckergehalt des Blutes in mg pro 100 cm ³		U w a g i
		wprost direkt	po inwersji HCl	przyp na cuk. trzc.	przyp na cuk. trzc.	
Nr. des Versu- ches	Datum und Stunde	wprost direkt	po inwersji nach Invers. sion mit HCl	przyp na cuk. trzc.	przyp na cuk. trzc.	B e m e r k u n g e n
1	1934 29.X	109	107	0	0	Od 26.X niema cukru w moczu. Seit 26.X kein Zucker im Harn.
2	3.XI	95	93	0	0	Niema cukru w moczu. Kein Zucker im Harn.
3	9.XI 8h 30' 8h 30' 9h 9h 30' 9h 30' 10h	116 192 154 192 125	114 238 152 132 125	0 46 0 0 0	0	8.XI: cukier trzcin w moczu. Rohrzucker in Harn. 9.XI 9h: w moczu 0.5% fruktozy i 0.2% sacharozy. Im Harn 0.5% Fruktose und 0.2% Saccharose.
4	13.XI 21h 30' 24h 14.XI 3h 10h 10h 30' 11h	91 107 88 105 148 148	93 110 100 102 162 146	2 3 12 0 14 0	0	12.XI 3h—6h: cukier trzc. w moczu. Rohrzucker im Harn. 13.XI 18h—24h: cukier trzc. w moczu. Rohrzucker im Harn. 14.XI 3h 30': napad bólow. Schmerzanfall. 6h: ślad cukru trzce. w moczu. Spur von Rohrzucker im Harn.
5	15.XI	155	207	52		Cukier trzcinowy w moczu. Rohrzucker im Harn.
6	17.XI	178 178	216 229	38 51*)		16.XI: Siłny napad bólow. W moczu wielkie ilości cukr. trzc. (polarym. +12°, rura 2 dm). Starke Schmerzanfall. Im Harn grosse Mengen von Rohrzucker (Polarimeter +12°, 2 dm Rohr).
7	21.XI 8h 8h 15' 8h 45'	102 239 170	112 277 230	10 38 60		Od 16.XI state wydalanie cukru trzce. w moczu. Seit 16.XI eine ständige Rohr uckerausscheidung. 16.XI: napad bólow. W moczu wielkie ilości cukru trzcinowego. Schmerzanfall. Rohrzucker im Harn.

8	29.XI 8h 8h 30' 9h 9h 30'	114 75 86 89	119 86 112 101	5 11 26 12	Naczezo. O godz. 8-ej 1 mg adrenaliny podskórnje. <i>Nüchtern. Um 8 Uhr 1 mg Adrenalin subcutan.</i>	22.XI: Niema cukru w moczu. <i>Kein Zucker im Harn.</i> 23-24.XI: Duże ilości cukru trzce. w moczu. Napad bólów. <i>Grosse Mengen von Rohrzucker im Harn. Ein Schmerzanfall.</i> 26.XI: Niema cukru w moczu. <i>Kein Zucker im Harn.</i> 29.XI: Ślad cukru trzce. w moczu. <i>Spar von Rohrzucker im Harn.</i> 30.XI: Cukier trzce w moczu. <i>Rohrzucker im Harn.</i>
9	11.XII 8h 8h 30' 9h 9h 30'	82 112 150 168	102 133 165 197	20 21 15 29	Naczezo. O godz. 8-ej 1 $\frac{1}{2}$ mg adrenaliny podskórnje. <i>Nüchtern. Um 8 Uhr 1$\frac{1}{2}$ mg Adrenalin subcutan.</i>	8.XII: Napad bólów. Cukier trzce. w moczu. <i>Schmerzanfall. Rohrzucker im Harn.</i> 9.XII: Cukier trzce. w moczu. <i>Rohrzucker im Harn.</i> 10.XII: Duże ilości cukru trzce. w moczu. <i>Grosse Mengen von Rohrzucker im Harn.</i> 11.XII: Cukier trzce. w moczu. <i>Rohrzucker im Harn.</i>
10	19 $\frac{2}{5}$ 29.VI 8h 8h 30' 9h 9h 30' 10h	128 194 183 153 108	128 198 (strac.) 153 108 +	0 4 — 0 0	Naczezo. O godz. 8-ej 100 g sacharozu doustnie. <i>Nüchtern. Um 8 Uhr 100 g Saccharose peroral.</i>	27.IV: Niema cukru w moczu. <i>Kein Zucker im Harn.</i> 28.IV: Niema cukru w moczu. <i>Kein Zucker im Harn.</i> 29.IV: Ślad cukru trzce. w moczu. <i>Spar von Rohrzucker im Harn.</i> 30.IV: Cukier trzce. w moczu. <i>Rohrzucker im Harn.</i>
11	1.V 8h 8h 30' 9h 9h 30' 10h	76 150 278 262 219	80 157 308 303 236	4 7 30 41 17	Naczezo. O godz. 8-ej 100 g glukozy doustnie. <i>Nüchtern. Um 8 Uhr 100 g Glukose peroral.</i>	30.IV: Lekki napad bólów. <i>Leichter Schmerz anfall.</i> 1.V: Cukier trzce. w moczu. <i>Rohrzucker im Harn.</i>
12	10.V 8h 8h 30' 9h 9h 30' 10h	109 100 114 102 98	109 112 128 131 121	0 12 14 29 23	Naczezo. O godz. 8-ej 1 mg adrenaliny podskórnje. <i>Nüchtern. Um 8 Uhr 1 mg Adrenalin subcutan.</i>	9.V: Niema cukru w moczu. <i>Kein Zucker im Harn.</i> 10.V: Ślad cukru trzce. w moczu. <i>Spar von Rohrzucker im Harn.</i> 11.V: Niema cukru w moczu. <i>Kein Zucker im Harn.</i>

*) Równoległe oznaczenie na równocześnie pobranej krwi metodą hydrolizy z HCl.

Eine parallele Bestimmung im gleichzeitig entnommenen Elate mit der Sturehydrolyse-methode.

z wysokością glukozy we krwi. Na podstawie wyników obciążenia sacharozą można twierdzić, że zostaje ona rozłożona zupełnie prawidłowo w jelicie: pokrywa się z tem znalezienie czynnej inwertazy w treści dwunastnicowej.

W następnych badaniach, wykonanych z tą samą chorą w rok później, posługiwano się już opisaną wyżej metodą swoistą dla cukru trzcinowego, opartą na inwersji zapomocą sacharazy. Wyniki są zebrane również chronologicznie w tabeli VI.

W doświadczeniu 1. chorej nie wydalającej od 3 dni cukru trzcinowego w moczu dano do spożycia naczeczko 50 g glukozy. Wykonano tylko jedno oznaczenie orjentujące po 90 minutach. Poziom cukru gronowego był w tym czasie już normalny (109 mg na 100 cm³ krwi), sacharoza była nieobecna. Z tego można wnosić, że glukoza zostaje przez organizm zupełnie prawidłowo zużytkowana. W okresie niewydalania cukru trzcinowego w moczu oznaczono zawartość cukrów krwi naczeczko (dośw. 2). Glukozy było 95 mg na 100 cm³ krwi, sacharazy nie było. Na drugi dzień po pojawieniu się cukru trzcinowego w moczu przeprowadzono próbę obciążenia fruktozą. Podano chorej będącej naczeczko 60 g fruktozy w herbacie, celem zbadania wpływu tego cukru na zdolność tworzenia się cukru trzcinowego w ustroju. Naczeczko poziom cukru we krwi był nieznacznie podwyższony (116 mg na 100 cm³ krwi), ale sacharoza była nieobecna. Po 30 minutach we krwi zjawiała się sacharoza, osiągając na krótko dość wysoki poziom 46 mg na 100 cm³ krwi; po dalszych 30 minutach znika ona zupełnie ze krwi. Cukier redukujący we krwi podniósł się z 116 do 192 mg, poczem w ciągu 2 godzin opadł prawie do poziomu początkowego. W moczu znaleziono 0.5% fruktozy i 0.2% sacharazy. Po trzydniowej przerwie w wydalaniu cukru trzcinowego w moczu, pojawił się on znowu. Ponieważ w ostatnich czasach sacharozę znajdowano przeważnie w porcjach moczu z nocy, przeprowadzono badanie w nocy, pobierając próbki krwi w odstępach trzygodzinnych. Badanie to zbiegło się przypadkiem z wystąpieniem napadu kamicy trzustkowej, co pozwoliło zebrać dane, dotyczące zachowania się cukrów we krwi tuż przed napadem bólów. Chora była przez cały dzień naczeczko (dośw. 4). Wieczorem o godz. 21

min. 30 cukier we krwi był na poziomie 91 mg na 100 cm³; była to przeciętna dla tej chorej wartość naczecz. Sacharozy nie było, małe ilości 2—3 mg leżą jeszcze poniżej granicy błędu metody. O godz. 24-ej cukier we krwi podniósł się do 107 mg. O godz. 3-ej zaobserwowano spadek poziomu cukru do 88 mg, równocześnie zaś pojawiła się sacharoza w ilości niewątpliwie przekraczającej granicę błędu. 30 minut później wystąpił silny atak bólów, trwający parę godzin, który nie pozwolił na dalsze oznaczania. Badanie wykonane o 10-ej rano wykazało nieobecność sacharozy we krwi i poziom cukru 105 mg na 100 cm³ krwi. W moczu znaleziono ślad cukru trzcinowego. Organizm ma jednak zdolność wytwarzania cukru trzcinowego z doprowadzonej glukozy. Po spożyciu 30 g glukozy wystąpiła krótkotrwała sacharozemja z najwyższym wzniesieniem do 14 mg w 100 cm³ krwi. Zwraca uwagę w tym badaniu 12-to godzinnem fakt wytwarzania sacharozy przez organizm, będący od 22 godzin naczecz z poprzedniem podwyższeniem się zawartości glukozy we krwi i spadkiem jej w chwili powstawania sacharozy. Drugi ważny fakt, to niewątpliwy związek między atakiem, mającym cechy ataku kamicy, a zdolnością wytwarzania się cukru trzcinowego w ustroju.

W ciągu 8 dni od opisanego badania chora miała jeszcze 2 silne ataki i stale wydzielala duże ilości cukru trzcinowego w moczu. W tym okresie przedsięwzięto dwukrotnie badanie krwi naczecz (dośw. 5 i 6). Znaleziono bardzo znacznie podwyższony poziom cukru gronowego we krwi, 155 mg za pierwszym i 178 mg na 100 cm³ krwi za drugim razem. Sacharozę znaleziono w ilościach 52 i 32 mg na 100 cm³ krwi. Są to ilości stosunkowo znaczne, jeżeli uwzględni się, że cukier ten zostaje jako ciało obce szybko z ustroju wydalony i skutkiem tego nigdy nie nagromadza się zbyt w krwi. W moczu znajdowano duże ilości sacharozy, polarymetrem stwierdzano nierzadko do +12° (w rurze 200 mm). W doświadczeniu 6. porównano wyniki, otrzymane metodą inwersji sacharazą, z metodą hydrolizy z kwasem solnym na tej samej krwi. Okazało się, że wartości znajdowane tą ostatnią metodą, są przeszło o 30% wyższe. Świadczy to o obecności we krwi innych związków redukujących do-

piero po hydrolizie z kwasem solnym i tłumaczy dobrze wyniki otrzymywane poprzednio (tab. V. dośw. 1, 2, 3).

W wspomnianym okresie silnego wydalania cukru trzcinowego przeprowadzono również próbę obciążenia glukozą z ominięciem przewodu pokarmowego. Postawiono mianowicie pytanie, czy z glukozy wstrzykniętej wprost do krwiobiegu powstanie cukier trzcinowy tak samo, jak to stwierdzono dla podanej drogą przewodu pokarmowego. W tym celu wstrzyknięto chorej, będącej naczecz, 30 cm³ 30% roztworu glukozy dożylnie. Osiągnięto w ten sposób wzrost poziomu cukru gronowego we krwi do 239 mg na 100 cm³ krwi. Naczecz było już nieco sacharozy we krwi. W 45 minut po wstrzyknięciu glukozy sacharoza we krwi podniosła się z 10 na 60 mg w 100 cm³ krwi. W moczu znajdowano cukier trzcinowy, nie znaleziono glukozy. Po badaniu wystąpił silny napad bólów, nie daje się jednak stanowczo stwierdzić, czy był tu jakiś związek przyczynowy między jego wystąpieniem a wstrzyknięciem dożylnem glukozy. Opisane doświadczenie wskazuje na to, że w okresie kolki trzustkowej glukoza może być bezpośrednim materiałem, z którego tworzy się cukier trzcinowy i jest zarazem silnym argumentem za powstawaniem cukru trzcinowego drogą syntezy. Przyjmując u chorej ilość krwi na około 4.5 l ($\frac{1}{13}$ wagi ciała) znajdujemy, że podwyższenie poziomu sacharozy o 50 mg na 100 cm³ krwi odpowiada przemianie 2.25 g glukozy, t. j. około 25% wprowadzonej ilości (9 g).

Z poprzednich doświadczeń okazało się, że także z fruktozy może powstać cukier trzcinowy. Ze względu na łatwość przechodzenia fruktozy w glukozę, względnie estrów fosforowych fruktozy w estry glukozy i naodwrot, nie wydaje się to niemożliwe. Udział fosforanów w procesie tworzenia sacharozy jest prawdopodobny na podstawie przeprowadzonych oznaczeń fosforanów we krwi. W czasie napadu ilość fosforanów we krwi naczecz jest podwyższona. Oznaczenie rozpuszczalnych w kwasie frakcyj fosforanowych (metoda hydrolizy z n HCl według L o h m a n n a '28) wykazało: P nieorg. — 6.4 mg, po hydrolizie 7' — 13.7, po 30' — 16.4 mg w 100 cm³ krwi.

Zbadano wreszcie wpływ przecukrzenia krwi, wywołanego wstrzyknięciem adrenaliny, na wytwarzanie się cukru trzcinowego

wego. 5 dni po ataku, gdy chora przestała wydalać sacharozę, wstrzyknięto naczeczko 1 mg adrenaliny podskórnice. Okazało się, że zamiast spodziewanego wzrostu cukru we krwi wystąpiło zjawisko wręcz przeciwne: obniżenie bardzo znaczne poziomu glukozy (o 39 mg na 100 cm³ krwi), który potem bardzo powoli podnosił się. Zaobserwowana paradoksalna reakcja na adrenalinę miała swój odpowiednik w zachowaniu się częstości tętna i ciśnienia krwi. Naczeczko znajdowano nieznaną ilość sacharozy we krwi, która w ciągu godziny podniosła się do zawartości 26 mg w 100 cm³ krwi. Doświadczenie powtórzono z wstrzyknięciem 1½ mg adrenaliny (Nr. 9). Po zwiększonej dawce adrenaliny wystąpiło przecukwienie krwi, nie zaobserwowano poprzednio opisanych zjawisk. Chora, wydalająca duże ilości cukru trzcinowego w moczu, miała we krwi już naczeczko sporo cukru trzcinowego, którego poziom tylko nieznacznie się zwiększył po adrenalinie.

Po 4 miesiącach podjęto ponownie badania, celem stwierdzenia, czy opisane zjawiska wytwarzania cukru trzcinowego w ustroju pod wpływem cukrów prostych dadzą się powtórzyć. Przedewszystkiem podano chorej w okresie niewydalania cukru sacharozę w ilości 100 g w herbacie, przez sondę żołądkową. Krzywa glikemiczna jest najzupełniej prawidłowa. Jeżeli chodzi o zawartość sacharozy we krwi, to z wyjątkiem oznaczenia po 30 minutach, które wykazało nieznaczne ilości leżące poniżej granicy błędu metody, sacharozy we krwi nie znaleziono. Tak pomimo więc spożycia znacznej ilości cukru trzcinowego do krwi sacharoza się nie przedostała, względnie w ilościach nieznacznych. Można na podstawie tego obciążenia wyłączyć z całą stanowczością możliwość sacharozurji alimentarnej.

W dwa dni później u chorej wystąpił lekki atak. Podano sondą żołądkową 100 g glukozy rozpuszczonej w wodzie. Glukoza we krwi wzrosła bardzo znacznie, z 76 mg w 100 cm³ krwi naczeczko do 278 mg po godzinie od chwili wiania cukru. Sacharoza zjawiała się we krwi w ilościach do 41 mg na 100 cm³ krwi. Najwyższe wzniesienie cukru trzcinowego przypada dopiero wtedy, gdy glukoza osiągnęła już największe stężenie we krwi i zaczęła opadać. W moczu znaleziono cukier trzcinowy. Doświad-

czenie wykonane 15 miesięcy po pierwszej próbie obciążenia glukozą miało zupełnie identyczny przebieg.

Ostatnie wreszcie doświadczenie wykonano z wstrzyknięciem adrenaliny w ilości 1 mg, w celu stwierdzenia, czy paradoksalna reakcja na adrenalinę, obserwowana za pierwszym razem da się reprodukować. Jak widać z wyników, miało to miejsce i tym razem. Wystąpiło początkowo niewielkie odcukrzenie, poczem cukier krwi nieznacznie się podniósł, przekraczając niewiele poziom początkowy. Mimo tak małych zmian w zawartości cukru gronowego, sacharoza zjawiała się we krwi i znaleziono ją również w moczu.

Omówienie wyników.

Głównym celem powyższej pracy było stwierdzenie możliwości endogenicznego powstawania cukru trzcinowego. Dlatego też dołożono szczególnych starań, aby wyłączyć możliwość symulacji czy też błędów doświadczalnych. Chora była w czasie wykonywania oznaczeń i przy oddawaniu moczu ściśle obserwowana; stwierdzono, że spożyty cukier trzcinowy nie wpływa na sacharozurję i na sacharozemję. Z moczu pobranego kateterem izolowano krystaliczny cukier trzcinowy i zidentyfikowano go na podstawie skręcalności, przebiegu inwersji pod wpływem wysoko oczyszczonego fermentu swoistego, oraz redukcji po inwersji. Stwierdzono niewątpliwie występowanie sacharozy we krwi metodą swoistą i to zarówno po spożywaniu cukrów prostych, jak i po 24 godzinnym poście. Należy dodać wreszcie, że chora była w ciągu 2-ch lat trzykrotnie w obserwacji i że wszystkie opisane zjawiska dawały się zawsze reprodukować. Uzupełnieniem obrazu sacharozurji w ogólności są oznaczenia cukru trzcinowego we krwi i moczu w typowym przypadku sacharozurji alimentarnej.

Na podstawie przeprowadzonych badań można mówić o endogenicznym powstawaniu cukru trzcinowego w ustroju człowieka, o endogenicznej sacharozurji i sacharozemji. Opracowany przypadek przedstawia dużo podobieństwa z opisanym przez Höschla; i jego opis wskazuje również na możliwość tworzenia się cukru trzcinowego w organizmie. W badanym

przeze mnie przypadku znajdowano wyższą zawartość sacharozy we krwi niż u H ö s c h a i to na podstawie metody dla cukru trzcinowego swoistej. Metodą hydrolizy z kwasem znajdowano wartości, dochodzące do 118 mg na 100 cm³ krwi, jednak jak się to okazało, oznaczano w ten sposób nie tylko cukier trzcinowy.

Sprawa pochodzenia cukru trzcinowego i stosunku jego do całości przemiany węglowodanowej ustroju została wzbogacona szeregiem szczegółów, jakkolwiek pozostaje nadal otwarta. Zarówno w opisanym powyżej jak i w przypadku H ö s c h a tworzenie się cukru trzcinowego zwiększa się pod wpływem spożycia glukozy lub fruktozy; jednak nie jest to trwała właściwość chorej. W badanym przypadku zaznacza się wyraźny związek między wydalaniem sacharozy w moczu a napadami, mającymi objawy kamicy trzustkowej. W okresie przed napadem chora nie wydalala cukru trzcinowego w moczu, niema go także we krwi i podawanie cukrów prostych jest bez wpływu na tworzenie się cukru trzcinowego. Następnie w miarę zbliżania się napadów bólów zaczyna się pojawiać okresowo cukier trzcinowy we krwi i w moczu, naprzód na parę godzin w stężeniu nieznanym. Potem czas wydalania się sacharozy w moczu i jej ilość rosną i gdy przychodzi napad kamicy trzustkowej zjawiska te osiągnają punkt kulminacyjny. W moczu znajduje się cukru trzcinowego do 150 g na dobę, w krwi do 60 mg na 100 cm³. Sacharoza zjawia się pomimo ograniczenia węglowodanów w pokarmie, a nawet w okresie zupełnego głodu. W okresie napadu ustrój ma spotęgowaną zdolność wytwarzania sacharozy, podawanie w tym czasie fruktozy i glukozy zwiększa sacharozemję wybitnie. Potem w kilka dni po napadzie nasilenie sacharozurji i sacharozemji zmniejsza się, aż wreszcie w okresie międzyna-
padowym organizm znowu nie ma zdolności wytwarzania sacharozy i doprowadzone cukry i własne węglowodany zużytkowuje w normalny sposób. I cały ten cykl powtarza się regularnie, z krótszemi (do 3-ch dni) lub dłuższemi przerwami (do 3 tygodni).

Sacharozurję i sacharozemję samoistną można tłumaczyć dwojako: albo cukier trzcinowy jest normalnym produktem pośrednim przemiany węglowodanów i wskutek jakiegoś zaburzenia stabilizuje się i zostaje szybko wydalony, albo organizm ma

w pewnych patologicznych warunkach, związanych z schorzeniem trzustki, zdolność syntetyzowania cukru trzcinowego. Synteza tego rodzaju jest do pomyślenia, gdyż w ustroju znajdują się zawsze części składowe cukru trzcinowego: glukoza i fruktoza, które zresztą z łatwością mogą przechodzić nawzajem w siebie. Co więcej — istnieją w ustroju estry fosforowe tych jednocukrów. Jeżeli uprzytomnimy sobie, że w czasie tworzenia się cukru trzcinowego w buraku cukrowym znajdują się duże ilości estrów fosforowych (Burkard i Neuberger '34) glukozy i fruktozy, to mamy teoretyczne uzasadnienie możliwości syntezy sacharozy także i w ustroju zwierzęcym. Za syntezą cukru trzcinowego przemawiają doświadczenia, w których podanie glukozy i fruktozy wpływało na tworzenie się cukru trzcinowego, a zwłaszcza szybki przyrost sacharozemji po bezpośrednim doprowadzeniu glukozy do krwi. Za możliwością powstawania cukru trzcinowego jako produktu rozkładu węglowodanów zapasowych przemawiają zjawiska obserwowane przy doświadczalnym wywołaniu spraw zapalnych trzustki. Zwraca uwagę, że w opisanym przypadku, rozpoznanym jako schorzenie trzustki, obok sacharozy występowały także inne związki, redukujące dopiero po hydrolizie. Ta okresowość w wydalaniu cukru trzcinowego, tak związana ze stanem trzustki, może być podstawą rozmaitych hipotez; z całą stanowczością można tylko jedno orzec: w pewnych patologicznych warunkach najprawdopodobniej pod wpływem schorzeń trzustki organizm ludzki ma zdolność wytwarzania cukru trzcinowego. Zwrócenie uwagi na analogiczne przypadki chorobowe pozwoli może w przyszłości orzec, czy sacharozurja samoistna jest rzeczywiście tak rzadkiem schorzeniem przemiany materji, za jakie wypada ją dotychczas uznawać.

Większość doświadczeń wykonano w Zakładzie Chemji Lekarskiej U. J. K. (Dyrektor: Prof. Dr. J. K. Parnas).

Panu Prof. Dr. Włodzimirzowi Mozołowskiemu dziękuję za cenne wskazówki i okazane zainteresowanie.

Piśmiennictwo.

Baranowski T. 1934. Oznaczenie czynności wydzielniczej nerki w przypadku sacharozurji alimentarnej. *Pol. Gaz. Lek.* 33—34. — Baranowski T. 1935. Die Saccharose im Blute bei einem Falle von Pankreaserkrankung. *Klin. Woch.* 14 (1719). — Baranowski T. u. Mozołowski W. 1934. Die Saccharose im Harn bei einem Falle von Pankreaserkrankung. *Klin. Woch.* 13 (955). — Burkard J. u. Neuberger C. 1934. Zur Frage nach der Entstehung des Rohrzuckers. *Bioch. Zeitschr.* 270 (229). — Cammidge P. J. 1927. Dextrinuria: its clinical significance. *Lancet.* 5444 (1386). — Charrin et Brocard. 1902. L'utilisation des sucres (bihexoses) par l'organisme. *Compt. rend. de l'Acad. d. Scien.* 134 (188). — Hagedorn H. G. u. Jensen B. N. 1923. *Bioch. Zeitschr.* 135 (46). — Hösch. 1934. Spontane periodische Rohrzucherausscheidung. *Klin. Woch.* 13 (275). — Jolles A. 1913. Über den Nachweis der Saccharose im Harn. *Bioch. Zeitschr.* 57 (420). — Krasowska M. i Ptaszek L. 1935. O moczeniu cukrem trzcinowym i lewoskrętnym. *Pol. Arch. Med. Wewn.* 13 (417). — Lépine R. et Boulud. 1901. Sur les sucres du sang. *Compt. rend. de l'Acad. d. Sc.* 133 (138). — Lépine R. et Boulud. 1902. Sur le dosage des sucres dans le sang. *Compt. rend. de l'Acad. d. Sc.* 134 (398). — Lohmann K. 1928. Über das Vorkommen und den Umsatz von Pyrophosphat in Zellen. *Bioch. Zeitschr.* 202 (466). — Murschhauser H. 1921. Welche Zuckerart wird vom Säugling im Harne ausgeschieden, wenn die für ihn festgestellte Assimilationsgrenze für Rohrzucker in der Nahrung überschritten wird? *Bioch. Zeitschr.* 119 (328). — Neuberger C. 1911. *Der Harn I.* (424). Springer. Berlin. — Oppel W. 1928. Zur Charakteristik der alimentären glykämischen Kurve. IV Mitteilung über Saccharosämie. *Bioch. Zeitschr.* 205 (31). — Rencki R. u. Falkiewicz A. 1934. Über einen Fall von Saccharosurie bei Pankreopathie. *Klin. Woch.* 13 (774). — Smoleński K. 1909. Zur Frage der Muttersubstanz, durch welche die Reaktion von Cammidge im Harn hervorgerufen wird. *Zeitschr. f. physiol. Chem.* 60 (127). — Svanberg O. *Abderhalden's Handbuch der biolog. Arbeitsmethoden.* 4 Tl. 1, 2. — Voit Fr. 1897. Untersuchungen über das Verhalten verschiedener Zuckerarten im menschlichen Organismus nach subkutaner Injection. *Deutsch. Arch. f. klin. Med.* 58 (523). — Worm-Müller. 1884. Die Ausscheidung des Zuckers im Harn des gesunden Menschen nach Genuss von Kohlenhydraten. *Pflüger's Archiv.* 34 (576).

[Zakład Fizjologii Instytutu im. Nenckiego T. N. W.].

F. Bonder.

**Badania nad wymianą gazową u człowieka w czasie pracy.
V. O zachowaniu się przestrzeni martwej dróg oddechowych
w okresie początkowym pracy i w czasie wypoczynku.**

Recherches sur les échanges gazeux chez l'homme pendant le travail. V. L'allure de l'espace mort des voies respiratoires pendant la période initiale du travail et pendant le repos qui le suit.

Rękopis nadesłany w dniu 10.VI.1936 r.

Les présentes recherches ont pour but l'étude des variations, que subit l'espace mort pendant la période initiale du travail et pendant le repos qui le suit.

L'appareillage, que nous avons employé pour la détermination des échanges gazeux, fut décrit par B i a ł a s z e w i c z ('33). Quant au prélèvement de l'air alvéolaire, nous avons procédé d'après la méthode de H a l d a n e et P r i e s t l e y ('05). Le volume de respiration, l'analyse de l'air expiré, ainsi que l'air alvéolaire étant déterminés expérimentalement, la formule de B o h r peut fournir le volume cherché de l'espace mort. Nous avons calculé la grandeur de l'espace mort d'après deux modes différents: en partant des proportions d'oxygène et de celles d'anhydride carbonique.

Nous avons étudié, en rapport avec le problème de l'espace mort, les changements du quotient respiratoire dans l'air alvéolaire (RQ_a) pendant la période initiale du travail et pendant le repos qui suit le travail; nous avons comparé dans ces périodes les valeurs de RQ_a et celles du quotient respiratoire dans l'air expiré (RQ_e).

Nous avons examiné enfin, pendant le travail et pendant le repos consécutif, les variations du rapport de l'espace mort au volume d'une respiration.

Nous résumons ci-dessous les résultats principaux:

1°. L'espace mort et la ventilation atteignent „steady state” presque simultanément (fig. 1), la différence des temps ne dépassant pas pour ces deux grandeurs 0.25' à 0.75' (voir tabl. IV).

2°. Après un travail de moindre intensité (720 mkg/1'), l'espace mort et la consommation d'oxygène reviennent simultanément aux valeurs correspondant au repos (partie droite de la fig. 2). Après un travail d'une intensité plus grande (1080 mkg/1'), l'espace mort et la consommation d'oxygène atteignent aussi simultanément les valeurs constantes, mais cette fois ce sont des valeurs plus grandes que celles de repos (partie gauche de la fig. 2). Les écarts entre les moments où ces quantités parviennent, dans un cas, aux valeurs de repos, et dans autre — aux valeurs constantes — varient pour différentes expériences de 0' à 1' (tabl. VI).

3°. On voit sur le diagramme de la fig. 3 et sur tabl. VII que pendant le repos les deux quotients respiratoires RQ_a et RQ_s ne diffèrent qu'insensiblement. Pendant la première minute du travail, cette différence augmente fortement, et c'est le quotient respiratoire RQ_a qui reste plus petit; ensuite l'allure de ces deux quantités devient à peu près parallèle. Pendant le repos qui suit le travail, on n'observe ce parallélisme qu'immédiatement après le travail; une minute et demie après, la différence entre les quotients étudiés atteint son maximum; ensuite elle diminue de nouveau.

4°. Pendant le travail l'espace mort, calculé d'après O_2 , présente des valeurs plus grandes, que l'espace mort, calculé d'après CO_2 . On constate sur les fig. 1 et 2 que pendant la période initiale du travail la différence de ces deux grandeurs se comporte de façon analogue à la différence $RQ_e - RQ_a$ dont il a été question au 3°. Quant au repos, la plus grande divergence entre les valeurs des espaces morts, calculés d'après O_2 et CO_2 , apparaît juste au moment où le travail est fini.

5°. On a examiné pendant le travail et pendant le repos consécutif le rapport de l'espace mort au volume d'une respiration (le premier étant calculé d'après CO_2). On constate (fig. 4) que ce quotient diminue, lorsque le volume d'une respiration varie de 500 cm³ à 1600 cm³. Les valeurs trouvées s'accordent

bien avec les résultats des recherches de Krzywánek et Steuber ('22) qui effectuaient les expériences, en permettant au sujet de modifier volontairement sa respiration pendant le repos.

Pierwsze badania nad przestrzenią martwą efektywną u człowieka („the effective dead space”) przeprowadzili Haldane i Priestley ('05). Posługiwali się oni wzorem Bohra, w którym przestrzeń martwą traktowali jako niewiadomą, skład zaś powietrza pęcherzykowego oznaczali bezpośrednio zapomocą opracowanej przez siebie metody.

Wielkość przestrzeni martwej podczas pracy określali Siebeck ('11), Douglas i Haldane ('12), Krogh i Lindhard ('12—'13) ('17), Henderson, Chillingworth i Whitney ('15). Wszyscy wymienieni badacze stwierdzili wzrost przestrzeni martwej podczas pracy, jednak w zależności od stosowanej metody otrzymywali różniące się ilościowo wyniki. Douglas i Haldane oznaczali przestrzeń martwą podobnie, jak Haldane i Priestley. Siebeck oraz Krogh i Lindhard, posługujący się metodą wodorową, znaleźli znacznie mniejszy wzrost przestrzeni martwej w porównaniu do liczb, uzyskanych przez Douglasa i Haldane'a. Henderson, Chillingworth i Whitney powtórzyli doświadczenia obydwóch grup badaczy i otrzymali potwierdzenie poprzednich wyników.

Zarówno Henderson, Chillingworth i Whitney, jak i Haldane ('15) obliczali przestrzeń martwą z procentowych zawartości O_2 i z procentowych zawartości CO_2 , przy czem pierwsze wartości okazały się wyższe; ze wzrostem przestrzeni martwej różnice te zwiększały się. W związku z tem pozostaje obserwowany przez Haldane'a ('15) fakt, że iloraz oddechowy, obliczony z powietrza wydechowego, jest wyższy, niż obliczony z powietrza pęcherzykowego. Autor zjawisko to tłumaczy tem, że w obrębie „atriów” następuje wymywanie CO_2 ze krwi wskutek większego współczynnika dyfuzji tego gazu; ponieważ powietrze wydechowe prócz powietrza pęcherzykowego zawiera powietrze, pochodzące z „atriów”, więc iloraz obliczony z powietrza wydechowego powinien być wyższy. Konsekwencją tego (Haldane '22) są większe wartości, otrzymywane na przestrzeń martwą, obliczoną z O_2 , niż obliczoną z CO_2 .

Zależności liczbowe między przestrzenią martwą a głębokością oddechu badali Krzywánek i Steuber ('22); stwierdzili oni, że stosunek przestrzeni martwej, obliczonej z CO_2 , do głębokości oddechu zmienia się z dużą prawidłowością, malejąc ze wzrostem głębokości oddechu. Po przekroczeniu pewnej głębokości oddechu (około 1500 cm^3) stosunek ten nieznacznie wzrasta. Przytoczone badania przeprowadzono w spoczynku, przy dowolnie pogłębianym oddechu.

Z przytoczonej literatury wynika, że w dotychczasowych badaniach nad przestrzenią martwą ograniczano się do pomiaru jej wielkości w spoczynku i w czasie pracy; brak natomiast badań nad oznaczeniem przestrzeni martwej w okresie początkowym pracy oraz w czasie wypoczynku po pracy.

Celem niniejszej pracy było zanalizowanie przebiegu zmian przestrzeni martwej we wspomnianych okresach; w szczególności zaś chodziło o zbadanie, czy przestrzeń martwa ustala się w chwili zakończenia okresu początkowego pracy i w jakim czasie po pracy osiąga swą wartość spoczynkową.

Metodyka.

W niniejszych doświadczeniach praca wykonywana była na cykloergomierzu Krogha ('13); wymianę gazową badano zapomocą gazomierza Elster'a oraz kimografu z urządzeniem rejestrującym (Białasiewicz '33). Konieczną do obliczenia natężenia pracy liczbę obrotów pedałów odczytywano z narysu na kimografie. Rejestracja ta odbywała się dzięki umieszczeniu pod jednym z pedałów wyłącznika, który zamykał obwód prądu, dochodzący do znacznika w chwili, gdy pedał przechodził przez najniższe położenie.

Posługiwano się w doświadczeniach maską firmy Siebe i Gorman, Londyn (Nr. 31 katalogu BS), w której wentyle Douglas'a zastąpiono wentylami Tissot'a. Przed włożeniem maski osoba doświadczalna zatykała nozdrza watą, żeby oddech odbywał się wyłącznie przez usta. Chodziło tu o ujednostajnienie sposobu oddychania, ponieważ Liljestrand i Stenström ('25) wykazali, że przestrzeń martwa przy oddychaniu przez nos jest mniejsza, niż przy oddychaniu przez usta.

Badania przeprowadzane były w godzinach rannych na jednym osobniku męskim o średnim stopniu wyćwiczenia. Przed rozpoczęciem właściwych doświadczeń robiono kilkakrotnie próby w celu oswojenia go z oddychaniem w masce i z przebiegiem doświadczenia.

Przeprowadzono dwie serie doświadczeń: w pierwszej serji badano okres wypoczynku po pracy, przyczem intensywność pracy wynosiła 720 mkg/1' i 1080 mkg/1'; w drugiej serji badano okres początkowy pracy, której intensywność wynosiła 720 mkg/1'. We wszystkich doświadczeniach liczba obrotów pedałów równała się 60/1'.

Przed każdym doświadczeniem badano przemianę spoczynkową metodą Zuntz'a i Geppert'a, oraz pobierano próbkę powietrza pęcherzykowego w sposób niżej opisany, w celu oznaczenia przestrzeni martwej w spoczynku. Podczas badania przemiany spoczynkowej osobnik pozostawał w pozycji siedzącej na cykloergomierzu przez 6—10 min.

Przebieg doświadczeń pierwszej serji był następujący: praca trwała 4 minuty; po upływie 3-ch minut pobierano do naczyń próżniowych próbkę

powietrza wydechowego, poczem natychmiast próbkę powietrza pęcherzykowego. W czasie wycoczynku pobierano do tych naczyń 5 próbek powietrza wydechowego i tyleż próbek powietrza pęcherzykowego. Pierwszą próbkę powietrza wydechowego pobierano natychmiast po przerwaniu pracy, następne po upływie 0.5', 1.5', 4' i 6' od chwili przerwania pracy; czas pobierania wynosił 3—5". W kilka sekund po pobraniu próbki powietrza wydechowego, pobierano próbkę powietrza pęcherzykowego; czas pobierania wynosił 2—4".

W drugiej serji doświadczeń praca trwała 3 minuty; pierwszą próbkę powietrza wydechowego i pęcherzykowego pobierano w 0.5' po rozpoczęciu pracy, następne co 0.5'.

Powietrze pęcherzykowe pobierano metodą Haldane'a i Priestley'a ('05). Przy stosowaniu tej metody wyznacza się skład powietrza pęcherzykowego przez średnią arytmetyczną składu dwóch próbek: jednej, pobranej po ukończonym normalnym wdechu i drugiej, pobranej po ukończonym normalnym wydechu. Ponieważ jednak te dwie próbki pobiera się w dwóch różnych chwilach, w czasie pracy zaś i podczas wycoczynku skład powietrza pęcherzykowego ulega zmianom, ograniczono się poniżej do pobrania każdorazowo jednej próbki.

W czasie zaznajamiania się z metodą Haldane'a i Priestley'a wykonano w spoczynku szereg oznaczeń powietrza pęcherzykowego; wyniki tych oznaczeń podajemy w tabeli I. Z zestawienia liczb widać, że procentowe zawartości CO₂ w kolejnych próbkach, pobranych po ukończonym wydechu bardziej się różniły, niż w próbkach, pobranych po ukończonym wdechu. Z tego względu w czasie doświadczeń pobierano próbki po ukończonym wdechu.

Tabela I.

Zawartość CO₂ w powietrzu pęcherzykowem, pobranem po wdechu i po wydechu.

Contenu de CO₂ dans l'air alvéolaire, prélevé après l'inspiration et après l'expiration.

Data Date	% CO ₂ w próbkach, pobranych po ukończonym wdechu % CO ₂ dans les échantillons prélevés après l'inspiration			Maksymalne różnice rezultatów <i>Le plus grandes différences des résultats</i>	% CO ₂ w próbkach, pobranych po ukończonym wydechu % CO ₂ dans les échantillons prélevés après l'expiration			Maksymalne różnice rezultatów <i>Les plus grandes différences des résultats</i>
	Próbka Échantillon				Próbka Échantillon			
	I	II	III		I	II		
23.II.35	5.31	5.32	5.29	0.03	—	—	—	
24.II.35	5.05	5.10	5.06	0.05	5.67	5.55	0.12	
26.II.35	—	—	—	—	5.69	5.51	0.18	

Zwracano przytem uwagę, żeby osobnik przed pobraniem próbki możliwie naturalnie oddychał. Po wykonaniu normalnego wdechu, następnie → głębokiego wydechu, osobnik oddech wstrzymywał na 2—4"; w tym czasie

pobierano ostatnią porcję powietrza wydechowego, łącząc rurkę kapilarną wentyla wydechowego maski z naczyniem próżniowym. W chwili wykonywania głębokiego wydechu osobnik szczelnie zamykał otwór wentyla wdechowego, przykładając otwartą dłoń. Zabieg ten był konieczny, ponieważ w czasie zatrzymania oddechu wentylator, wsysający powietrze wydechowe do gazomierza (Białaszczyk '33), powodował otwieranie się wentyla wdechowego; wskutek tego powietrze pęcherzykowe mieszało się z powietrzem atmosferycznym.

Przestrzeń martwą (M) obliczano ze wzoru Bohra:

$$M = E \frac{a - e}{a - i},$$

gdzie a oznacza % O_2 albo % CO_2 w powietrzu pęcherzykowym, e — % O_2 albo % CO_2 w powietrzu wydechowym, i — % O_2 albo % CO_2 w powietrzu wdechowym, E — głębokość oddechu. Wdychano powietrze atmosferyczne; skład powietrza pęcherzykowego i wydechowego oznaczano zapomożą aparatu Haldana'a.

Wielkość oddechu obliczano w sposób następujący. Objętość powietrza wydechowego w ciągu 0.5' dzielono przez liczbę oddechów, wykonanych w tymże czasie. Tę objętość sprowadzano do stanu, odpowiadającego temperaturze 32° i całkowitemu nasyceniu parą wodną. Opierano się przytem na badaniach Liljestranda i Sahlstedta ('25) nad temperaturą i wilgotnością powietrza wydechowego.

Wobec niemożności synchronizacji pomiarów poszczególnych wielkości badanych, korzystano z interpolacji, przeprowadzanej metodą wykreślną.

Zbadano, czy zatrzymanie oddechu, stosowane przy pobieraniu powietrza pęcherzykowego, wpływa na zmiany wielkości oddechu w czasie pracy i w okresie wypoczynkowym. W tym celu przeprowadzono doświadczenie bez pobierania powietrza pęcherzykowego, następnie — po półgodzinnym odpoczynku w pozycji siedzącej — właściwe doświadczenie. Liczby, uzyskane z tych doświadczeń, zebrano w tabeli II. Zmiany wielkości oddechu, odpowiadające doświadczeniom, przeprowadzonym z pobraniem próbek powietrza pęcherzykowego i bez pobrania tych próbek, wykazują pewne różnice. Ponieważ charakter tych różnic jest nieregularny, spowodowane one zostały przypuszczalnie przez wpływy przypadkowe, nie zaś przez zatrzymanie oddechu.

Wielkość przestrzeni martwej, obliczona w sposób wyżej podany, obciążona jest pewnym błędem. Celem oznaczenia średniej wartości tego błędu porównano dziewiętnaście pomiarów przestrzeni martwej, wykonanych w spoczynku na tym samym osobniku w przerwach kilkudniowych. Wychodząc z założenia, że wielkość przestrzeni martwej w spoczynku dla tego samego osobnika jest wielkością stałą, znaleziono, że średni błąd względny określenia przestrzeni martwej z procentowych zawartości O_2 wynosi 9%, a z procentowych zawartości CO_2 — 7%.

Tabela II.

Wielkość oddechu podczas pracy i w czasie wypoczynku z pobieraniem i bez pobierania próbek powietrza pęcherzykowego.
Volume d'une respiration pendant le travail et pendant le repos consécutif dans les expériences avec et sans prélèvement de l'air alvéolaire.

Czas <i>Temps</i>	Doświadczenie XXII <i>Expérience</i>		Doświadczenie XXIII <i>Expérience</i>		Doświadczenie XXIV <i>Expérience</i>		Doświadczenie XXV <i>Expérience</i>	
	Wielkość oddechu <i>Volume d'une respiration</i>		Wielkość oddechu <i>Volume d'une respiration</i>		Wielkość oddechu <i>Volume d'une respiration</i>		Wielkość oddechu <i>Volume d'une respiration</i>	
	Bez pobrania pow. pęcherzyk. Sans prélèvement de l'air alvéolaire	Z pobraniem pow. pęcherzyk. Avec prélèvement de l'air alvéolaire	Bez pobrania pow. pęcherzyk. Sans prélèvement de l'air alvéolaire	Z pobraniem pow. pęcherzyk. Avec prélèvement de l'air alvéolaire	Bez pobrania pow. pęcherzyk. Sans prélèvement de l'air alvéolaire	Z pobraniem pow. pęcherzyk. Avec prélèvement de l'air alvéolaire	Bez pobrania pow. pęcherzyk. Sans prélèvement de l'air alvéolaire	Z pobraniem pow. pęcherzyk. Avec prélèvement de l'air alvéolaire
0'	2 498	2 032	2 196	2 047	1 829	1 772	1 793	1 807
0.5'	1 834	1 785	1 773	1 482	1 540	1 512	1 467	1 724
1.0'	1 355	1 356	1 385	1 140	1 255	1 199	1 117	1 580
1.5'	1 152	955	1 094	900	1 038	1 065	856	1 355
2.0'	1 005	785	889	661	799	965	774	1 171
2.5'	1 073	695	644	588	759	896	779	877
3.0'	1 044	689	670	707	833	702	774	669
3.5'	728	604	556	559	778	685	796	606
4.0'	715	508	527	529	650	759	682	533
4.5'	715	475	527	529	536	571	562	533
5.0'	683	582	527	529	536	531	630	554
5.5'	675	678	527	529	536	531	688	577
6.0'	—	508	587	529	—	531	—	519

C z ę ś ć d o ś w i a d c z a l n a .

1. Zachowanie się przestrzeni martwej dróg oddechowych w okresie początkowym pracy.

W serii doświadczeń, dotyczących tego okresu, stosowano natężenie pracy 720 mkg/1'. W ciągu trzech minut od rozpoczęcia pracy pobierano 5 próbek powietrza wydechowego i tyleż próbek powietrza pęcherzykowego.

W tabelach protokółarnych (por. tab. VIII — X) zebrano dane liczbowe, uzyskane z narysu kimograficznego (czas pobierania próbek, wentylacja, frekwencja oddechów) oraz z oznaczeń zapomocą eudjomietru (procentowa zawartość CO_2 i O_2 w próbkach powietrza). Na podstawie tych danych obliczono pozostałe wielkości, potrzebne do dalszych rozważań.

Jako przykład zestawienia całego materiału liczbowego jednego doświadczenia może służyć tabela III. Wartości % CO_2 i % O_2 w powietrzu wydechowym oznaczone cyframi tłustymi, odpowiadają liczbom, podanym w tabelach protokółarnych. Na podstawie tych liczb metodą interpolacji graficznej znaleziono pozostałe wartości. W podobny sposób otrzymano wartości % CO_2 i % O_2 w powietrzu pęcherzykowym. Sposób obliczenia wielkości oddechu został podany w części metodycznej niniejszej pracy. Wielkość przestrzeni martwej, wyznaczonej ze wzoru $B o h r'a$, wyrażono w cm^3 powietrza, nasyconego parą wodną w temp. 32° .

Przestrzeń martwa maski, używanej w doświadczeniach, wynosiła około 80 cm^3 ; pomiar ten został wykonany bezpośrednio zapomocą plasteliny. Liczby powyższej nie odjęto jednak od otrzymanych wartości dla całkowitej przestrzeni martwej z następujących względów. *D a u t r e b a n d e* i *D e l c o u r t - B e r n a r d* ('28) wykazali, że przy oznaczaniu przestrzeni martwej dodatkowej (maski) zapomocą metody fizjologicznej otrzymuje się mniejsze wartości, niż przy bezpośrednim jej oznaczaniu, poza to wartości te zależą między innymi od sposobu założenia maski. Wyznaczanie jednak przestrzeni martwej maski przed każdym doświadczeniem utrudniałoby przeprowadzenie doświadczeń. Ponieważ w niniejszej pracy chodziło głównie o zbadanie przebiegu z *m i a n* przestrzeni martwej, nie zaś

Tabela III.

Przebieg wymiany oddechowej i zmiany wielkości przestrzeni martwej w okresie początkowym pracy.

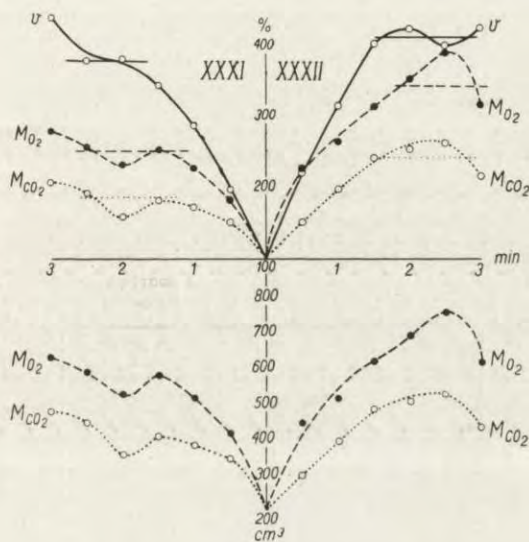
*Échanges gazeux et variations de la valeur de l'espace mort pendant la période initiale du travail.*Doświadczenie XXXII dn. 15.V.35 — *Expérience XXXII 15.V.35*

Czas od początku pracy Temps écoulé depuis le commencement du travail min.	Skład powietrza wydechowego <i>Composition de l'air expiré</i>		Skład powietrza pęcherzykowego <i>Composition de l'air alvéolaire</i>		Intensywność wymiany gazowej <i>Intensité des échanges gazeux</i>		Frekwencja oddechów Nombre de respirations na 1'	Wielkość oddechu (32° nas. para wodna) Volume d'une respiration (32° la vapeur d'eau)	Przeziorność z O ₂ Calculé d'après O ₂	Przeziorność z CO ₂ Calculé d'après CO ₂	Przeziorność martwa wraz z maską <i>Espace mort avec le masque</i>	Przeziorność martwa z O ₂ <i>Espace mort de O₂</i>		Przeziorność martwa z CO ₂ <i>Espace mort de CO₂</i>	
	% CO ₂	% O ₂	% CO ₂	% O ₂	O ₂ cm ³ /1'	Wentylacja 1/1'						Obliczona z O ₂ Calculé	Obliczona z CO ₂ Calculé	Volume d'une respiration	Przeziorność martwa z O ₂ <i>Espace mort de O₂</i>
0	3.24	16.95	5.59	14.24	262	6.41	15.2	474	194	199	—	0.41	0.42		
0.50	4.11	16.06	6.18	11.25	700	14.04	19.0	876	438	298	—	0.50	0.34		
0.75	—	—	6.44	10.62	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
1.00	4.68	14.94	6.72	10.86	1 250	19.98	17.0	1 247	511	387	—	0.41	0.31		
1.25	—	—	6.97	11.11	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
1.50	5.07	14.96	7.17	11.27	1 562	25.65	18.0	1 600	608	480	—	0.38	0.30		
2.00	5.39	15.05	7.44	11.48	1 602	27.03	18.0	1 786	678	500	—	0.38	0.28		
2.25	—	—	7.60	11.55	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
2.50	5.35	15.59	7.56	11.70	1 338	25.52	16.0	1 791	752	519	—	0.42	0.29		
2.88	—	—	7.47	12.03	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
3.00	5.80	15.11	7.60	12.15	1 562	26.17	16.0	1 780	605	427	—	0.34	0.24		
3.50	—	—	7.92	11.17	—	—	—	—	—	—	—	—	—		

o wyznaczenie bezwzględnych wartości, brak znajomości przestrzeni martwej maski nie może wpłynąć na wyprowadzenie ostatecznych wniosków.

Sposób otrzymywania pozostałych danych liczbowych, umieszczonych w tabeli III, nie wymaga osobnego omówienia.

Przy ustalaniu czasu trwania okresu początkowego pracy oprzemy się na badaniach Szwejkońskiej ('35a); zgodnie z podanymi w tej pracy wynikami przyjmujemy, że okres początkowy pracy kończy się w momencie przecięcia się krzywej wentylacji z prostą, równoległą do osi czasu, a odpowiadającą średniej wartości wentylacji w okresie głównym. Tą samą metodą określimy moment, w którym przestrzeń martwa osiąga wielkość, odpowiadającą wartości średniej okresu głównego.



Rys. 1. Zmiany wentylacji i przestrzeni martwej w okresie początkowym pracy. Oś odciętych — czas w minutach od chwili rozpoczęcia pracy. Oś rzędnych: górna część rysunku — wentylacja i przestrzeń martwa w procentach wartości spoczynkowych; dolna część rysunku — przestrzeń martwa w wartościach bezwzględnych. Znaczenie krzywych: V — wentylacja; M_{O_2} — przestrzeń martwa, obliczona z O_2 ; M_{CO_2} — przestrzeń martwa, obliczona z CO_2 .

Fig. 1. Variations de la ventilation et de l'espace mort pendant la période initiale du travail. En abscisses — le temps en minutes à partir du commencement du travail. En ordonnées: la partie supérieure de la figure — la ventilation et l'espace mort, exprimés en pourcentages des valeurs de repos; la partie inférieure de la figure — l'espace mort, exprimé en valeurs absolues. Signification des courbes: V — ventilation; M_{O_2} — espace mort, calculé d'après O_2 ; M_{CO_2} — espace mort, calculé d'après CO_2 .

Rys. 1 został wykonany na podstawie doświadczeń XXXI i XXXII (por. tab. III). W górnej części rysunku wykreślono krzywe wentylacji (linje ciągłe oznaczone przez V), oraz krzywe przestrzeni martwej, obliczonej z O_2 (linje przerywane oznaczone przez Mo_2) i z CO_2 (linje kropkowane oznaczone przez Mco_2); do sporządzenia tych wykresów posłużyły liczby, wyrażające wielkości w procentach wartości spoczynkowych. Linje proste, równoległe do osi czasu, odpowiadają wartościom średnim okresu głównego. W dolnej części rysunku krzywe wyznaczają przestrzeń martwą w wielkościach bezwzględnych.

Porównyując przebieg krzywych V, Mco_2 i Mo_2 w górnej części rysunku wypadnie stwierdzić, że krzywa oznaczona przez V w stosunku do pozostałych biegnie bardziej stromo ku górze. Również krzywa Mo_2 w pierwszej minucie ma przebieg bardziej stromy, niż krzywa Mco_2 ; w następnych jednak minutach ogólny charakter tych dwóch krzywych jest podobny.

W dośw. XXXII największa wartość przestrzeni martwej, obliczonej z O_2 , wynosi 750 cm^3 ; największa wartość przestrzeni martwej, obliczonej z CO_2 — 520 cm^3 . W dośw. XXXI odpowiednie wartości wynoszą 625 cm^3 i 470 cm^3 .

Tabela IV.

Czas, po którego upływie wentylacja i przestrzeń martwa osiągną „steady state”.
Temps nécessaire pour que la ventilation et l'espace mort atteignent „steady state”.

Nr. dośw. <i>Nr. expérience</i>	Wentylacja <i>Ventilation</i> min.	Przestrzeń martwa obliczona z O_2 <i>Espace mort calculé d'après O_2</i> min.	Przestrzeń martwa obliczona z CO_2 <i>Espace mort calculé d'après CO_2</i> min.
XXX	2.00	1.50	1.25
XXXI	2.00	1.50	1.50
XXXII	1.75	1.75	1.50

Tabela IV zawiera prócz wyników omawianych dośw. XXXI i XXXII również dane dośw. XXX. Jak wynika z tej tabeli i podanych krzywych (rys. 1), osiągnięcie „steady state” przez wentylację oraz przestrzeń martwą, obliczoną z O_2 i CO_2 , następuje mniej więcej jednocześnie. Największa różnica

czasów osiągnięcia „steady state” przez te trzy wielkości zaszła w dośw. XXX (0.75’); w dośw. XXXI różnica ta wynosiła tylko 0.5’, a w dośw. XXXII — 0.25’.

2. Zachowanie się przestrzeni martwej dróg oddechowych w okresie wypoczynku po pracy.

Doświadczenia, dotyczące tego okresu, miały na celu przeprowadzenie pomiarów przestrzeni martwej w czasie, bezpośrednio następującym po pracy. W celu ujednostajnienia doświadczeń ograniczono się do badania okresu wypoczynkowego po tego rodzaju pracy, w czasie której został osiągnięty „steady state”. Z tego względu przy natężeniu pracy 720 mkg/1’ i 1080 mkg/1’, czas pracy wynosił 4 minuty. Wprawdzie z badań S z w e j k o w s k i e j (’35b) nad wpływem intensywności pracy na czas trwania okresu początkowego wynika, że przy stosowanej przez nas intensywności pracy już po 3-ch minutach okres początkowy zostaje ukończony. Czas ten jednak przedłużono do 4-ch minut, by móc pobrać próbki powietrza pęcherzykowego i wydechowego z okresu „steady state”. Po przerwaniu pracy osobnik badany pozostawał w pozycji siedzącej na cykloergomierzu przez 6 minut; w tym czasie pobrano 5 próbek powietrza wydechowego i tyleż próbek powietrza pęcherzykowego.

Dane liczbowe, uzyskane bezpośrednio z doświadczenia, zebrano w tabelach protokółarnych (tab. XI — XVII).

Jako przykład zestawienia całego materiału liczbowego jednego doświadczenia omawianej serji służyć może tabela V. Sposób obliczania poszczególnych wielkości został podany w pierwszej części niniejszej pracy.

Z siedmiu doświadczeń wybrano dwa najbardziej charakterystyczne, na których podstawie wykonano rys. 2. Rysunek wyobraża zmiany wielkości przestrzeni martwej oraz zużycia tlenu (linja oznaczona przez O_2) w okresie wypoczynku. Przestrzeń martwą, obliczoną z procentowych zawartości O_2 , wyznacza linja oznaczona przez Mo_2 , z procentowych zaś zawartości CO_2 — linja oznaczona przez Mco_2 . Prawa strona rysunku przedstawia wyniki doświadczenia XXII, w którym intensywność pracy wynosiła 720 mkg/1’; lewa strona — doświadczenia XXIX, w którym została zastosowana praca o natężeniu 1080 mkg/1’. Linje

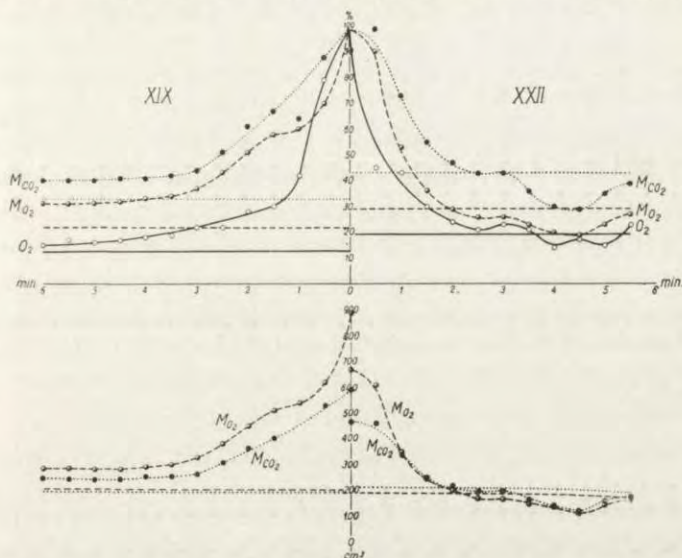
Tabela V.

Przebieg wymiany oddechowej i zmiany wielkości przestrzeni martwej w okresie wypoczynku.
Échanges gazeux et variations de la valeur de l'espace mort pendant le repos qui suit le travail.

Czas od chwili przewartania pracy Temps écoulé depuis l'inter- ruption du travail	Skład powietrza wydechowego Composition de l'air expiré		Skład powietrza pęcherzykowego Composition de l'air alvéolaire		Intensywność wymiany gazowej Intensité des échanges gazeux		Wielkość oddechu (32°, nas. parą wodną) Volume d'une respira- tion (32°, l'air saturé de la vapeur d'eau	Przebieg martwa wraz z maską Espace mort avec le masque		Przebieg martwa z CO ₂ Volume d'une respiration	Wielkość oddechu Espace mort de O ₂	
	% CO ₂	% O ₂	% CO ₂	% O ₂	O ₂ cm ³ /l'	Wentylacja Ventilation l/l'		Frekwencja oddechów Nombre de respirations par minute	Objętość z O ₂ Calculé d'après O ₂			Objętość z CO ₂ Calculé d'après CO ₂
0	3.46	16.70	5.53	14.29	312	7.19	15.2	534	198	203	0.37	0.38
0.13	5.57	15.09	7.23	12.25	1 678	28.79	16.0	2 032	670	467	0.33	0.28
0.25	6.19	14.47	7.62	12.86	—	—	—	—	—	—	—	—
0.50	5.19	16.60	7.05	14.40	762	18.96	16.0	1 785	606	464	0.34	0.26
0.75	—	—	6.55	15.16	726	19.20	16.0	1 356	354	339	0.26	0.25
1.00	4.76	16.88	6.36	15.45	500	12.52	16.0	955	239	258	0.25	0.27
1.50	4.42	17.02	6.04	15.73	402	11.12	16.0	785	196	220	0.25	0.28
2.00	4.22	17.12	5.84	15.87	354	9.84	16.0	695	174	202	0.25	0.29
2.50	4.08	17.17	5.70	15.95	394	10.98	18.0	689	172	200	0.25	0.29
3.00	4.00	17.20	5.60	15.98	346	9.63	18.0	604	151	169	0.25	0.28
3.50	3.95	17.20	5.50	15.96	—	—	—	—	—	—	—	—
3.88	3.93	17.17	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4.00	3.92	17.18	5.43	15.88	228	6.30	16.0	508	132	142	0.26	0.28
4.50	3.92	17.13	5.40	15.78	278	7.56	16.0	475	124	133	0.26	0.28
5.00	3.93	17.04	5.40	15.64	354	6.18	16.0	582	157	163	0.27	0.28
5.50	3.95	16.92	5.45	15.48	378	9.60	16.0	678	183	190	0.27	0.28
5.88	4.00	16.80	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
6.00	4.02	17.77	5.52	15.32	—	7.20	16.0	508	132	142	0.26	0.23
6.13	—	—	5.54	15.31	—	—	—	—	—	—	—	—

Doświadczenie XXII dn. 18.II.35 r. — Expérience XXII 18.II.35

poziome oznaczają wartości spoczynkowe. W górnej części rysunku wykreślono krzywe na podstawie wielkości, wyrażonych w procentach wartości początkowych, stwierdzonych w czasie pracy; w dolnej części — na podstawie wartości bezwzględnych.



Rys. 2. Zmiany zużycia tlenu i przestrzeni martwej w okresie wypoczynku po pracy. Oś odciętych — czas w minutach od chwili przerwania pracy. Oś rzędnych — zużycie tlenu i wielkość przestrzeni martwej w procentach wartości, stwierdzonych podczas pracy (górna część rysunku), oraz przestrzeń martwa, wyrażona w wartościach bezwzględnych (dolna część rysunku). Znaczenie krzywych: O_2 — zużycie tlenu; M_{CO_2} — przestrzeń martwa, obliczona z CO_2 ; M_{O_2} — przestrzeń martwa, obliczona z O_2 .

Fig. 2. Variations de la consommation d'oxygène et de l'espace mort pendant le repos qui suit le travail. En abscisses — le temps en minutes à partir de l'interruption du travail. En ordonnées: la partie supérieure de la figure — la consommation d'oxygène et l'espace mort en pourcentages des valeurs, établies pendant le travail; la partie inférieure de la figure — l'espace mort, exprimé en valeurs absolues. Signification des courbes: O_2 — consommation d'oxygène; M_{CO_2} — espace mort, calculé d'après CO_2 ; M_{O_2} — espace mort, calculé d'après O_2 .

Jak z tych wykresów wynika, w dośw. XXII przestrzeń martwa, obliczona z O_2 , osiąga najwyższą swą wartość 683 cm^3 , w dośw. XXIX — 895 cm^3 ; odpowiednie wielkości dla przestrzeni martwej, obliczonej z CO_2 , wynoszą 467 cm^3 i 590 cm^3 .

Przejdziemy obecnie do opisu poszczególnych krzywych.

Na rys. 2 zostały umieszczone krzywe zużycia tlenu, ponieważ według Hill'a, Long'a i Lupton'a ('25) krzywe te dobrze charakteryzują okres wypoczynku, którego przebieg zależy głównie od intensywności pracy. Wyżej wymienieni autorowie wykazali, że po mniejszych wysiłkach krzywa zużycia

tlenu już po kilku minutach osiąga wartość spoczynkową; przyjmują oni, że z tą chwilą okres wypoczynku został ukończony. Po dużych zaś wysiłkach zużycie tlenu osiąga wprawdzie w kilka minut po pracy wartość stałą, lecz jest ona wyższa od wartości spoczynkowej wskutek zwiększonej przemiany podstawowej; tu miarą ukończenia I-go okresu wypoczynku jest uzyskanie wartości stałej; II zaś okres wypoczynku, w czasie którego zużycie tlenu wraca do wartości spoczynkowej, trwa czas dłuższy.

Jak widać na rysunku, mamy tu do czynienia z obydwoimi opisanymi przez Hill'a, Long'a i Lupton'a przypadkami. Po pracy o mniejszym natężeniu (prawa strona rysunku) okres wypoczynku trwa 2.5', gdyż w tym czasie zużycie tlenu osiąga, praktycznie biorąc, wartość spoczynkową. Po pracy zaś o większym natężeniu (lewa strona rysunku), ustalenie się wartości zużycia tlenu po 4' wskazuje na ukończenie I-go okresu wypoczynku.

Tabela VI.

Czas, po którego upływie zużycie tlenu i przestrzeń martwa osiągają wartości bądź spoczynkowe (intens. pracy 720 mkg/1'), bądź stałe (intens. pracy 1080 mkg/1').

Temps nécessaire pour que la consommation d'oxygène et l'espace mort atteignent des valeurs correspondant au repos (intensité du travail 720 mkg/1'), ou des valeurs constantes (intensité du travail 1080 mkg/1').

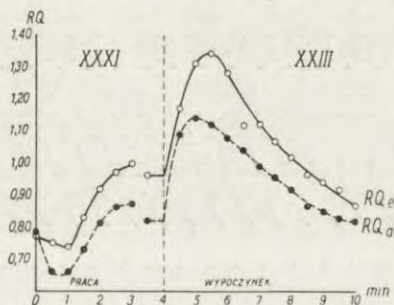
Nr. dośw. <i>Nr. expérience</i>	Intensywność pracy <i>Intensité du travail</i> mkg/1'	Zużycie O ₂ <i>Consommation de O₂</i> min.	Przeźren martwa obliczona z O ₂ <i>Espace mort calculé de O₂</i> min.	Przeźren martwa obliczona z CO ₂ <i>Espace mort calculé de CO₂</i> min.
XXII	720	2.50	2.00	2.50
XXIII	720	2.50	2.50	2.00
XXIV	720	3.00	(5.00)	3.00
XXV	720	2.50	3.50	3.00
XXVII	1080	4.00	5.00	4.50
XXVIII	1080	4.00	4.50	4.50
XXIX	1080	4.00	4.00	4.00

Porównyując przebieg krzywych przestrzeni martwej z krzywą zużycia tlenu, daje się zauważyć, że spadek ostatniej krzywej jest w obydwoi rozpatrywanych przypadkach bardziej gwałtowny. Jednakże osiągnięcie przez wszystkie trzy krzywe w jednym przypadku (dośw. XXII) wartości spoczynkowej, w drugim (dośw. XXIX) wartości stałej, następuje — w granicach błędów doświadczalnych —

jednocześnie. W dośw. XXII różnica czasów wynosi $\sim 0.5'$, w dośw. XXIX $\sim 0'$. Odpowiednie wyniki pozostałych doświadczeń podano w tabeli VI. W dośw. XXIII i XXVIII zgodność omawianych wielkości zawarta jest w tych samych granicach $0.5'$; w dośw. XXV i XXVII różnice sięgają $1.0'$. Wynik dośw. XXIV, dotyczący czasu, w którym przestrzeń martwa, obliczona z O_2 , osiąga wartość spoczynkową, wyłączyliśmy z rozważań, jako zbyt odbiegający od pozostałych wyników.

3. Ilorazy oddechowe w powietrzu wydechowem i pęcherzykowym na początku pracy i w okresie wypoczynku.

W części wstępnej przytoczone zostały badania Haldana'a ('15, '22), z których wynikało, że w czasie pracy iloraz oddechowy, obliczony z powietrza wydechowego, jest znacznie wyższy, niż iloraz, obliczony z powietrza pęcherzykowego. Pozostał natomiast niewyświetlony stosunek tych dwóch wielkości w okresie początkowym pracy i w okresie wypoczynku. Z przeprowadzonych przez nas badań, które dotyczą tych okresów, dają się obliczyć wspomniane ilorazy; w celu ich porównania wykreślono rys. 3. Linja oznaczona przez RQ_e wskazuje warto-



Rys. 3. Zmiany ilorazów oddechowych w okresie początkowym pracy i w okresie wypoczynku. Oś odciętych — czas w minutach od chwili rozpoczęcia pracy. Oś rzędnych — iloraz oddechowy. Znaczenie krzywych: RQ_e — iloraz oddechowy w powietrzu wydechowem; RQ_a — iloraz oddechowy w powietrzu pęcherzykowym.

Fig. 3. Variations des quotients respiratoires pendant la période initiale du travail et pendant le repos qui le suit. En l'abscisses — le temps en minutes à partir du commencement du travail. En ordonnées — le quotient respiratoire. Signification des courbes: RQ_e — quotient respiratoire dans l'air expiré; RQ_a — quotient respiratoire dans l'air alvéolaire.

ści ilorazu oddechowego w powietrzu wydechowem; linja oznaczona przez RQ_a — ilorazu oddechowego w powietrzu pęcherzykowym. Linja pionowa przerywana oddziela okres pracy od

okresu wypoczynku. Okres pracy do 3-ej minuty włącznie został wykreślony na podstawie doświadczenia XXXI; ostatnie dwa punkty w tym okresie oraz okres wypoczynku odnoszą się do doświadczenia XXIII.

Otrzymane przez nas zmiany ilorazu oddechowego, obliczonego z powietrza wydechowego, w okresie początkowym pracy pozostają w zgodzie z badaniami z tego zakresu Szwejkowskiej ('35b); zmiany zaś tegoż ilorazu w okresie wypoczynku nie różnią się zasadniczo od wyników, otrzymanych przez Hill'a, Long'a i Lupton'a ('25).

Pozostaje nam porównać krzywe RQe i RQa. W spoczynku (czas 0) odpowiednie wartości wynoszą 0.77 i 0.79, różnica między nimi jest więc bardzo nieznaczna; w pierwszej minucie różnica gwałtownie wzrasta i od tej chwili przebieg krzywych jest prawie równoległy; największe różnice dają się zauważyć w czasie 5.5' (1.5' od chwili przerwania pracy), gdzie odpowiednie wartości wynoszą 1.12 i 1.34.

Zmiany ilorazów w pozostałych doświadczeniach (tab. VII) mają podobny charakter, jak w doświadczeniach, przedstawionych na rys. 3. We wszystkich doświadczeniach różnica między RQ w powietrzu wydechowym i RQ w powietrzu pęcherzykowym osiąga największą wartość po upływie około 1.5' od chwili przerwania pracy. W tymże czasie wartość obydwóch ilorazów jest najwyższa.

Jak zaznaczono we wstępie, według Haldane'a ('27) tem większe zachodzą różnice w wartościach przestrzeni martwej, obliczonej z O_2 i obliczonej z CO_2 , im bardziej różnią się od siebie wartości RQe i RQa. Wynikałoby stąd, że charakterystyka różnic odpowiednich wartości dwóch krzywych, przedstawionych na rys. 3 powinna się odnosić również do różnic wartości przestrzeni martwej, obliczonej dwoma sposobami (z O_2 i z CO_2). W celu zbadania tej zależności porównamy krzywe na rys. 1 i rys. 2, wykreślone na podstawie wartości bezwzględnych przestrzeni martwej, z krzywymi rys. 3.

Na rys. 1 zarówno w dośw. XXXI jak i w dośw. XXXII krzywe M_{CO_2} i M_{O_2} wychodzą z jednego punktu (spoczynek); w ciągu pierwszej minuty pracy różnica wartości obu krzywych wzrasta i odtąd przebieg ich jest prawie równoległy. Stwierdza-

Tabela VII.

Iloraz oddechowy, obliczony z powietrza wydechowego (A) i obliczony z powietrza pęcherzykowego (B) w okresie początkowym i w okresie wypoczynku.

Quotient respiratoire, calculé d'après l'air alvéolaire (B) pendant la période initiale du travail et pendant le repos qui le suit.

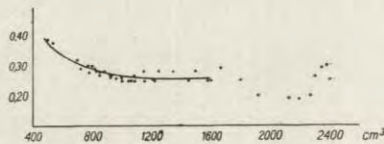
Czas od początku pracy Temps écoulé depuis le commencement du travail min.	RQ		RQ		RQ		RQ		RQ		RQ		RQ	
	Dośw. XXX Expérience XXX		Dośw. XXXI Expérience XXXI		Dośw. XXXII Expérience XXXII		Dośw. XXV Expérience XXV		Dośw. XXVII Expérience XXVII		Dośw. XXVIII Expérience XXVIII		Dośw. XXIX Expérience XXIX	
	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
0	0.77	0.82	0.77	0.79	0.78	0.76	0.99	0.99	0.91	0.99	1.11	0.94	1.13	0.95
0.5	0.75	0.67	0.75	0.66	0.81	0.53	1.20	1.20	1.15	1.27	1.23	1.08	1.21	1.15
1.0	0.83	0.70	0.74	0.66	0.73	0.64	1.42	1.17	1.13	1.49	1.31	1.31	1.57	1.36
1.5	0.86	0.74	0.83	0.73	0.82	0.73	1.48	1.22	1.39	1.53	1.31	1.31	1.61	1.40
2.0	0.86	0.76	0.92	0.81	0.89	0.78	1.45	1.21	1.35	1.52	1.51	1.30	1.54	1.38
2.5	0.93	0.76	0.97	0.86	1.02	0.83	1.38	1.13	1.44	1.44	1.43	1.29	1.48	1.34
3.0	0.96	0.78	1.00	0.87	1.00	0.87	1.31	1.06	1.26	1.41	1.43	1.26	1.42	1.29
Czas od chwili przerwy pracy Temps écoulé depuis l'interruption du travail min.	RQ		RQ		RQ		RQ		RQ		RQ		RQ	
	Dośw. XXIII Expérience XXIII		Dośw. XXIV Expérience XXIV		Dośw. XXV Expérience XXV		Dośw. XXVII Expérience XXVII		Dośw. XXVIII Expérience XXVIII		Dośw. XXIX Expérience XXIX			
	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
0	0.96	0.82	0.98	0.90	0.99	0.89	0.99	0.90	0.91	0.99	1.11	0.94	1.13	0.95
0.5	1.17	1.09	1.15	1.02	1.20	1.18	1.20	1.18	1.15	1.27	1.23	1.08	1.21	1.15
1.0	1.31	1.14	1.34	1.17	1.42	1.20	1.42	1.20	1.27	1.49	1.31	1.31	1.57	1.36
1.5	1.34	1.12	1.45	1.22	1.48	1.28	1.48	1.28	1.59	1.53	1.31	1.31	1.61	1.40
2.0	1.28	1.08	1.41	1.21	1.45	1.23	1.45	1.23	1.52	1.35	1.51	1.30	1.54	1.38
2.5	1.12	1.04	1.32	1.13	1.38	1.19	1.38	1.19	1.44	1.44	1.43	1.29	1.48	1.34
3.0	1.12	0.99	1.22	1.06	1.31	1.14	1.31	1.14	1.41	1.26	1.43	1.26	1.42	1.29
3.5	1.07	0.96	1.13	1.01	1.24	1.08	1.24	1.08	1.36	1.23	1.38	1.22	1.37	1.25
4.0	1.02	0.92	1.03	0.96	1.18	1.05	1.18	1.05	1.32	1.19	1.34	1.19	1.32	1.22
4.5	0.97	0.87	1.00	0.93	1.10	1.00	1.10	1.00	1.26	1.16	1.27	1.13	1.28	1.18
5.0	0.94	0.85	0.96	0.90	1.03	0.96	1.03	0.96	1.21	1.16	1.20	1.07	1.24	1.15
5.5	0.92	0.83	0.91	0.87	0.96	0.92	0.96	0.92	1.15	1.16	1.12	1.02	1.21	1.13
6.0	0.89	0.82	0.87	0.86	0.89	0.89	0.89	0.89	1.11	1.17	1.03	0.96	1.18	1.10

my tu podobieństwo do przebiegu tych części krzywych RQe i RQa z rys. 3, które się odnoszą do okresu początkowego pracy.

Brak natomiast omawianej odpowiedniości w okresie wypoczynku. Na rys. 2 największa różnica wartości krzywych M_{CO_2} i M_{O_2} przypada na chwilę zakończenia pracy, nie zaś po upływie 1.5' od chwili przzerwania pracy, jak to miało miejsce dla odcinków krzywych RQe i RQa (rys. 3), odpowiadających okresowi wypoczynku.

4. Stosunek przestrzeni martwej do głębokości oddechu podczas pracy i w czasie wypoczynku.

Ostatnie badania z tego zakresu zostały przeprowadzone przez Krzywanka i Steuber ('22, p. część wstępna); dotyczyły one jednak pomiarów, wykonanych w spoczynku. Wyniki naszych badań, przeprowadzonych podczas pracy i w okresie wypoczynku, podajemy na rys. 4 i rys. 5.



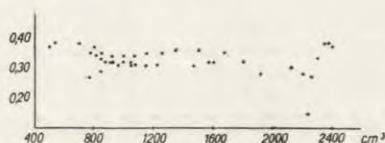
Rys. 4. Zmiany stosunku przestrzeni martwej, obliczonej z CO_2 , do wielkości oddechu. Oś ordynatów — wielkość oddechu w cm^3 . Oś rzędnych — stosunek przestrzeni martwej do wielkości oddechu.

Fig. 4. Variations du rapport de l'espace mort au volume d'une respiration (le premier étant calculé d'après CO_2). En abscisses — volume d'une respiration en cm^3 . En ordonnées — rapport de l'espace mort au volume d'une respiration.

Na rys. 4 poszczególne punkty odpowiadają stosunkowi przestrzeni martwej, obliczonej z CO_2 , do głębokości oddechu; na rys. 5 — stosunkowi przestrzeni martwej, obliczonej z O_2 , do głębokości oddechu. Obydwa rysunki zostały wykonane na podstawie 3-ch doświadczeń: XXVII, XXVIII i XXIX.

Na rys. 4 — w granicach głębokości oddechu od 500 cm^3 do 1600 cm^3 — można ustalić przebieg krzywej z dużą dokładnością; dla większych głębokości oddechu przebieg krzywej staje się niepewny, gdyż z jednej strony punktów jest mniej, a z drugiej wyniki poszczególnych doświadczeń bardziej się różnią.

Stosunek przestrzeni martwej do wielkości oddechu (rys. 4) wynosi 0.39 dla wielkości oddechu 500 cm^3 ; dla większych głębokości oddechu stosunek ten szybko się zmniejsza i dla głębokości oddechu 800 cm^3 wynosi już tylko 0.29. Dalsze opadanie krzywej jest bardziej łagodne.



Rys. 5. Stosunek przestrzeni martwej, obliczonej z O_2 , do wielkości oddechu. Oś odciętych — wielkość oddechu w cm^3 . Oś rzędnych — stosunek przestrzeni martwej do wielkości oddechu.

Fig. 5. Rapport de l'espace mort au volume d'une respiration (le premier étant calculé d'après O_2). En abscisses — volume d'une respiration en cm^3 . En ordonnées — rapport de l'espace mort au volume d'une respiration.

Znaczne rozproszenie punktów na rys. 5 utrudnia poprowadzenie krzywej.

Dyskusja.

Wyniki wyżej podane uzyskano na podstawie doświadczeń, przeprowadzonych na jednym osobniku. Wobec dużych różnic indywidualnych, występujących u poszczególnych osobników, należałoby sprawdzić te wyniki na większej liczbie osób.

Badając okres wypoczynkowy po pracy o większym natężeniu, rozpatrzono tylko okres I, w czasie którego poszczególne wielkości uzyskują wartości stałe (większe od spoczynkowych). Pozostał natomiast niezbadany okres II wypoczynku, podczas którego zużycie tlenu osiąga wartość spoczynkową; nie ustalono, czy w tym okresie wielkość przestrzeni martwej jednocześnie z zużyciem tlenu wraca do wartości spoczynkowej.

Zbadano w niniejszej pracy zmiany stosunku przestrzeni martwej, obliczonej z CO_2 , do głębokości oddechu; stwierdzono, że zależnie od głębokości oddechu stosunek ten przybiera różne wartości. Liczby przez nas uzyskane pozostają w zgodzie z wynikami badań Krzywanka i Steuber ('22), przeprowadzonych w spoczynku, przy dobrowolnie pogłębianym oddechu. Wynikałoby stąd, że stosunek przestrzeni martwej do głębokości

Tabela VIII.

Czas od początku pracy <i>Temps écoulé depuis le commencement du travail</i>		Doświadczenie XXX 8.V.35. <i>Expérience</i>					
		Skład powietrza wydechowego <i>Composition de l'air expiré</i>		Skład powietrza pęcherzykowego <i>Composition de l'air alvéolaire</i>		Wentylacja <i>Ventilation</i>	Frekwencja oddechów <i>Nombre de respirations</i>
		% CO ₂	% O ₂	% CO ₂	% O ₂		
Spoczynek <i>Repos</i>		3.21	17.02	5.55	14.45	6.37	15.0
Praca — <i>Travail</i>	0.50	4.70	15.06	—	—	14.88	16.0
	0.75	—	—	6.73	11.11	—	—
	1.00	4.97	15.23	—	—	18.90	18.0
	1.25	—	—	7.37	11.05	—	—
	1.50	—	—	—	—	20.35	16.0
	2.00	5.48	14.80	—	—	23.89	18.0
	2.25	—	—	7.63	11.16	—	—
	2.50	5.60	15.04	—	—	23.89	18.0
	2.75	—	—	7.11	11.45	—	—
	3.00	5.61	15.20	—	—	23.89	18.0
3.25	—	—	7.25	12.41	—	—	

Tabela IX.

Czas od początku pracy <i>Temps écoulé depuis le commencement du travail</i>		Doświadczenie XXXI 13.V.35. <i>Expérience</i>					
		Skład powietrza wydechowego <i>Composition de l'air expiré</i>		Skład powietrza pęcherzykowego <i>Composition de l'air alvéolaire</i>		Wentylacja <i>Ventilation</i>	Frekwencja oddechów <i>Nombre de respirations par minute</i>
		% CO ₂	% O ₂	% CO ₂	% O ₂		
Spoczynek <i>Repos</i>		3.48	16.77	6.24	13.48	6.96	14.5
Praca — <i>Travail</i>	0.50	4.13	15.62	—	—	13.60	19.0
	0.75	—	—	6.74	10.69	—	—
	1.00	5.08	14.38	—	—	19.92	17.0
	1.25	—	—	7.20	10.88	—	—
	1.50	—	—	—	—	23.68	16.0
	2.00	6.07	14.42	—	—	26.10	16.0
	2.25	—	—	7.69	11.84	—	—
	2.50	5.83	14.92	—	—	26.13	17.0
	2.68	—	—	7.75	12.01	—	—
	3.00	5.70	15.17	—	—	30.50	20.0
	3.25	—	—	7.91	11.70	—	—

Tabela X.

Czas od początku pracy <i>Temps écoulé depuis le commencement du travail</i>		Doświadczenie XXXII 15.V.35 <i>Expérience</i>					
		Skład powietrza wydechowego <i>Composition de l'air expiré</i>		Skład powietrza pęcherzykowego <i>Composition de l'air alvéolaire</i>		Wentylacja <i>Ventilation</i>	Frekwencja oddechów <i>Nombre de respirations par minute</i>
		% CO ₂	% O ₂	% CO ₂	% O ₂		
Spoczynek <i>Repos</i>		3.24	16.95	5.59	14.24	6.41	15.2
Praca <i>Travail</i>	0.50	4.11	16.06	—	—	14.04	19.0
	0.75	—	—	6.44	10.62	—	—
	1.00	4.68	14.94	—	—	19.98	17.0
	1.25	—	—	6.97	11.11	—	—
	1.50	—	—	—	—	25.65	18.0
	2.00	5.39	15.05	—	—	27.03	18.0
	2.25	—	—	7.60	11.55	—	—
	2.50	5.35	15.59	—	—	25.52	16.0
	2.88	—	—	7.47	12.03	—	—
	3.00	5.80	15.11	—	—	26.17	16.0
3.50	—	—	7.92	11.17	—	—	

Tabela XI.

Czas od chwili przerwania pracy <i>Temps écoulé depuis l'interruption du travail</i>		Doświadczenie XXII dn. 18.II.35. <i>Expérience</i>					
		Skład powietrza wydechowego <i>Composition de l'air expiré</i>		Skład powietrza pęcherzykowego <i>Composition de l'air alvéolaire</i>		Wentylacja <i>Ventilation</i>	Frekwencja oddechów <i>Nombre de respirations</i>
		% CO ₂	% O ₂	% CO ₂	% O ₂		
Spoczynek <i>Repos</i>		3.46	16.70	5.53	14.29	7.19	15.2
Wypoczynek <i>Repos qui suit le travail</i>	0	5.57	15.09	7.23	12.25	28.79	16.0
	0.13	6.19	14.47	—	—	—	—
	0.25	—	—	7.62	12.86	—	—
	0.50	5.19	16.60	—	—	18.96	16.0
	0.75	—	—	6.55	15.16	—	—
	1.00	—	—	—	—	19.20	16.0
	1.50	—	—	—	—	12.52	16.0
	2.00	—	—	—	—	11.12	16.0
	2.50	—	—	—	—	9.84	16.0
	3.00	—	—	—	—	10.98	18.0
	3.50	—	—	—	—	9.63	18.0
	3.88	3.93	17.17	—	—	—	—
	4.00	—	—	—	—	6.30	16.0
	4.50	—	—	—	—	7.56	16.0
	5.00	—	—	—	—	6.18	16.0
	5.50	—	—	—	—	9.60	16.0
	5.88	4.00	16.80	—	—	—	—
6.00	—	—	—	—	7.20	16.0	
6.13	—	—	5.54	15.31	—	—	

oddechu nie zależy od tego, czy głębokość oddechu zmienia się w spoczynku, podczas pracy, czy w czasie wypoczynku. Zarówno w niniejszej pracy, jak i w pracy Krzywanka i Steuber stosunek ten, poczynając od pewnej głębokości oddechu, wykazuje nieregularność. Jako wielkość graniczną autorowie podają dla jednej osoby (płci żeńskiej) 922 cm³, dla drugiej (płci męskiej) 1525 cm³. W naszym przypadku wielkość graniczna wynosiła ~ 1600 cm³.

Tabela XII.

Czas od chwili przerwania pracy <i>Temps écoulé depuis l'interruption du travail</i>		Doświadczenie XXIII 22.II.35 <i>Expérience</i>					
		Skład powietrza wydechowego <i>Composition de l'air expiré</i>		Skład powietrza pęcherzykowego <i>Composition de l'air alvéolaire</i>		Wentylacja <i>Ventilation</i>	Frekwencja oddechów <i>Nombre de respirations par minute</i>
		% CO ₂	% O ₂	% CO ₂	% O ₂		
Spoczynek <i>Repos</i>		3.43	16.55	5.76	13.53	6.38	13.7
Wypoczynek <i>Repos qui suit le travail</i>	0	5.92	14.77	7.87	11.36	26.95	15.0
	0.13	5.76	14.94	—	—	—	—
	0.50	—	—	—	—	20.80	16.0
	0.75	—	—	6.77	14.75	—	—
	1.00	—	—	—	—	18.00	16.0
	1.50	—	—	—	—	12.64	18.0
	1.63	4.54	17.25	—	—	—	—
	2.00	—	—	—	—	10.44	16.0
	2.50	—	—	—	—	9.29	18.0
	3.00	—	—	—	—	9.92	18.0
	3.50	—	—	—	—	7.84	18.0
	4.00	3.97	16.74	—	—	7.42	16.0
	4.25	—	—	5.64	14.58	—	—
	4.50	—	—	—	—	7.42	16.0
	5.00	—	—	—	—	7.42	16.0
5.50	—	—	—	—	7.42	16.0	
6.00	3.93	16.58	—	—	7.42	16.0	
6.25	—	—	5.90	13.79	—	—	

Siebeck ('11) stwierdził zależność wielkości przestrzeni martwej przy tej samej głębokości oddechu od średniej pojemności płuc (t. j. średniej arytmetycznej pojemności płuc po wdechu i po wydechu) i znalazł, że przestrzeń martwa zwiększa się wraz ze zwiększeniem średniej pojemności płuc. W badaniach Krzywanka i Steuber i naszych nie został uwzględniony wpływ zmian średniej po-

jemności płuc na wielkość przestrzeni martwej. Jest rzeczą możliwą, że pomiary przestrzeni martwej, odnoszące się do większej głębokości oddechu, były robione przy niejednakowej pojemności średniej płuc i stąd może pochodzi nieregularność otrzymanych wyników.

T a b e l a XIII.

Czas od chwili przerwania pracy <i>Temps écoulé depuis l'interruption du travail</i>		Doświadczenie XXIV 25.II.35 <i>Expérience</i>					
		Skład powietrza wydechowego <i>Composition de l'air expiré</i>		Skład powietrza pęcherzykowego <i>Composition de l'air alvéolaire</i>		Wentylacja <i>Ventilation</i>	Frekwencja oddechów <i>Nombre de respirations par minute</i>
		min.	% CO ₂	% O ₂	% CO ₂		
Spoczynek <i>Repos</i>		3.56	16.58	5.67	14.00	6.37	13.6
Wypoczynek <i>Repos qui suit le travail</i>	0	5.80	15.04	7.10	13.00	29.36	19.0
	0.25	5.42	15.57	—	—	—	—
	0.38	—	—	7.56	13.01	—	—
	0.50	—	—	—	—	22.53	17.0
	1.00	5.04	16.94	—	—	16.80	16.0
	1.25	—	—	6.40	15.49	—	—
	1.50	—	—	—	—	14.93	16.0
	1.75	4.57	17.49	—	—	—	—
	2.00	—	—	6.01	15.48	13.52	16.0
	2.50	—	—	—	—	12.56	16.0
	3.00	—	—	—	—	9.23	15.0
	3.50	—	—	—	—	9.00	15.0
	4.00	3.84	17.23	—	—	10.64	16.0
	4.25	—	—	5.82	14.66	—	—
	4.50	—	—	—	—	8.50	17.0
	5.00	—	—	—	—	7.90	17.0
5.50	—	—	—	—	8.37	17.0	
6.00	3.67	16.85	—	—	—	—	
6.25	—	—	5.90	14.02	—	—	

Streszczenie wyników.

1°. Przestrzeń martwa osiąga „steady state” prawie jednocześnie z wentylacją. Różnica czasów osiągnięcia „steady state” przez te wielkości wynosi w poszczególnych doświadczeniach od 0.25' do 0.75'.

2°. Po pracy o mniejszym natężeniu (720 mkg/1') przestrzeń martwa osiąga wartość spoczynkową jednocześnie z zużyciem tlenu. Po pracy o większym natężeniu (1080 mkg/1')

przestrzeń martwa osiąga znowu równocześnie z zużyciem tlenu wartość stałą, lecz wyższą od spoczynkowej. Różnica czasów osiągnięcia przez te wielkości w jednym przypadku wartości spoczynkowych, w drugim — wartości stałych wynosi w poszczególnych doświadczeniach od 0' do 1'.

Tabela XIV.

Czas od chwili przerwania pracy <i>Temps écoulé depuis l'interruption du travail</i>		Doświadczenie XXV 27.II.35 <i>Expérience</i>					
		Skład powietrza wydechowego <i>Composition de l'air expiré</i>		Skład powietrza pęcherzykowego <i>Composition de l'air alvéolaire</i>		Wentylacja <i>Ventilation</i>	Frekwencja oddechów <i>Nombre de respirations par minute</i>
		min.	% CO ₂	% O ₂	% CO ₂		
Spoczynek <i>Repos</i>		3.54	16.68	5.57	14.67	6.35	16.0
Wypoczynek <i>Repos qui suit le travail</i>	0	5.87	15.01	7.42	12.59	28.21	18.0
	0.13	6.08	14.61	—	—	—	—
	0.38	—	—	7.60	13.31	—	—
	0.50	—	—	—	—	23.92	16.0
	0.75	5.22	16.76	—	—	—	—
	1.00	—	—	—	—	21.92	16.0
	1.13	—	—	6.83	15.11	—	—
	1.50	—	—	—	—	18.80	16.0
	1.62	4.60	17.50	—	—	—	—
	1.75	—	—	5.91	15.65	—	—
	2.00	—	—	—	—	14.21	14.0
	2.50	—	—	—	—	10.64	14.0
	3.00	—	—	—	—	9.28	16.0
	3.50	—	—	—	—	8.40	16.0
	4.00	4.13	16.83	—	—	8.40	16.0
	4.13	—	—	5.82	14.92	—	—
4.50	—	—	—	—	7.39	16.0	
5.00	—	—	—	—	7.68	16.0	
5.50	—	—	—	—	8.00	16.0	
6.00	3.82	16.90	—	—	7.20	16.0	
6.13	—	—	5.92	14.28	—	—	

3°. W spoczynku iloraz oddechowy, obliczony z powietrza wydechowego (RQe), nieznacznie się różni od ilorazu oddechowego, obliczonego z powietrza pęcherzykowego (RQa); w ciągu pierwszej minuty pracy różnica gwałtownie wzrasta, przyczem iloraz oddechowy w powietrzu pęcherzykowym jest niższy. Dalszy przebieg tych dwóch wielkości podczas pracy jest prawie równoległy. W czasie wypoczynku równoległość ta daje się stwierdzić bezpośrednio po pracy; po upływie zaś 1.5' różnica

między omawianymi ilorazami osiąga najwyższą wartość, następnie znowu maleje.

4°. Przestrzeń martwa, obliczona z O_2 , osiąga w czasie pracy wyższe wartości, niż przestrzeń martwa, obliczona z CO_2 . Różnica między temi wielkościami zachowuje się w okresie początkowym pracy w podobny sposób, jak omówiona w 3° różnica ilorazów oddechowych RQ_e — RQ_a . Natomiast w okresie wypoczynku największą różnicę między wartościami przestrzeni martwej, obliczonej z O_2 i z CO_2 , stwierdzono bezpośrednio po pracy.

Tabela XV.

Czas od chwili przerwania pracy <i>Temps écoulé depuis l'interruption du travail</i> min.		Doświadczenie XXVII 20.III.35 <i>Expérience</i>					
		Skład powietrza wydechowego <i>Composition de l'air expiré</i>		Skład powietrza pęcherzykowego <i>Composition de l'air alvéolaire</i>		Wentylacja <i>Ventilation</i> l/1'	Frekwencja oddechów <i>Nombre de respirations par minute</i> na min.
		% CO_2	% O_2	% CO_2	% O_2		
Spoczynek <i>Repos</i>		3.58	16.85	5.86	14.46	6.76	14.2
Wypocznik <i>Repos qui suit le travail</i>	0	6.37	14.51	8.62	11.45	41.32	18.0
	0.25	6.13	15.05	—	—	—	—
	0.38	—	—	8.00	13.44	—	—
	0.50	—	—	—	—	36.72	14.0
	0.75	6.37	16.23	—	—	—	—
	0.88	—	—	7.57	14.62	—	—
	1.00	4.88	17.45	—	—	26.60	16.0
	1.50	—	—	—	—	24.00	16.0
	1.75	—	—	6.43	15.84	—	—
	2.00	—	—	—	—	19.88	16.0
	2.50	—	—	—	—	16.01	16.0
	3.00	—	—	—	—	16.51	16.0
	3.50	—	—	—	—	13.65	16.0
	4.00	4.37	17.38	—	—	12.60	16.0
	4.25	—	—	5.81	15.70	—	—
4.50	—	—	—	—	11.55	16.0	
5.00	—	—	—	—	10.64	16.0	
5.50	—	—	—	—	9.80	16.0	
6.00	4.09	17.15	5.74	15.94	9.10	16.0	

5°. Zbadano podczas pracy i w okresie wypoczynku stosunek przestrzeni martwej, obliczonej z CO_2 , do głębokości oddechu. Stwierdzono, że w granicach głębokości oddechu od 500 cm^3 do 1600 cm^3 stosunek ten maleje ze wzrostem głębokości oddechu.

Tabela XVI.

Czas od chwili przerwania pracy <i>Temps écoulé depuis l'interruption du travail</i>		Doświadczenie XXVIII 25.III.35 <i>Expérience</i>					
		Skład powietrza wydechowego <i>Composition de l'air expiré</i>		Skład powietrza pęcherzykowego <i>Composition de l'air alvéolaire</i>		Wentylacja <i>Ventilation</i>	Frekwencja oddechów <i>Nombre de respirations par minute</i>
		% CO ₂	% O ₂	% CO ₂	% O ₂		
Spoczynek <i>Repos</i>		3.63	16.62	5.84	14.04	7.25	15.2
Wypoczynek <i>Repos qui suit le travail</i>	0	5.60	15.60	7.87	12.29	44.24	21.0
	0.25	5.83	15.15	—	—	—	—
	0.38	—	—	8.31	12.59	—	—
	0.50	—	—	—	—	36.13	17.0
	0.63	5.77	16.39	—	—	—	—
	0.88	—	—	7.30	14.95	—	—
	1.00	—	—	—	—	24.23	15.0
	1.50	4.88	17.43	—	—	24.21	18.0
	1.63	—	—	6.56	15.52	—	—
	2.00	—	—	—	—	23.25	16.0
	2.50	—	—	—	—	21.78	16.0
	3.00	—	—	—	—	20.07	16.0
	3.50	—	—	—	—	16.56	16.0
	3.88	4.28	17.52	—	—	—	—
	4.00	—	—	5.76	15.79	15.39	16.0
	4.50	—	—	—	—	12.70	16.0
5.00	—	—	—	—	11.55	16.0	
5.50	—	—	—	—	12.24	16.0	
5.88	3.83	17.26	—	—	—	—	
6.00	—	—	5.58	15.05	9.92	16.0	

Piśmiennictwo.

Białaszewicz K. 1933. Recherches sur les échanges gazeux chez l'homme pendant le travail. I. Méthode et technique expérimentale. Przeglad Fizjol. Ruchu, 4 (1). — Campbell J. M. H., Douglas C. G. and Hobson F. G. 1914. The sensitiveness of the respiratory centre to carbonic acid and the dead space during hyperpnoea. Journ. of Physiol. 48 (303). — Dautrebände L. et Delcourt-Bernard S. 1928. Sur la notion d'espace nuisible „physiologique” d'un système respiratoire. Ann. de Physiol. 4 (975). — Douglas C. G. and Haldane J. S. 1912—13. The capacity of the air passages under varying physiological conditions. Journ. of Physiol. 45 (235). — Enghoff H. 1931. Zur Frage des schädlichen Raumes bei der Atmung. Skand. Arch. f. Physiol. 63 (15). — Haldane J. S. and Priestley J. G. 1905. The regulation of the lung-ventilation. Journ. of Physiol. 32 (225). — Haldane J. S. 1915. The

Tabela XVII.

Czas od chwili przerwania pracy		Doświadczenie XXIX 27.III.35					
		<i>Expérience</i>					
		Skład powietrza wydechowego		Skład powietrza pęcherzykowego		Wentylacja	Frekwencja oddechów
<i>Composition de l'air expiré</i>		<i>Composition de l'air alvéolaire</i>		<i>Ventilation</i>	<i>Nombre de respirations par minute</i>		
min.	% CO ₂	% O ₂	% CO ₂			% O ₂	l/1
Spoczynek		3.52	16.97			7.23	14.8
<i>Repos</i>							
Wypoczynek	0	6.02	15.42	8.08	12.22	44.42	21.0
	0.25	6.04	15.06	—	—	—	—
	0.38	—	—	8.32	12.71	—	—
	0.50	—	—	—	—	37.05	19.0
	0.75	6.28	16.21	—	—	—	—
	0.88	—	—	7.43	14.84	—	—
	1.00	—	—	—	—	27.04	16.0
	1.50	5.03	17.38	—	—	22.64	16.0
	1.75	—	—	6.48	15.88	—	—
	2.00	—	—	—	—	20.72	16.0
	2.50	—	—	—	—	17.25	16.0
	3.00	—	—	—	—	16.84	18.0
	3.50	—	—	—	—	14.54	17.0
	3.88	4.23	17.50	—	—	—	—
	4.00	—	—	5.71	15.96	13.80	17.0
4.50	—	—	—	—	12.40	16.0	
5.00	—	—	—	—	11.95	16.0	
5.50	—	—	—	—	12.96	18.0	
6.00	3.93	17.47	—	—	11.12	16.0	

variations in the effective dead space in breathing. *Americ. Journ. of Physiol.* 38 (20). — Haldane J. S. 1927. *Respiration*. Yale. University Press. — Henderson J., Chillingworth F. P. and Whitney J. L. 1915. The respiratory dead space. *Americ. Journ. of Physiol.* 38 (1). — Hill A. V., Long C. N. H. and Lupton H. 1925. Muscular exercise, lactic acid and the supply and utilisation of oxygen. V. The recovery process after exercise in man. *Roy. Soc. Proc.* 97 (96). — Krogh A. 1913. A bicycle ergometer and respiration apparatus. *Skand. Arch. f. Physiol.* 30 (375). — Krogh A. and Lindhard J. 1913. The volume of the „dead space” in breathing. *Journ. of Physiol.* 47 (30). — Krogh A. and Lindhard J. 1917. The volume of the „dead space” in breathing. *Journ. of Physiol.* 51 (59). — Krzywaneck Fr. W. und v. Deseö D. 1926. Über die Abhängigkeit des toten Raumes von der Atemgrösse. *Pflüger's Arch. f. d. ges. Physiol.* 214 (767). — Krzywaneck Fr. W. und Steuber M. 1922. Ein Beitrag zur Grösse des toten Raumes in den Atmungswegen. *Pflüger's Arch. f. d. ges. Physiol.* 197 (624). — Liljestränd G. und Sahlstedt A. V. 1925. Temperatur und Feuch-

tigkeit des ausgeatmeten Luft. Skand. Arch. f. Physiol. 46 (94). — Liljestränd G. und Stenström N. 1925. A note on the respiratory dead space when breathing through the nose. Skand. Arch. f. Physiol. 46 (93). — Siebeck R. 1911. Über Bedeutung und Bestimmung des „schädlichen Raumes“ bei Atmung. Skand. Arch. f. Physiol. 25 (81). — Szwejkowska G. 1935a. Recherches sur les échanges gazeux chez l'homme pendant le travail. III. Essai d'une détermination de la durée de la période initiale de travail. Acta Biol. Exp. 9 (158). — Szwejkowska G. 1935b. IV. L'influence de l'intensité de travail sur la durée de la période initiale. Przegł. Fizjol. Ruchu. 7 (88).

[Zakład Fizjologii Instytutu im. Nenckiego T. N. W.]

J. Konorski i L. Lubińska.

Próba analizy zjawiska „narkozy magnezowej”. III. Mechanizm obwodowego działania magnezu i pozorny charakter zmian pobudliwości nerwowej.

An attempt to analyse „magnesium narcosis”. III. The mechanism of the peripheral action of magnesium and the fallacy of observed changes in nerve excitability.

Rękopis nadesłany w dniu 15.VI 1936 r.

In the preceding papers ('33, '35) on the influence exerted by magnesium salts upon neuro-muscular excitability and upon maximal muscular contractions evoked by motor nerve stimulation, we found a considerable heterochronism between nerve and muscle caused by a large increase of muscle chronaxie. It was found that motor nerve chronaxie remains of the normal order of magnitude. The method then used did not permit to perceive small variations of such rapid chronaxies as those exhibited by the motor nerves of Mammals. In view of the fact that some authors (W o d o n, A r v a n i t a k i and C a r d o t) have found under similar conditions changes in nerve chronaxie and rheobase, we have re-examined this problem with improved methods.

The results obtained here necessitate a critical revision of certain conclusions concerning changes in nerve excitability in many curarisations, namely, those characterized by considerable changes in the muscular component of the neuro-muscular preparation.

The general conclusions drawn from the present investigation can be summarized as follows:

Magnesium salts introduced intravenously in appropriate doses to a cat do cause reversible variations in motor nerve excitability. These consist in an increase of rheobase and a decrease of chronaxie. These changes of excitability are shown in figs 3, 4 and 5, where rheobase and chronaxie are plotted against the time elapsing after injection. The increment of the rheobase proceeds up to a distinct limit at about double its initial value. This limit is never surpassed (Table II and fig. 6) even in cases of loss of neuro-muscular transmission which takes place suddenly after the rheobase has reached its limit value. This limit has been found to be the least current exciting all motor fibres contained in examined nerve, i. e. the threshold of maximal motor twitches (Table III). This fact is of importance, for the explanation of the mechanism of the observed disturbances.

The changes in chronaxie are exactly symmetrical to those in rheobase; the moments of greatest alteration and that of complete return to the normal level of these two variables occur simultaneously. Changes in chronaxie never appear without accompanying changes in rheobase.

The tension of muscular twitches evoked by indirect stimulation decreases. This decrease is not parallel to the changes of excitability, although it is greatest at the maximal increase of the latter (Fig. 7). The drop of twitches appear at doses which do not evoke any variation of nerve excitability (Fig. 8). With application of larger doses changes in the mechanogram appear earlier and last longer than those in rheobase and chronaxie. The tension of maximal twitches offers therefore a more sensitive index of the action of magnesium on the neuro-muscular preparation than nerve excitability.

None of the changes described herein appear if the access of the blood to the muscle is cut off before magnesium injection, in spite of conditions of circulation within the nerve remaining unchanged. It follows that the changes described above are actually connected with the phenomena taking place in the muscle itself.

The chronaxie indicates, as is known, the time relation of the tissue under cathode. Therefore the fact that the nerve chronaxie does not change in cases where magnesium is with-

drawn from muscle only, seems paradoxical and needs further study.

It is shown that chronaxies determined for supraminimal and submaximal or maximal twitches yield smaller values than those for threshold twitches; such chronaxies are smaller the higher the value of chosen rheobase (sample protocol page 273). Now, the changes in rheobases and in chronaxies obtained after magnesium injection are found to fall within the limits of change in both these magnitudes, determined for supra-threshold twitches of various size (Table III and figs 9, 10, 11, 12).

The whole of the phenomena here presented can be quantitatively accounted for by assuming that magnesium acts on the neuro-muscular preparation in such manner that it excludes in each motor unit a smaller or larger number of muscular fibres (depending on the dose applied) from excitations originating from nerve impulses.

The decrease in nerve chronaxie appearing under the influence of magnesium is by no means an expression of changes in the excitability of the nerve itself, but is caused solely by the disturbed conditions of neuro-muscular transmission, the threshold response requiring stimulation of a greater number of nerve fibres and hence a stronger rheobasic current.

W poprzednich pracach tej serii (Lubińska '33, '35) stwierdzono, że w t. zw. narkozie magnezowej występuje bądź zmniejszenie, bądź całkowity zanik skurczów mięśniowych, wywoływanych przez drażnienie odpowiednich nerwów ruchowych. Zjawisku temu towarzyszy wyraźny heterochronizm nerwowomięśniowy, spowodowany przez znaczne powiększenie chronaksji mięśniowej. Chronaksja nerwu natomiast, według podanych w tej pracy wyników, nie wykazuje zmian. Należy jednak zaznaczyć, że do pomiarów używano wówczas chronaksymetru o podziałce do $\frac{1}{10\,000}$ sekundy, przyrząd ten nie pozwalał zatem na badanie drobnych zmian chronaksyj, cechujących nerwy ruchowe ssaków. Chronaksje te, jak wiadomo, są tego właśnie rzędu wielkości.

W o d o n ('31) w podobnych warunkach doświadczalnych otrzymał pod wpływem soli magnezowych zwiększenie reobazy i zmniejszenie chronaksji nerwu ruchowego kota. O podobnych wynikach, uzyskanych na podstawie nieogłoszonych doświadczeń, na nerwie żaby, wspominają również A r v a n i t a k i i C a r d o t ('31). Postanowiliśmy wobec tego zagadnienie pobudliwości nerwów obwodowych w „narkozie magnezowej” poddać dokładniejszemu zbadaniu, posługując się metodą kondensatorową, odpowiedniejszą do tego celu, oraz badając, obok reobaz i chronaksyj, przebieg zmian wysokości skurczów maksymalnych, które, jak to wykazaliśmy poprzednio, stanowią bardzo czuły wskaźnik stopnia działania Mg na układ nerwowo-mięśniowy.

Otrzymane wyniki pozwalają poddać krytycznej rewizji interpretację zmian pobudliwości nerwowej, obserwowanej w przypadkach niektórych kuraryzacji.

Metodyka.

Doświadczenia wykonywano na kotach uśpionych Diałem-Ciba. Sole magnezowe wprowadzano drogą zastrzyku dożylnego w postaci roztworu siarczanu magnezowego, zawierającego 67.5 g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ na litr, izotonicznego względem krwi zwierzęcia. Największa dawka wprowadzonego magnezu była taka, aby zawartość tego jonu we krwi, bezpośrednio po zastrzyku, nie przekraczała ilości znajdującej tam w stanie głębokiej, ale odwracalnej narkozy. Według analiz R o s e n b e r g ('36), ilość ta wynosi u kota około 20 mg na 100 cm^3 surowicy. Zależnie od celu poszczególnych doświadczeń wprowadzano mniejsze lub większe dawki, nie przekraczając jednak 2.5 cm^3 na kg wagi zwierzęcia. Ten sposób wprowadzania okazał się korzystniejszy, niż stosowany poprzednio zastrzyk do otrzewnej, gdyż efekt występował szybko i szybko znikał, co pozwalało na kilkakrotne powtarzanie doświadczenia na tem samym zwierzęciu. Kolejne zastrzyki nie były zupełnie równoważne fizjologicznie, prawdopodobnie wskutek tego, że nowo wprowadzony magnez kumulował się we krwi z resztkami tego jonu, nie wyeliminowanego po poprzednich zastrzykach, co mogło działać zarówno bezpośrednio na nerwy i mięśnie prądkowane, jak i pośrednio, upośledzając krążenie.

Zespoły nerwowo-mięśniowe badane w tych doświadczeniach, to bądź nerw strzałkowy — mięsień piszczelowy przedni (*n. peroneus — m. tibialis anticus*), bądź nerw zastonowy — mięsień smukły (*n. obturatorius — m. gracilis*). Pierwszego zespołu używano w przypadkach, gdy chodziło o możliwie dokładną rejestrację skurczów mięśniowych, gdyż łatwo jest umoco-

wać przyczep mięśnia, borując dwie dziury, jedną w udzie, tuż ponad kolanem, drugą w kości piszczelowej, w okolicach kostki. Przyśrubowując kończynę do grubych prętów żelaznych, otrzymuje się prawie zupełne unieruchomienie, umożliwiające poprawną rejestrację skurczów. Zespołu: nerw zasłonowy — mięsień smukły używano natomiast w przypadkach, gdy chodziło raczej o bezpośrednią obserwację mięśnia lub nawet poszczególnych jego terytoriów, o oznaczenie najniższych progów dostrzegalnych i t. p.

Ścięgno badanego mięśnia umocowywano do miografu, mniej więcej izometrycznego, umieszczonego na wmurowanej w ścianę konsoli betonowej, zupełnie niezależnej od stołu, na którym było umocowane zwierzę.

Do pomiarów chronaksji posługiwano się obwodem wyładowania baterji kondensatorów¹⁾, zmontowanym według klasycznego schematu Lapicque'a. Całkowity opór obwodu wyładowania wynosił około 13 tysięcy omów, opór równoległy do nerwu — 3 tysiące.

Do wywoływania rytmicznych skurczów pojedynczych, których wysokość miała wskazywać stopień działania magnezu, używaliśmy generatorów, neonowych, zmontowanych według schematów Briscoe i Leyshon ('29). Rytmiczne wyładowania tych generatorów, bardzo podobne do zwykłych wyładowań kondensatorów, dostarczały bodźców drażniących preparat nerwowo-mięśniowy w powolnym rytmie jednego na kilka (3 — 10) sekund. Natężenie wyładowań dobierano w taki sposób, aby otrzymane bodźce były trochę ponadmaksymalne.

Elektrody doprowadzające prąd do nerwu były srebrne, pokryte elektrolitycznie chlorkiem srebra. Znajdowały się one w specjalnej rynience z parafinowanego celuloidu, do której wkładano nerw, izolując w ten sposób część interpolarną od otaczających tkanek. Odległość między elektrodami wynosiła 12 mm, katodę umieszczano bliżej mięśnia.

C z ę ś ć d o ś w i a d c z a l n a .

1. Wysokość skurczów maksymalnych, wywołanych przez drażnienie pośrednie.

Doświadczenia opisane w niniejszej pracy były wykonane na przeszło 30-tu zwierzętach. Każdemu z nich wprowadzano magnez dożylnie, przez uprzednio wstawioną kaniulkę, w ilości od 1 do 2.5 cm³ wyżej wspomnianego roztworu na kg wagi

¹⁾ Baterję kondensatorów od 0.001 do 1 μ F zmontowano ze zwyczajnych kondensatorów z papieru parafinowanego i cynfolji, wytwarzanych przez przemysł radjotechniczny. Wybierano te, które wykazywały niedomiary w stosunku do swej nominalnej wartości i dodawano równoległe małe kondensatory, aż do skompletowania pożądanej pojemności. Po zlutowaniu takiego elementu, cechowano go nanowo. Sporządzona w ten sposób bateria nie wykazywała dostrzegalnych wahań ani zmian pojemności w ciągu roku, który upłynął od jej zmontowania. Koszty tego przyrządu były bardzo nieznaczne.

zwierzęcia. Zwierzę dostawało od 1 do 7 takich zastrzyków, tyle zatem można było wykonać niemal niezależnych eksperymentów. Samo wprowadzanie trwało przeważnie około 1 minuty, a efekt w postaci zmniejszenia skurczów mięśniowych, wywołanych przez maksymalne drażnienie nerwu, był widoczny już po upływie 20—30 sek. od początku zastrzyku. Pierwszy zastrzyk nie wywoływał przeważnie zupełnego zaniku skurczów, tylko znaczne ich zmniejszenie. Wysokość spadała do minimum, czasami niezapisywalnego w ciągu kilkudziesięciu sekund, potem następował stopniowy wzrost skurczów, o wiele powolniejszy, niż ich spadek. Przytaczamy dla ilustracji jeden z charakterystycznych wykresów, oraz tabelkę, zestawiającą przebieg



Rys. 1. Wpływ dożylnego zastrzyku magnezu na wysokość maksymalnych skurczów mięśniowych wywołanych przez drażnienie pośrednie. Dośw. 13—1. Skurcze mięśnia piszczelowego, drażnienie nerwu strzałkowego. Rytm drażnienia: 1 co 4.8 sek.

Fig. 1. Expt. 13—1. Influence of intravenous injection of Mg on the height of maximal muscular twitches evoked by indirect stimulation. Twitches of m. tibialis, stimulation of n. peroneus. Rhythm of stimulation: 1 per 4.8 sec.

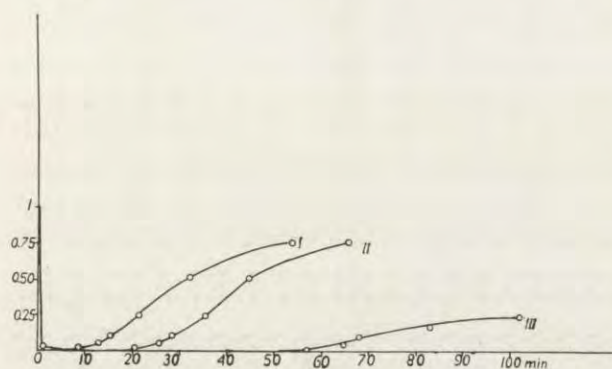
Tabela I.

Przebieg zmian wysokości mechanogramu w czasie pod wpływem Mg (Pierwsze zastrzyki).
The effect of magnesium (first injections) on the height of twitches related to time elapsed after injection.

Nr. dośw. № of expt.	Wysokość początkowa skurczów Initial height of twitches mm	Czas spadku wyso- kości skurczów Duration of fall of the height of twitches		Czas wzrostu wyso- kości skurczów Duration of enhancements of the height of twitches		Dawka w cm ³ /kg Dose in cc per kg cm ³
		do 1/2	do 1/10	do 1/10	do 1/2	
		wysokości początkowej of initial value sec.	wysokości początkowej of initial value min	wysokości początkowej of initial value	wysokości początkowej of initial value	
5—I	40	4	8	15	32	2.5
8—I	20	0	90	22	—	2.8 śmiert. lethal
10—I	12	0	15	2'40"	3'20"	2.4
11—I	19	15	20	15	—	—
12—I	16	0	5	6'30"	11	2.1
13—I	20	20	35	3	4'30"	1.2
15—I	18	30	nie spadło do 1/10 no drop to 1/10	—	3	0.9
22—I	brak zmian mechanogramu przy tej dawce no change at this dose					1.4
29—I	15	3	nie spadło do 1/10 no drop to 1/10	—	2	1.1
30—I	14	3	nie spadło do 1/10 no drop to 1/10	—	5	1.1
31—I	15	0	—	5	8	1.7

tych zmian w czasie, w tych doświadczeniach, w których rejestrowano miogram skurczów mięśniowych przy pierwszym zastrzyku magnezu.

Czas, w ciągu którego zachodziły rozważane zmiany wysokości skurczu, liczono od końca zastrzyku, ponieważ jednak wprowadzenie magnezu nie we wszystkich doświadczeniach odbywało się z jednakową szybkością, liczby wskazujące szybkość spadku mają tylko orientacyjne znaczenie. Widać jednak wyraźnie, że spadek wysokości odbywa się w ciągu sekund, a narastanie w ciągu minut.



Rys. 2. Przebieg zmian wysokości miogramu podczas trzech kolejnych zastrzyków dożylnych soli magnezowych. Dośw. 5-1-II-III. Na osi odciętych — czas; punkt 0 odpowiada chwili zastrzyku magnezu. Na osi rzędnych — wysokość skurczów. Wysokość, poprzedzającą każdorazowe wprowadzenie Mg, przyjmowano jako równą 1, a wysokości otrzymane po zastrzyku wyrażono w ułamkach wartości początkowej. Gdyby zamiast tego sporządzić wykres bezwzględnych wartości wysokości skurczów, krzywa II, a tym bardziej III byłyby bardziej spłaszczone w stosunku do pierwszej, gdyż wysokość początkowa była coraz mniejsza. Spadek wysokości do $\frac{1}{10}$ wartości początkowej odbywał się w tych trzech przypadkach w ciągu 8—20 sek.; nie może być zatem widoczny na krzywej, mającej na celu przedstawienie dziesiątków minut.

Fig. 2. Expt. 5-1-II-III. Changes in the size of maximal motor twitches during three successive intravenous injections of magnesium salts. Expts 5-1-II-III. Abscissa: time in minutes; 0—corresponds to the moment of injection. Ordinate: height of twitches. The normal height of twitches before every successive injection of Mg. has been taken as 1; heights received after injection are expressed as fractions of the initial value. The drop of twitches to one-tenth of the initial value took place in these three cases during 8—21 sec. and cannot therefore be shown on the curves destined to represent multiples of a minute.

Następne zastrzyki wywoływały u niektórych zwierząt efekt mięśniowy z pewnym opóźnieniem, zależnym prawdopodobnie od zwolnionego krążenia, restytucja natomiast odbywała się z reguły wolniej i to tem wolniej, im więcej magnezu zwierzę otrzymało poprzednio. Przeważnie, zwłaszcza przy większych dawkach, skurcze nie wracały do wysokości początkowej i za-

trzymały się w sposób trwały na niższym poziomie, wynoszącym około $\frac{3}{4}$ wysokości wyjściowej. Rys. 2 wskazuje przebieg zmian miogramu w funkcji czasu, który upłynął od chwili wprowadzenia Mg, dla 3-ch kolejnych zastrzyków.

Jeżeli zależało raczej na otrzymaniu długotrwałych efektów, należało stosować takie właśnie kolejne zastrzyki, gdyż stosowanie większych dawek od razu, nawet w granicach wyżej podanych, wywoływało częstokroć śmierć zwierzęcia przez zatrzymanie serca. Obserwowano pod tym względem dość duże różnice indywidualne wrażliwości kotów na magnez.

Na tle wyżej opisanego przebiegu zmian miogramu, badano zakłócenia pobudliwości nerwowej, usiłując wykryć i ustalić związek między temi zjawiskami.

2. Zmiany reobazy i chronaksji.

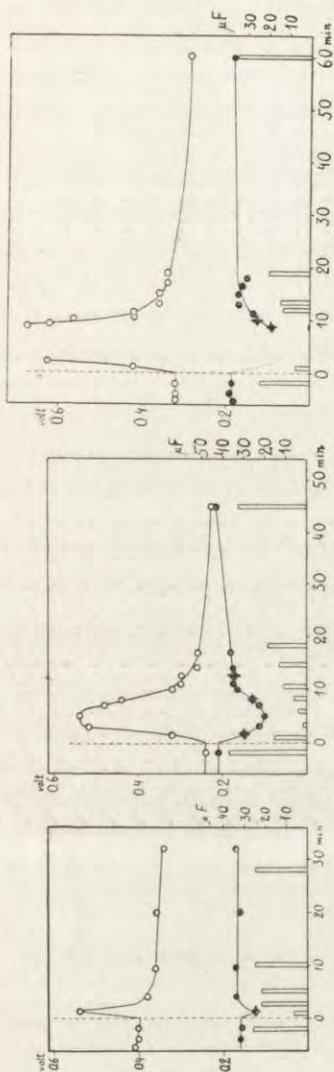
Wpływ magnezu na reobazę i chronaksję badano podczas 39 wprowadzeń tego jonu, wykonanych na 16 kotach. Poza tem na pięciu innych kotach badano wpływ magnezu na samą tylko reobazę. Ogółem było 56 takich seryj pomiarów. Wyniki dadzą się podzielić na dwie grupy: jedna obejmuje 44 doświadczenia, w których pobudliwość nerwu ulegała zmianie, druga — pozostałe 12, w których bądź zmian nie było, bądź były niewyraźne.

Przejdziemy obecnie do omówienia wyników pierwszej grupy.

We wszystkich doświadczeniach, w których wystąpiły zmiany pobudliwości nerwowej, miały one zawsze taki sam charakter — polegały mianowicie na **wzroście reobazy i spadku chronaksji**. Między obiema temi wielkościami istniała ścisła zależność: w każdym przypadku, w którym zaobserwowano wzrost reobazy, widoczny był również spadek chronaksji i odwrotnie, nie zdarzyło się nigdy, by zmniejszenie chronaksji wystąpiło samo, bez jednoczesnego zwiększenia reobazy.

Rysunki 3, 4, 5 przedstawiają przebieg zmian reobazy i chronaksji nerwowej w trzech doświadczeniach, wykonanych na kocie Nr. 29. Dla uzupełnienia podano również wysokość maksymalnych skurczów mięśniowych w różnych chwilach po zastrzyku. Kolejność rysunków wskazuje na coraz mocniejszy

stopień działania magnezu. Zmiany badanych wielkości w doświadczeniu 29-I (rys. 3) są mniejsze ilościowo, a prócz tego szybciej narastają i przemijają, niż odpowiednie zmiany w do-



Rys. 5.

Rys. 4.

Rys. 3.

Rys 3, 4, 5. Dośw. 29 — III — V — IV. Zmieniność reobaz (krzywe górne) i chronaksji (krzywe dolne) nerwu ruchowego pod wpływem magnezu. Wzrastający stopień zatrucia. Na osi odciętych czas w minutach. Chwilę wprowadzenia Mg oznaczono jako 0. Na osi rzędnych — z lewej strony skala napięć reobazowych w woltach; z prawej — pojemności chronaksyjnych w tysiącznych mikrofarada. Słupki przedstawiają wysokość skurczów maksymalnych. Kółkami przekreślonymi zaznaczono te wartości chronaksyj, które wskutek szybkich zmian reobazy w chwili pomiaru nie mogły być bezpośrednio oznaczone prawidłowo i zostały skorygowane w sposób opisany w tekście. Na rys. 5 w 2 min. po zastrzyku pobudliwość bezpośrednio oznaczona znikła, zanim zdążyła się określić.

Figs. 3, 4 and 5. Expts. 29 — III — V — IV. Rheobase (upper curves) and chronaxie (lower curves) of motor nerve after the injection of magnesium. Rising degree of poisoning. Abscissae: time in minutes after injection of Mg, given as 0. Ordinates: left side, scale of rheobasic tension in volts; right side chronaxie capacities in thousandths of microfarad. The columns represent the tension of maximal twitches. Crossed circles indicate those chronaxie values which could not at the moment of measurement be exactly determined for reason of rapid variation of rheobase and were corrected in the manner described in the text. In fig. 5 indirect excitability disappeared 2 mins after injection and before chronaxie could be determined.

świadczeniu 29-V (rys. 4). Reobazy i chronaksje zmieniają się w sposób symetryczny. Wierzchołki odpowiednich krzywych — maksimum reobazy i minimum chronaksji wypadają w tym

samym punkcie czasowym. Powrót do normy jest również jednoczesny. Doświadczenie 29-1V (rys. 5) ma przebieg charakterystyczny dla większych dawek magnezu. W dwie minuty po zastrzyku znika zupełnie pobudliwość pośrednia. Bodźcie działające na nerw nie wywołują wtedy skurczów mięśnia. Chronaksja i reobaza są zatem w takim okresie nieoznaczalne stosowaną tu metodą obserwacji progowego skurczu mięśniowego.

Jeżeli przyjrzeć się reobazom, poprzedzającym bezpośrednio zanik przewodzenia nerwowo-mięśniowego, można zauważyć, że urywają się one na pewnej wartości, nie przekraczającej naogół podwójnej reobazy wyjściowej, poczem, w sposób jakgdyby nieciągły, pobudliwość pośrednia znika. Podobną wartość wykazuje pierwsza reobaza, dająca się uchwycić po powrocie pobudliwości pośredniej. Wartości te oraz stosunki największych dostrzeżonych reobaz do normalnych są zestawione w tabeli II.

Ponieważ reobazy bezpośrednio graniczące z zanikiem pobudliwości pośredniej są najwyższe, jakie wogóle mogą być osiągnięte po zastrzyku magnezu, odnosi się wrażenie, że wzrost reobazy pod wpływem magnezu posiada pewną górną granicę, której nie przekracza.

Istnienie takiej górnej granicy jest najlepiej uwidocznione na rys. 6, gdzie dla dokładniejszego uchwycenia reobazy bezpośrednio przed zanikiem pobudliwości pośredniej, stosowaliśmy poprzednio opisaną metodę czasowego przywracania przewodnictwa nerwowo-mięśniowego preparatowi, zatrutemu dużą dawką magnezu. Taka aktywacja preparatu wywołana przez drażnienie tężcowe nerwu trwa, jak wiadomo, zależnie od okoliczności od kilku sekund do kilku minut i mija stopniowo — co przejawia się w stopniowym zmniejszaniu się skurczów i wreszcie w ich zaniku. Reobazy, mierzone podczas takiej aktywacji, wykazują stopniowy wzrost i w chwili zaniku skurczów osiągają wartość graniczną, podobną do przedstawionej w tabeli II, poczem znikają. W doświadczeniu 22-VI, którego część przedstawiono na rys. 6, pobudliwość pośrednia znikła zaraz po zastrzyku magnezu. Co kilka minut stosowano drażnienie aktywujące, efekty tych drażeń były jednak zbyt przelotne dla dokonania pomiaru reobazy. Dopiero po 27 minutach udało się

Tabela II.

Najwyższy wzrost reobazy po magnezie
Maximal increase in rheobase attained after injection of magnesium.
 Doświadczenia w których znikala pobudliwość pośrednia.
Experiments with disappearance of neuro-muscular transmission.

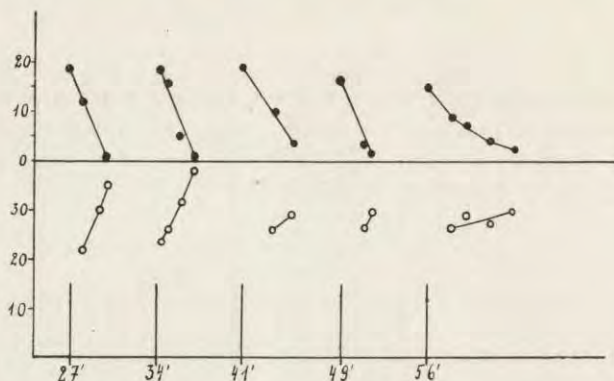
Nr. dośw. <i>Nr. of expt.</i>	Reobaza — Rheobase			Stosunek najwyższej uchwyconej reobazy do normalnej <i>Highest rheobase / Normal rheobase</i>
	Przed zastrzykiem Mg <i>Before injection of magnesium</i>	Ostatnia przedzaniem pobudliw. pośredniej <i>Last before disappearance of indirect excitability</i>	Pierwsza po zjawieniu się pobudliw. pośredniej <i>First after the return of indirect excitability</i>	
12 — VI	30	42	—	1.4
22 — III	19	25	27	1.4
22 — IV	19	20	23	1.2
28 — V	19	—	32	1.7
29 — IV	16	30	34	2.1
29 — VII	10	25	25	2.5
30 — III	9	—	15	1.7
30 — V	13	21	19	1.6

Doświadczenia w których nie znikala pobudliwość pośrednia.
Experiments without loss of neuro-muscular transmission.

Reobaza podczas największego spadku skurczów.
Rheobase corresponding to maximal depression of twitches.

12 — V	33	40	—	1.2
13 — II	13	17	—	1.3
13 — III	14	17	—	1.2
22 — II	19	27	—	1.4
	19	30	—	1.6
22 — IV	22	25	—	1.1
25 — II	28	33	—	1.1
25 — III	33	40	—	1.2
26 — I	18	21	—	1.1
28 — II	17	18	—	1.0
28 — III	18	20	—	1.1
28 — IV	18	25	—	1.4
28 — VI	19	26	—	1.3
29 — I	20	27	—	1.3
29 — III	17	30	—	1.7
29 — V	12	27	—	2.2
30 — II	10	12	—	1.2
30 — IV	14	20	—	1.4
31 — I	27	43	—	1.6
31 — II	45	57	—	1.3

wywołać aktywację trwającą około 4 minut. To samo powtórzone w 34 minuty po zastrzyku, z podobnym, nieco trwalszym wynikiem. Trzy późniejsze aktywacje nie zakończyły się już zaniemieniem skurczów, tylko ich zmniejszeniem, a to wskutek mijającego po tak długim czasie działania magnezu. Wyniki te, jako uzupełniające, przedstawiono również na wykresie wraz z odpowiednimi mechanogramami.



Rys. 6. Dośw. 22—IV. Wpływ aktywujących drażeń tępcowych na mechanogram i reobazę preparatu, w którym pod wpływem magnezu znikła pobudliwość pośrednia. Na osi odciętych — czas w minutach od chwili wprowadzenia magnezu. Linje pionowe symbolizują kilkunastosekundowe tęże aktywujące. U góry mechanogram skurczów w mm, osiągający najwyższą wartość bezpośrednio po tężu i spadający szybko do zera w pierwszych dwu aktywacjach, a do niskich wysokości w następnych trzech. U dołu reobazy — w jednostkach dowolnych — bezpośrednio po aktywacji, mają one wartość normalną, wzrastają szybko w miarę zmniejszania się mechanogramu i urywają się, nie osiągając nawet podwójnej wartości normalnej. Gdy wysokość skurczów nie spada do zera, wzrost reobaz jest jeszcze mniejszy.

Fig. 6. Expt. 22—VI. Influence of activating tetanus stimulations on the mechanogram and rheobase of a preparation, in which indirect excitability disappeared after injection of Mg. Abscissae: time in mins. from the moment of the introduction of magnesium. The perpendicular lines represent activating tetani lasting about 15 seconds. Upper part: tension of twitches in mm, of myograph deflection. Maximum values appear immediately after tetanus, with a rapid drop to zero in the first two activations, and to low levels in the following three. Lower part: rheobases in arbitrary units. Immediately after activation, they have a normal value, then rapidly rising with decrease of mechanogram and break off without even attaining double the normal value. When the level of the twitches does not drop to zero, the increase in the rheobases is still smaller.

Ponieważ zmiany reobazy nerwowej przy dożylnym wprowadzaniu magnezu zachodzą często z wielką szybkością, niezbędne są w tym miejscu pewne uwagi metodyczne, dotyczące pomiarów chronaksji w takich przypadkach. Wiadomo, że między oznaczeniem reobazy i chronaksji upływa pewien czas, którego wymagają kolejne próby, mające na celu ustalenie wartości tej ostatniej. W przypadkach, gdy chronaksja utrzymuje się na mniej więcej stałym poziomie, można ją oznaczyć w 2—3 próbach, co trwa bardzo krótko. Gdy natomiast chronaksja zmienia się znacznie, znalezienie jej wymaga zazwyczaj dłuższego czasu (1-ej minuty i więcej), co jest zrozumiałe, gdy się weźmie pod uwagę konieczność szeregowania prób od podprogowych do progowych. Jeżeli w ciągu tego okresu reobaza uległa zmianie, znaleziona po wielu próbach chronaksja nie jest już oznaczona prawidłowo: w czasie szybkiego wzrostu reobazy, dokonywany pomiar chronaksji opiera się na liczbie mniejszej od właściwej w tym momencie reobazy, wskutek czego otrzymana wartość chronaksji jest wyższa od prawdziwej. Odwrotnie, w czasie szybkiego zmniejszania się reobazy pomiar chronaksji opiera się na liczbie większej, niż odpowiadająca tej chwili reobaza i wskutek tego otrzymana wartość chronaksji jest niż-

sza od rzeczywistości. Jeżeli natychmiast po znalezieniu takiej nieprawidłowej chronaksji oznaczyć ponownie reobazę, można skorygować otrzymaną chronaksję. Ponowne oznaczenie reobazy trwa zazwyczaj zupełnie krótko, może być ono zatem uważane za jednoczesne z pomiarem chronaksji. Mając właściwą wartość reobazy w danej chwili, wartość reobazy z poprzedniej chwili i nieprawidłową wartość chronaksji, opartą na tej ostatniej, można z łatwością, choćby zapomocą wzoru hiperbolicznego, obliczyć właściwą wartość chronaksji dla chwili faktycznego jej pomiaru.

Jeżeli reobazę otrzymaną w chwili t_1 , oznaczymy przez b_1 chronaksję znaną w chwili t_2 , późniejszej od t_1 , a opartą na tej reobazie — przez τ_1 , reobazę zaś w chwili t_2 — przez b_2 , wówczas wzór hiperboliczny dla chwili t_2 będzie: $2b_1 = \frac{a}{\tau_1} + b_2$, skąd $a = \tau_1 (2b_1 - b_2)$. Dzieląc obydwie strony równania przez b_2 otrzymujemy rzeczywistą chronaksję w chwili t_2 :

$$\tau = \frac{2b_1 - b_2}{b_2} \cdot \tau_1$$

Budując krzywe, w chwilach odpowiadających szybko zmieniającej się reobazie, uwzględnialiśmy tak właśnie skorygowane chronaksje. Punkty takie oznaczyliśmy na wykresie kółkami przekreślonymi nakrzyż, w odróżnieniu od punktów, otrzymanych bezpośrednio z pomiaru.

Inne źródło błędu, mogące wypaczyć pomiary, związane jest z pewną, często niedocenianą własnością włókna nerwowego. Chodzi mianowicie o to, że prądy długotrwałe i silne, wielokrotnie przewyższające reobazę, wywołują w nerwie zamiast pojedynczej salwy impulsów, kilkakrotną salwę, która może wywołać drgniecie mięśnia przez działanie tężcowe, wówczas gdy niema już pobudliwości pośredniej dla pojedynczych impulsów. W protokołach różnych autorów często znaleźć można błędne oznaczenia, wywołane przez przeoczenie tej właściwości.

Przed właściwym doświadczeniem można wrażliwość preparatu na silne i długotrwałe bodźce „wyecchować” w ten sposób, że rejestruje się wysokość mechanogramu, wzmacniając stopniowo prąd. Przez pewien czas bodźce ponadmaksymalne wywołują zwyczajne skurcze maksymalne, przy dalszym jednak wzmacnianiu zjawiają się sporadycznie, obok normalnych skurczów maksymalnych, skurcze o wiele większe — odpowiadające tężcom 2 — 3 impulsowym. Przy jeszcze silniejszym wzroście natężenia prądu obserwuje się już prawie wyłącznie skurcze tężcowe. Interpretując wyniki, należy mieć te fakty zawsze na uwadze. W naszym przypadku sprawa nie przedstawia żadnych trudności, gdyż pobudliwość pośrednia znika w chwili, gdy prądy reobazowe są jeszcze o wiele niższe od takich, które wywołują impulsy seryjne.

3. Zależność między reobazą a wysokością skurczów maksymalnych.

Jak wspomniano poprzednio, we wszystkich prawie doświadczeniach niniejszej serji rejestrowano wysokość skurczów mięśniowych maksymalnych równoległe do pomiarów pobudli-

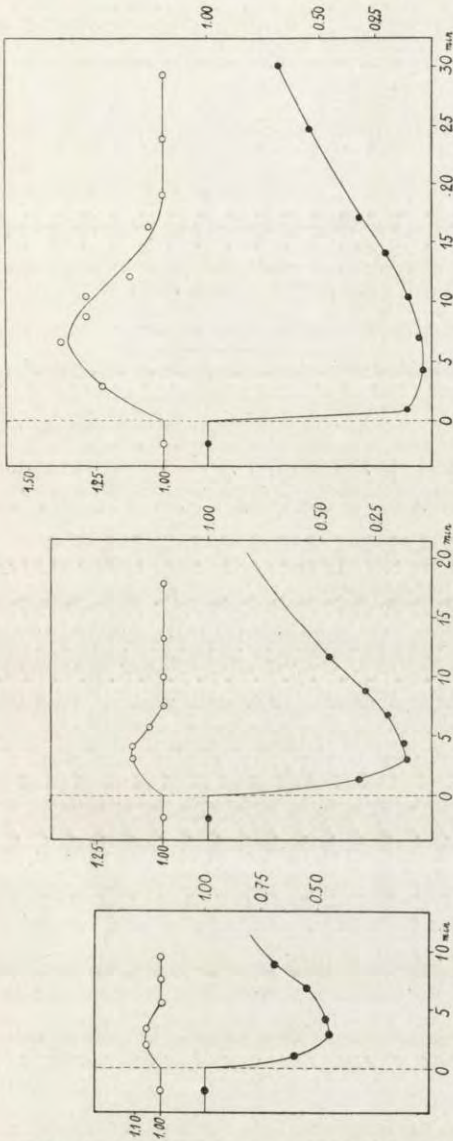
wości. Skurcze maksymalne wywoływano przez drażnienie nerwu bądź prądami obwodu lampy neonowej, bądź wyładowaniami kondensatora o dużej pojemności i odpowiednio dobranym napięciu. Takie próbki wysokości skurczów, otrzymane między pomiarami pobudliwości, umożliwiały każdorazowo orientację co do stadium działania magnezu.

Należy zaznaczyć, że magnez, wpływając w znacznym stopniu na wysokość skurczów maksymalnych, nie zmienia w żadnym kierunku samego progu tych skurczów. Jeżeli więc dany prąd wywoływał przed zastrzykiem magnezu skurcz maksymalny, będzie on również wywoływał skurcz maksymalny podczas działania magnezu i wskutek tego niema potrzeby nastawiać obwodu drażniącego na inne (mocniejsze) wyładowania.

Związek między zmianami wysokości skurczów a zmianami reobaz i chronaksyj nerwu ruchowego nie okazał się tak prosty, jak się tego można było spodziewać. Jak widać na rys. 3 i 4, wysokość skurczów maksymalnych zmniejsza się wraz ze wzrostem reobazy, a minimum skurczów przypada na moment najwyższego jej wzrostu (i największego spadku chronaksji), po czym następuje powolne zwiększenie się miogramu. Jeżeli jednak idzie o stosunki ilościowe, wiążące zmiany pobudliwości i mechanogramu, doświadczenia przedstawione na rys. 3 i 4 nie są typowe, gdyż zmiany reobazy były u tego zwierzęcia wyjątkowo duże (por. tab. II). W przeważającej większości przypadków przebieg zjawisk przedstawia się inaczej. Zmniejszonym wskutek działania magnezu skurczom maksymalnym zazwyczaj odpowiadają jeszcze normalne reobazy. Podobnie dzieje się również w okresie ustępowania „narkozy”: reobaza wraca do normy znacznie wcześniej, niż skurcze maksymalne, tak że normalnej wartości reobazy odpowiadają nieraz skurcze kilkakrotnie zmniejszone. Przytaczamy poniżej krzywe, ilustrujące typowy przebieg zmian reobazy i mechanogramu po 3-ch kolejnych zastrzykach magnezu. Zakłócenia obu badanych wielkości wzmacniają się i przedłużają po każdym zastrzyku. Za każdym razem reobaza wraca do normy, wówczas gdy mechanogram nie osiągnął nawet połowy wartości wyjściowej.

Widzimy więc, że przy zmianach stanu preparatu nerwowomięśniowego, doprowadzających do obniżenia normalnej czynno-

ści o 50 lub o większy procent, reobaza nie zmienia się wcale. Zmiany tej wielkości występują dopiero przy jeszcze głębszych



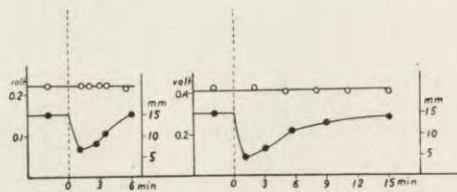
Rys 7. Dośw. 28—II—III—IV. Zmiany, reobazy a wysokość skurczów maksymalnych. 3 kolejne zastrzyki magnezu o coraz większym nasileniu efektu nerwowo-mięśniowego. Na osi odczytanej — czas w minutach. Na osi rzędnych z lewej strony — reobazy; wartość przed zastrzykiem przyjęto za 1. Z prawej strony wysokość skurczów maksymalnych. Wysokość skurczu przed zastrzykiem przyjęto za 1. Powrót reobazy do normy jest o wiele szybszy, niż powrót mechaniczemu.

Fig. 7. Expt. 28—II—III—IV. Nerve rheobase and tension of maximal twitches. Three successive injections of magnesium. Increasing effect on neuromuscular preparation. Abscissae: time in minutes. Ordinates: on the left side — rheobases (the value of rheobase before injection has been taken as 1); on the right side — the tension of maximal twitches (initial tension has been taken as 1). The return of rheobase to the normal level is much quicker than this of mechanogram.

zaburzeniach. Znaczenie tego faktu będzie wyjaśnione w dalszej części tej pracy.

Brak odpowiedniości między krzywą reobaz i krzywą wysokości skurczów maksymalnych, stanowiącą znacznie „czulszy” wskaźnik zmian preparatu pod wpływem magnezu, tłumaczy, dlaczego w niektórych przypadkach, mimo skuteczności działania magnezu (widocznej na mechanogramie), reobaza nie uległa zmianie.

Doświadczenia tego typu przedstawione są na rys. 8.



Rys. 8. Dośw. 28-I i 30-I. Zmiany wysokości skurczów przy niezmienniej reobazie. Na osi odciętych — czas w minutach. Na osi rzędnych z lewej strony napięcia reobazowe w voltach; z prawej — wysokości skurczu w mm.

Fig. 8. Expts 28-I and 30-I. Changes of the tension of twitches the rheobase remaining constant after small dose of magnesium. Abscissae: time in minutes. Ordinates: on the left side—rebase in volts; on the right side—twitches in mm of myograph deflection.

Dotyczą one pierwszych, u danych zwierząt, zastrzyków magnezu, wywołujących efekt raczej lekki i dość szybko przemijający. Powoduje on jednak spadek miogramu w jednym przypadku poniżej $\frac{1}{3}$, w drugim — poniżej połowy wartości pierwotnej, nie wywołując zarazem żadnych zmian reobazy ani chronaksji.

4. Wyłączenie mięśnia spod działania magnezu.

Jak widać z dotychczas przedstawionych wyników, działanie magnezu na preparat nerwowo-mięśniowy cechują pewne stałe i wzajemnie ze sobą powiązane zmiany pobudliwości i przewodnictwa. Z jednej strony mamy do czynienia ze wzrostem reobazy i spadkiem chronaksji nerwowej, przyczem obie te wielkości zmieniają się w sposób zupełnie symetryczny; z drugiej stwierdzamy zmniejszenie skurczów, wywołanych przez drażnienie pośrednie. Przebieg zmian mechanogramu wykazuje jednak mniej ścisły związek ze zmianami reobazy i chronaksji, aczkolwiek nasilenie zaburzeń obu tych wielkości osiąga maksimum jednocześnie.

Było rzeczą ważną zbadać, które z obserwowanych zakłóceń czynnościowych należy przypisać składnikowi nerwowemu preparatu, a które mięśniowemu.

Przeprowadzono następujące doświadczenie. Zwierzęciu, które podczas kilku kolejnych zastrzyków magnezu wykazywało typowe zmiany pobudliwości nerwowej i wysokości miogramu, zamknięto przed dalszym zastrzykiem dostęp krwi do mięśnia, zakładając pean na odpowiednią tętnicę. Następnie wprowadzono normalną dawkę magnezu, wykonano zwykłą serję pomiarów reobazy i chronaksji nerwowej poczem zdjęto pean i wprowadzono jeszcze raz magnez.

Ponieważ doświadczenie to ma dla rozważanego zagadnienia duże znaczenie, przytaczamy szczegółowo odpowiednie ustępy protokołu.

Kot ♂, 3.600 kg, uśpiony Diałem. Ścięgno mięśnia piszczelowego przedniego wypreparowano i umocowano do miografu. Elektrody na nerwie strzałkowym.

Dośw. 29.V (przedstawione na rys. 4).

Godz.	Rh.	τ	Czas rejestracji miogramu	Wysokość miogramu mm
7 h 05'	12	41—43	7 h 9'	19
7 h 10'	Zastrzyk 4 cm ³ roztworu izotonicznego MgSO ₄ .7H ₂ O w ciągu 40". Odtąd czas mierzony od chwili zastrzyku			
			1'	7
1.5'	16	41 (kor. 30)		
3'	26	20—25	3.5'	0.2
5'	27	20	6'	2.5
7'	24	23		
8'	22	22 (kor. 26)	8.5'	3
10'	16	33	10.5'	4
11'	15	35		
12.5'	15	30 (kor. 34)		
14'	13	35	14.5'	5
17'	13	36	18'	8
<hr/>				
53'	10	49	55'	17

Dośw. 29.VI.

8 h 15' Zaciśnięto małym peanem tętnicę udową.

8 h 20' 9 45

8 h 23' 8 49 8 h 24' 19

8 h 25' Zastrzyk 4 cm³ roztworu izotonicznego MgSO₄·7H₂O w ciągu 40". Odtąd czas mierzony od chwili zastrzyku

			1'	18.5
2'	8	50	3'	19
3.5'	8	55	5'	18.5
6'	9	50	8.5'	17
10'	— zdjęto pean, wymasowano tętnicę			
12'	9	52	11'	9
			13'	9
14'	9	52	14.5'	12
17'	10	45		
<hr/>				
70'	10	44	75'	17

Dośw. 29.VII.

Godz.	Rh.	τ	Czas rejestracji miogramu	Wysokość miogramu mm
9 h 52'	10	50	9 h 53'	16
9 h 54'	Zastrzyk 4 cm ³ roztworu izotonicznego MgSO ₄ ·7H ₂ O w ciągu 30". Odtąd czas mierzony od chwili zastrzyku			
			1'	7.5
2.5'	15	30		
3'	18	35 (kor. 31)	4'	0.2
	20			
4.5'	25	25	5'	0.1
6'	Znikła pobudliwość pośrednia.			
8'	Zjawiają się skurcze ledwo dostrzegalne.			
9'	25	30		
10'	25	25	10.5'	0.2
12'	25	25—20		
	20			
14'	20	20 (kor. 22)	15'	0.5
	18			
17.5'	19	20 (kor. 23)	18'	2
	16			
20'	14	37		
21'	13	40	22.5'	4.5
	12			
25'	12	45	26'	6

Powyższy protokół wskazuje wyraźnie, że z chwilą niedopuszczenia magnezu do mięśnia, nie stwierdza się ani zmian reobazy i chronaksji nerwowej, ani zmian wysokości skurczów maksymalnych, chociaż warunki ukrwienia nerwu pozostają nie-

zmienne przez cały czas doświadczenia. Skurcze zmalowały natomiast z chwilą, gdy w 10 minut po zastrzyku wznowiono krążenie w mięśniu.

Wynik ten świadczy o tem, że w obrazie obwodowym „narkozy magnezowej” nerw ruchowy nie bierze żadnego udziału i że wszystkie, opisywane tu zaburzenia są związane ze zmianami stanu samego mięśnia. O ile zmiany reobazy nerwowej oraz mechanogramu skurczów maksymalnych łatwo mogą być wyjaśnione działaniem magnezu na sam mięsień, o tyle wytłumaczenie w ten sposób występujących regularnie w naszych doświadczeniach zmian chronaksji napotyka na większe trudności. Wiadomo bowiem, że chronaksja nerwowa jest miarą pobudliwości samego nerwu i, jak się ogólnie przyjmuje, na pomiar jej nie wpływa zupełnie stan efektora mięśniowego.

Wyjaśnienie źródeł tej pozornej sprzeczności będzie stanowiło przedmiot następných rozdziałów.

5. Analiza doświadczalna zmian wysokości skurczów oraz reobazy pod wpływem magnezu.

W poprzednim rozdziale stwierdziliśmy, że zaburzenia w przewodzeniu nerwowo-mięśniowym pod wpływem magnezu zależą wyłącznie od wpływu tego jonu na element mięśniowy. Obecne nasze zadanie polega na dokładniejszym wyjaśnieniu z tego punktu widzenia omówionych zaburzeń oraz ich wzajemnych zależności.

Najbardziej widocznym i czułym objawem działania magnezu na preparat nerwowo-mięśniowy jest zmniejszenie wysokości skurczów mięśniowych przy drażnieniu pośrednim, względnie ich zanik; pobudliwość bezpośrednia zostaje wówczas zachowana (w granicach stosowanych *in vivo* dawek). Zjawisko to należy wytłumaczyć w ten sposób, że magnez powoduje częściową dyzjunkcję czynnościową między włóknami nerwowymi i unerwionymi przez nie włóknami mięśniowymi, wskutek czego pod wpływem danego podrażnienia nerwu kurczy się mniejsza, niż zazwyczaj, ilość włókien mięśniowych¹⁾. Im roz-

¹⁾ Możliwe, że zachodzi tu również inne zjawisko, osłabienie pod wpływem magnezu siły skurczu poszczególnych włókien. Ewentualność ta nie ma istotnego wpływu na tok niniejszych rozważań, dlatego nie będziemy jej tutaj uwzględniali. Kwestja ta będzie poruszona gdzieś indziej.

leglejsza jest ta dyzjunkcja, t. j. im więcej włókien mięśniowych zostaje wyłączonych spod drażniącego wpływu impulsów nerwowych, tem niższe będą skurcze maksymalne, wywołane przez pobudzenie nerwu. Wysokość tych ostatnich stanowi zatem bezpośrednią miarę stanu czynnościowego preparatu.

W ściśłym związku ze zmniejszaniem się pod wpływem magnezu ilości czynnych włókien mięśniowych pozostaje poprzednio opisany wzrost reobazy. Jeżeli bowiem dla otrzymania najmniejszego dostrzegalnego skurczu mięśniowego trzeba w normalnych warunkach podrażnić pewną określoną ilość włókien nerwowych, a podczas działania magnezu podrażnienie każdego takiego włókna wywołuje reakcję mniejszej niż normalnie ilości włókien mięśniowych, to dla otrzymania takiej samej jak poprzednio (progowej) deformacji mięśnia, należy podrażnić więcej włókien nerwowych, wskutek czego reobaza wzrośnie. Wzrost ten będzie tem silniejszy, im bardziej mięsień jest „dziesiątkowany” przez magnez, t. j. im więcej włókien nerwowych musi być objętych drażnieniem, aby uzyskać progowy skurcz mięśnia.

Jeżeli zatrucie preparatu magnezem jest tak silne, że nawet podrażnienie wszystkich włókien nerwowych nie wystarcza, aby wywołać dostrzegalny skurcz mięśnia, otrzymujemy zanik pobudliwości pośredniej i dalsze podwyższanie siły drażnienia nerwu pozostaje oczywiście bezskuteczne (chyba, że prąd drażniący jest tak silny, że wywołuje wielokrotne impulsy). Reobazy urywają się.

Ponieważ wynikiem podrażnienia wszystkich ruchowych włókien nerwowych jest skurcz maksymalny, przeto granicą wzrostu reobazy powinien być najslabszy prąd, który w normalnych warunkach wywołuje taki właśnie skurcz. Bodziec taki znajdowaliśmy, wzmacniając stopniowo prąd drażnienia i rejestrując wysokości wywołanych przez nie skurczów, aż do osiągnięcia wartości prądu, które nie wywoływały już dalszego wzrostu reakcji mięśniowej. Najniższa z takich wartości stanowiła próg skurczów maksymalnych. Można go było następnie porównać z najwyższą reobazą, znaną po wprowadzeniu magnezu. Wyniki te są zestawione w tabeli III-ej.

Tabela III.

Najwyższa reobaza po magnezie a próg skurczów maksymalnych.

Highest rheobase after Mg injection and threshold of maximal twitches.

Nr. dośw. <i>Nr. of expt.</i>	Reobaza przed zastrzykiem <i>Rheobase before injection</i>	Próg skurczów maksymalnych <i>Threshold of ma- ximal twitches</i>	Najwyższa reo- baza po Mg <i>Highest rheobase after injection of Mg</i>	Stosunek najwyższej reobazy do progu skurczów maksym. <i>Ratio: Highest rheobase Threshold of maximal twitches</i>
23 — I	16	24	21	0.87
25 — I	27	37	30	0.81
25 — II	28	43	33	0.77
25 — III	33	42	40	0.95
26 — I	16	24	21	0.87
28 — III	18	30	20	0.67
28 — IV	18	34	25	0.74
28 — V	19	34	32	0.94
28 — VI	19	32	26	0.81
29 — I	20	40	27	0.67
29 — III	17	37	31	0.84
29 — IV	16	38	34	0.89
29 — V	14	38	27	0.71
29 — VII	10	27	25	0.92
30 — III	9	19	15	0.79
30 — IV	14	25	20	0.80
30 — V	13	25	21	0.84
31 — I	27	50	43	0.86
31 — II	45	80	57	0.71

Jak widać, liczby w czwartej rubryce są zawsze mniejsze niż liczby w rubryce trzeciej, zbliżając się do nich mniej lub bardziej, przyczem zbliżenie to jest największe w przypadkach, w których występował zanik pobudliwości pośredniej. Wynik powyższy wskazuje na to, iż rzeczywiście górną granicą wzrostu reobaz w preparacie zatrutym magnezem jest próg skurczów maksymalnych.

Tak więc w świetle powyższych rozważań zarówno spadek wysokości skurczów maksymalnych pod wpływem magnezu, jak i wzrost reobazy obserwowany w tych warunkach stają się zrozumiałe: o ile pierwsza z tych zmian jest objawem zdziśiatkowania czynnościowego mięśnia, o tyle druga jest miarą zwiększenia liczby włókien nerwowych, które muszą być podrażnione dla otrzymania skurczu progowego. Oczywiście, między obydwoma temi wielkościami istnieje głęboka zależność. Dokładniejszym omówieniem tej zależności zajmiemy się w dyskusji.

6. Analiza doświadczalna zmian chronaksji nerwowej pod wpływem magnezu.

Oznaczmy ilość włókien nerwowych, niezbędnych w normalnych warunkach do wywołania progowego skurczu mięśniowego, przez k , przez k_1 ($> k$) zaś ilość włókien nerwowych, wywołujących przy podrażnieniu taki sam skurcz podczas „narkozy magnezowej”.

Ponieważ, jak stwierdziliśmy w rozdziale 4., pobudliwość samego nerwu pod wpływem magnezu nie ulega zmianom, przeto pomiary chronaksji nerwowej w normie i w warunkach „narkozy” tem się tylko różnią od siebie, że za podstawę pierwszego z tych pomiarów przyjmujemy drażnienie k włókien nerwowych, podstawą drugiego pomiaru natomiast jest drażnienie k_1 tych włókien. O ile bowiem w normalnych warunkach podrażnienie k włókien nerwowych wystarczy do spostrzeżenia wywołanej reakcji mięśniowej, o tyle podczas „narkozy”, wskutek zdziśiatkowania czynnościowego mięśnia, aby reakcja była dostrzegalna, trzeba użyć więcej włókien nerwowych — t. j. ilość k_1 .

A priori niema żadnej racji przypuszczać, że chronaksja mierzona dla k włókien jest inna, niż chronaksja mierzona dla k_1 włókien. Jeżeli bowiem przyjmiemy nawet, że nie wszystkie włókna ruchowe nerwu mają jednakową chronaksję, to nie mamy powodu sądzić, że te włókna, do których podrażnienia potrzeba silniejszego prądu (co zależy m. in. od warunków anatomicznych i od ustawienia elektrod), miałyby mieć inną szybkość pobudliwości niż włókna, dające się podrażnić prądami słabszemi.

Sprawa ta nie była, o ile nam wiadomo, systematycznie badana, a ponieważ ma ona dość duże znaczenie dla wyjaśnienia zajmującego nas tu zagadnienia, uważaliśmy za konieczne zająć się nią dokładniej.

Postępowanie nasze było następujące: najpierw oznaczano w zwykły sposób reobazę i chronaksję progową. Potem, stopniowo wzmacniając siłę prądu długotrwałego, ustalano zależność między tą siłą a wysokością otrzymywanych skurczów. Następnie, w zakreślonych w ten sposób ramach, obierano pewne wysokości skurczów, szukano dla nich reobazy i określano chronaksję tak, aby wysokość skurczu wywołana przez prąd

chronakcyjny była równa wysokości obranego skurczu, wywołanego przez prąd reobazowy. Okazało się, że pomiary takie można wykonywać niemniej precyzyjnie, niż pomiary reobazy i chronaksji progowej. Pomiar uważano za wykonany wówczas, gdy skurcze otrzymane przy drażnieniu prądem reobazowym, prądem chronakcyjnym i znowu prądem reobazowym, były dokładnie jednakowej wysokości.

Przytaczamy opis pierwszego wykonanego w ten sposób doświadczenia.

Doświadczenie 23. Kot σ wagi 3 kg, uśpiony Diałem. Wypreparowano mięsień smukły lewej strony i umocowano do miografu. Elektrody umieszczono na nerwie zaślonowym, odłączonym od ośrodków przez ligaturę. Skurcz progowy mięśnia przy stosowaniu prądów długotrwałych ($C = 1 \mu F$) otrzymano przy napięciu 0.32 v. Następnie, podwyższając stopniowo napięcie co 0.02 v, zapisywano wzrastające skurcze mięśniowe, dochodząc do 0.64 v t. j. do podwójnej reobazy, poczem w ten sam sposób powrócono znów do napięcia 0.32 v. Stwierdzono, że najniższe napięcie, wywołujące skurcz maksymalny, wynosi 0.50 v. Wysokość takiego skurczu równa się, przy stosowanej amplifikacji, 10 mm.

Pomiary pobudliwości nerwowej dla skurczów różnej wysokości dały następujące wyniki.

Czas	Wysokość skurczu (wychylenia miogramu w mm.)	Rh	τ	Rh
8 h 45'	progowa	16	24	16
8 h 46'	5.5	22	16	22
8 h 48'	9.5	24	14	24
9 h	progowa (1 mm)	< 17	25	17
9 h 5'	5.5	22	17	22
9 h 10'	9	25	14	25

Jak widzimy, chronaksje oznaczane dla skurczów rozmaitej wysokości, implikujących drażnienie różnej ilości włókien nerwowych, bynajmniej nie są jednakowe i wykazują znaczne różnice, zmniejszając się tem bardziej, im większe skurcze bierzemy jako podstawę pomiarów, a więc im silniejszy jest prąd reobazowy. Następne doświadczenia potwierdziły wyniki te w całej pełni. Powyższy wynik daje klucz do wyjaśnienia mechanizmu zmian chronaksji nerwowej pod wpływem magnezu, gdyż w pomiarach chronaksji dokonywanych w warunkach „narkozy” opieramy się również na drażnieniu większej niż w normie

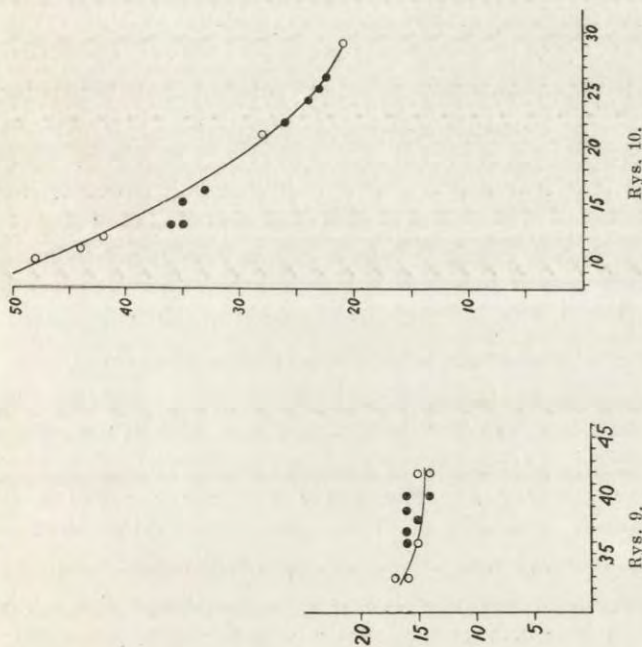
ilości włókien nerwowych i w tych warunkach również chronaksja okazuje się zmniejszona i to tem bardziej, im więcej włókien nerwowych trzeba podrażnić, aby otrzymać reakcję.

Ażeby dokładniej sprawdzić otrzymaną tu zgodność, należało po odpowiednim „wycechowaniu” preparatu nerwowo-mięśniowego, wykonaniem jak w przytoczonym doświadczeniu 23, zastrzyknąć zwierzęciu magnez. Ponieważ trudno było zgóry przewidzieć, do jakiego stopnia pod wpływem magnezu podniesie się reobaza, „wycechowanie” wykonywaliśmy w ten sposób, że oznaczaliśmy zazwyczaj 3 wartości chronaksji: chronaksję progową, chronaksję skurczów mniej więcej półmaksymalnych i chronaksję skurczów zbliżonych do maksymalnych. Dawało to dostateczne pojęcie o zakresie zmian chronaksji w zależności od ilości drażnionych włókien nerwowych.

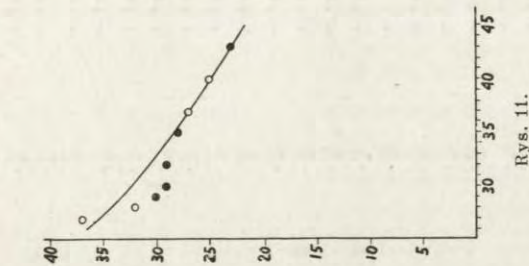
Doświadczeń tego rodzaju przeprowadziliśmy ogółem 24 i we wszystkich mogliśmy stwierdzić całkowitą zgodność między wartościami chronaksyj nadprogowych, oznaczonymi przy rozmaitych reobazach w normie, a chronaksjami progowymi, opartymi na tych samych reobazach i otrzymanymi podczas działania magnezu.

Dla ilustracji podajemy wykresy czterech doświadczeń, wykonanych na różnych preparatach (25.III, 29.V, 30.V i 31.I). Wykresy te przedstawiają chronaksje w funkcji reobaz zarówno przed jak i po zastrzyku magnezu. Chronaksje skurczów rozmaitej wysokości (od progowych do prawie maksymalnych) przedstawione są w postaci kółek; posiadają one tem mniejsze wartości, im większa reobaza wzięta jest jako podstawa pomiaru. Stromość krzywych jest rozmaita: na rys. 11 (dośw. 30.V) spadek chronaksyj w miarę wzrostu reobaz jest największy, podczas gdy na rys. 9 (dośw. 25.III) ledwie się zaznacza.

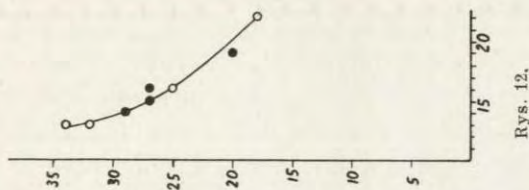
Kólkami pełnymi oznaczono wartości chronaksyj progowych, znalezione podczas zatrucia preparatu magnezem. Widzimy, że układają się one na wyprowadzonej dla chronaksyj nadprogowych krzywej lub w pobliżu jej, nie oddalając się od niej więcej, niż o parę procent swej wartości. Tam, gdzie krzywa chronaksyj wykazuje silny spadek (rys. 10 i 12), otrzymujemy też silny spadek chronaksyj po zastrzyku magnezu; w przypadkach natomiast, gdy w normie przy wzroście reobazy chronaksja ma-



Rys. 9.



Rys. 10.



Rys. 11.

Rys. 9, 10, 11 i 12. Dośw. 25—III, 29—V, 30—V, 31—I. Chronaksje w funkcji reobaz przed zastrzykiem i po zastrzyku magnezu. Na osi odciętych: napięcia reobazowe w pięćdziesiątych volta. Na osi rzędnych: pojemności chronaksyjne w tysięcznych mikrofarada. Kółka puste oznaczają chronaksje progowe i nadprogowe przed zastrzykiem. Kółka pełne oznaczają chronaksje progowe po zastrzyku. Liniję przeprowadzono przez punkty chronaksyj przed zastrzykiem. Wartości chronaksyj po zastrzyku układają się w pobliżu tej linii.

Fig. 9, 10, 11 and 12. Expts. 25—III, 29—V, 30—V, 31—I. Relation between rheobase and chronaxie of nerve before and after injection of magnesium. The circles represent chronaxies of threshold and submaximal responses before injection. The black circles represent chronaxies of threshold responses after injection. The curves are drawn referring to chronaxie values before injection, Chronaxie values after injection are on or in the vicinity of these curves.

leje nieznacznie, po zastrzyku magnezu pozostaje ona również niemal bez zmiany. Tak więc między zmianami chronaksyj pod wpływem magnezu i chronaksjami nadprogowymi, opartymi na tej samej reobazie, istnieje w granicach błędu doświadczalnego zadziwiająca zgodność. Pozwala ona przewidywać z ustalonych wartości chronaksyj nadprogowych w normie zmiany, które zajdą pod wpływem magnezu.

Dyskusja.

Wyniki omawianych tu doświadczeń doprowadziły do stwierdzenia, że sole magnezowe, stosowane dożylnie, wywołują w preparacie nerwowo-mięśniowym *in situ* zaburzenia czynnościowe, dotyczące wyłącznie elementu mięśniowego. Obserwowane zmiany chronaksji nerwu, aczkolwiek występują w sposób bardzo regularny są, w gruncie rzeczy, pozorne i związane ze zmianą warunków pomiarów, spowodowaną przez wprowadzenie magnezu. Do wniosków tych doszliśmy dwiema niemal niezależnymi od siebie drogami: z jednej strony ustaliliśmy, że niedopuszczenie magnezu do mięśnia usuwa wszelkie objawy działania tego jonu na dany zespół nerwowo-mięśniowy, nie wyłączając zmian chronaksji nerwowej; z drugiej strony stwierdziliśmy, że wszystkie obserwowane tu zaburzenia czynności preparatu mogą być ilościowo wytłumaczone, przy założeniu, że magnez wskutek zmian wywołanych w samym mięśniu, upośledza przechodzenie pobudzenia z włókien nerwowych na mięśniowe.

Z założenia tego wynika po pierwsze, że wzrostowi reobazy powinien zawsze towarzyszyć spadek wysokości skurczów maksymalnych, gdyż obydwie te zjawiska są przejawem zdziśiatkowania czynnościowego włókien mięśniowych. Po drugie, że w chwili zanikania pobudliwości pośredniej reobaza nie rośnie nieograniczenie, lecz zbliża się do pewnej wartości granicznej, którą jest „próg skurczów maksymalnych”, t. j. najniższy prąd, wywołujący podrażnienie wszystkich ruchowych włókien nerwowych. Po trzecie, że pomiary chronaksji w warunkach działania magnezu odpowiadają pomiarom chronaksyj nadprogowych w warunkach normalnych. Ponieważ, jak stwierdziliśmy doświadczalnie, chronaksje nadprogowe są mniej-

sze od progowych i to tem mniejsze, im silniejszy skurcz mięśnia bierzemy za podstawę pomiarów, wobec tego chronaksje mierzone w czasie „narkozy” również muszą być zmniejszone i powinny się równać chronaksjom nadprogowym, opierającym się na takiej samej reobazie. Wszystkie te fakty zostały stwierdzone w opisanych tu doświadczeniach.

W rozdziale 3 ustaliliśmy, że zależność między zmianami reobazy i wysokości skurczów maksymalnych pod wpływem magnezu jest jednostronna: zmianom reobazy zawsze towarzyszą zmiany wysokości skurczów maksymalnych, ale nie naodwrot: wyraziliśmy to mówiąc, że mechanogram skurczów maksymalnych jest czulszym wskaźnikiem działania magnezu niż reobaza. Fakt ten postaramy się obecnie wytłumaczyć.

Jak wiadomo, mięśnie tylnych kończyn kota są naogół unerwione w ten sposób, że jedno ruchowe włókno nerwowe zaopatruje 100—200 włókien mięśniowych, tworząc jednostkę motoryczną, działającą jako jedna całość, zgodnie z zasadą „wszystko — albo nic”. Wynika stąd, że stopniowo wzrastające drażnienie pośrednie będzie wywoływało reakcję mięśniową wzrastającą nie w sposób ciągły, lecz stosunkowo dużymi skokami, odpowiadającymi sile skurczu conajmniej jednej jednostki motorycznej.

Jak wynika z badań Creed'a, Denny Brown'a, Eccles'a, Liddella i Sherrington'a ('32), w mięśniu piszczelowym przednim podrażnienie jednego włókna nerwowego wywołuje skurcz izometryczny o napięciu około 2 g, a zatem prawdopodobnie już dostrzegalną deformację mięśnia. Deformacja ta wcale nie musi być w ścisłym znaczeniu tego słowa „progową” (t. j. najmniejszą dostrzegalną). Podobnie, jeżeli przypuścimy, że nie możemy dostrzec reakcji wywołanej przez drażnienie jednego włókna, lecz dostrzegamy skurcz, wywołany przez drażnienie paru włókien nerwowych, skurcz taki również może być „nadprogowy” w tym sensie, że potrafilibyśmy zauważyć skurcz nieco mniejszy — lecz przy drażnieniu pośrednim nie możemy go wywołać. Powyższym stanem rzeczy tłumaczy się fakt, że reobaza nerwowa w normalnych warunkach jest tak łatwo uchwytana i że granica między „jeszcze niedostrzegalnym” i „już dostrzegalnym” jest dość ostra.

Pod wpływem magnezu część włókien mięśniowych zostaje wyeliminowana z czynności, wobec czego zmniejszają się zarówno skurcze, wywołane przez podrażnienie jednego włókna, jak i „skoki” między wysokościami różnych skurczów. „Skoki” te stają się tem mniejsze, im mniej czynnych włókien mięśniowych pozostało do dyspozycji każdego włókna nerwowego. Dostrzegalne progi skurczów stają się więc bardziej subtelne, bardziej zbliżone do najmniejszych dostrzegalnych progów, a zarazem mniej wyraźne, płynniejsze i w większym stopniu zależne od spostrzegawczości obserwatora.

Łatwo wykazać, że powyższe stosunki zdają całkowicie sprawę z opisanej wyżej asymetrii w stosunku między zmianami reobazy i wysokości skurczów maksymalnych. Przypuśćmy w tym celu, że skutek działania magnezu w każdej jednostce motorycznej przeciętnie 20 procent włókien mięśniowych przestaje reagować na drażnienie pośrednie¹⁾). Wysokość mechyogramu skurczów maksymalnych zmniejsza się wówczas o tyleż procent. Wysokość skurczu progowego zmniejszy się oczywiście również o 20%, lecz nie znaczy to wcale, aby skurcz taki przestał być przez to dostrzegalny, a nawet, by różnica między nim i skurczem poprzednim była uchwytana. Wynika stąd, że reobaza pozostanie w tych warunkach niezmienną. Wzrośnie ona dopiero wówczas, gdy ilość kurczących się włókien zmniejszy się znacznie i dla dostrzeżenia deformacji mięśnia trzeba będzie podrażnić więcej włókien nerwowych. Gdyby zmiany reobazy były wyrazem zakłóceń pobudliwości samych włókien nerwowych (lub wogóle były związane z warunkami drażnienia nerwu), obraz zaburzeń w czynności preparatu byłby zupełnie inny. Wzrost reobazy byłby wówczas zjawiskiem pierwotnym i występował odrazu, jednocześnie z nim zaś występowałby również wzrost progów skurczów maksymalnych, który w naszych warunkach pozostaje cały czas niezmienny. Wysokość skurczów maksymalnych nie zmniejszałaby się natomiast wcale, chyba że pewne włókna nerwowe stałyby się zupełnie niebudliwie.

W ten sposób wszystkie obserwowane zmiany w czynności preparatu i ich wzajemne zależności dają się bez reszty wy-

¹⁾ Zakładamy tu, że magnez mniej więcej jednakowo poraża wszystkie jednostki motoryczne.

jaśnić przy założeniu, że magnez wpływa jedynie na element mięśniowy.

Co się tyczy występującej w naszych warunkach doświadczalnych rozbieżności między chronaksjami skurczów progowych i nadprogowych, która spełniła ważną rolę w analizie obserwowanych pod wpływem działania magnezu zmian chronaksji, to odgrywa ona w zagadnieniu tutaj omawianem pomocniczą rolę i dlatego nie będzie obecnie dokładniej rozważana. Należy jednak zauważyć, że zjawisko to ma znaczenie ogólniejsze i może w zakresie zagadnień pokrewnych wpływać na mylną interpretację wyników. Dotyczy to w pierwszym rzędzie pewnych kuraryzacji, przy których badaniu należy mieć w pamięci możliwość opisanego tu mechanizmu. Każdy spadek chronaksji nerwowej, któremu ściśle towarzyszy wzrost reobazy, uprawnia właściwie do podejrzeń, że obserwowane zmiany chronaksji są tylko pozorne i nie świadczą wcale o zmianach pobudliwości włókien nerwowych.

Podajemy zespół czynników, które mogą stanowić kryterjum takiego właśnie mechanizmu. Jeżeli granicą wzrostu reobazy jest najslabszy prąd, wywołujący skurcz maksymalny, jeżeli mechanogram skurczów maksymalnych maleje wraz ze wzrostem reobazy (lub wcześniej), przyczem próg maksymalności pozostaje bez zmiany i jeżeli wreszcie zmiany chronaksji pozostają zgodne z opartymi na odpowiednich reobazach chronaksjami ponadprogowymi nerwu normalnego, wówczas mamy podstawę do twierdzenia, że pobudliwość włókien nerwowych nie ulega zmianie, a otrzymane zmiany chronaksji nerwu są pozorne.

Wnioski.

Sole magnezowe, wprowadzone do krwiobiegu drogą zastrzyku dożylnego, wywołują, oprócz poprzednio opisanych, następujące zmiany odwracalne w preparacie nerwowo-mięśniowym *in situ*:

1°. Wzrost reobazy nerwu. Posiada on wyraźną granicę, nieco niższą naogół niż podwojona wartość wyjściowa reobazy. Granica ta nie jest nigdy przekroczona, nawet w okolicznościach, powodujących zanik pobudliwości pośredniej. Stanowi

ją najśłabszy prąd, wywołujący skurcze maksymalne. („Próg skurczów maksymalnych”).

2°. Chronaksja nerwu maleje. Zmiany jej są dokładnie symetryczne w stosunku do zmian reobazy; zarówno stan największego wychylenia, jak i powrót do normy obu tych wielkości są zupełnie jednoczesne. Zmiany chronaksji nie występują nigdy bez towarzyszących im zmian reobazy.

3°. Wysokość skurczów mięśniowych, wywołanych przez drażnienie pośrednie, maleje. Zmiany te nie przebiegają równoległe do zmian pobudliwości, aczkolwiek są największe w okresie największego nasilenia tych ostatnich. Wysokość skurczów maksymalnych stanowi bardziej czuły wskaźnik działania magnezu na preparat nerwowo-mięśniowy niż pobudliwość, gdyż występuje przy dawkach nie powodujących jeszcze żadnych zakłóceń tej ostatniej. Przy dawkach większych zmiany mechnogramu występują wcześniej i trwają dłużej, niż zmiany pobudliwości nerwowej.

4°. Pomiary chronaksyj dla skurczów nadprogowych dają w naszych warunkach doświadczalnych wartości mniejsze niż pomiary, dotyczące skurczów progowych i to tem mniejsze, im wyższa jest wartość obranej reobazy. Zmiany zarówno reobaz jak i chronaksyj, obserwowane po wprowadzeniu magnezu, układają się w ramach zmian obu tych wielkości, oznaczonych dla skurczów nadprogowych różnych wysokości.

5°. Żadne z opisanych tu zmian nie występują, jeżeli przed wprowadzeniem magnezu zamknąć dostęp krwi do mięśnia, pozostawiając bez zmiany warunki ukrwienia nerwu. Wynika stąd jasno, że zmiany te są w istocie związane ze zjawiskami zachodzącymi w samym mięśniu.

6°. Całokształt przedstawionych tu faktów daje się wyjaśnić ilościowo przy założeniu, że magnez działa na preparat nerwowo-mięśniowy, wyłączając mniejszą lub większą ilość włókien mięśniowych spod wpływu pobudzeń, pochodzących z impulsów nerwowych. Nasuwa się konieczność rewizji wyników, dotyczących zmian pobudliwości nerwowej przy niektórych innych kuraryzacjach.

P i ś m i e n n i c t w o .

Arvanitaki A. et Cardot H. 1931. Action du magnésium sur l'excitabilité du myocarde ventriculaire de l'Escargot et de la Grenouille. C. R. Soc. Biol. 106, (1024). — Briscoe G. and Leyshon W. 1929. Reciprocal contraction of antagonistic muscles in peripheral preparation, using flashing neon-lamp circuit for excitation of nerve. Proc. Roy. Soc. B, 105, (259). — Creed R. S., Denny-Brown D., Eccles J. C., Liddell E. G. T. and Sherrington C. S. 1932. Reflex activity of the spinal cord. Oxford. Clarendon Press. — Lubińska L. 1933. Essai d'analyse de la „narcose magnésienne”. I. Acta Biol. Exper. 8 (252). — Lubińska L. 1935. Essai d'analyse de la „narcose magnésienne”. II. Acta Biol. Exper. 9, (56). — Rosenberg H. 1936. Badania nad zjawiskami regulowania składu mineralnego cieczy ciała. III. O wpływie wprowadzonych do organizmu soli magnezowych na skład chemiczny surowicy. Acta Biol. Exper. (w druku). — Wodon J. L. 1931. Action de l'administration intraveineuse des sels calciques et magnésiens sur l'excitabilité neuro-musculaire périphérique chez le Mammifère. C. R. Soc. Biol. 106, (462).

[Physiologisches Institut der Josef Piłsudski - Universität in Warszawa].
Direktor: Prof. Dr. Fr. Czubałski.

Br. Zawadzki.

Über die gleichzeitige Wirkung zweier Elektrolyte auf die Viskosität von Eigelblösungen.

Eingegangen am 17. Juni 1936.

In einer vorherigen Arbeit ('33) stellte ich fest, dass NaCl, KCl, CaCl₂, MgCl₂, HCl und NaOH die Viskosität eines auf 50% verdünnten Eigelbes erhöhen, wobei die Abhängigkeit der Viskosität von der Salzkonzentration keine einfache ist, sondern bei wachsenden Konzentrationen zuerst ein lokales Maximum, dann ein Minimum und erst dann eine ständige Zunahme aufweist. Um Wiederholungen zu vermeiden, bemerke ich von vornherein, dass ich alle Konzentrationen von Elektrolyten in meiner Arbeit in Molen auf 1 Liter Eigelblösung angeben werde. Ein lokales Maximum tritt also bei Konzentrationen von etwa 0.2 M NaCl, KCl, und MgCl₂ sowie 0.1 M CaCl₂ ein; dagegen tritt ein lokales Minimum der Viskosität bei einer Konzentration von etwa 0.4 M für alle Salze ein, wobei jedoch die Viskosität der Eigelblösungen nach Zusatz von Salzen stets höher bleibt als ohne Salzzugabe. Bei weiterem Anwachsen der Salzkonzentration nimmt die Viskosität der Lösung ständig zu, anfangs langsam, nach Überschreitung von etwa 1.5 M verhältnismässig schnell.

Im vorliegenden Aufsatz habe ich die gleichzeitige Wirkung zweier Elektrolyte auf die Viskosität von 50%-igen Eigelblösungen geprüft. Es wurden Untersuchungen über Systeme angestellt, die folgende paarweise geordneten Elektrolyte enthalten: NaCl + HCl, NaCl + NaOH, CaCl₂ + HCl, CaCl₂ + NaOH und NaCl + CaCl₂.

Materialien und Methode.

Sowohl die zu meinen Untersuchungen angewandten Materialien als auch Prüfungsmethoden waren grundsätzlich identisch mit den im 1. Teil dieser Serie ('33) geschilderten, deshalb sehe ich davon ab, sie zu wiederholen. Ich möchte nur noch daran erinnern, dass ich das Hühnereigelb (*Gallus domesticus* L.) mit einer Flüssigkeit verdünnte, die ich „Verdünnungsflüssigkeit“ nannte und stets durch die Buchstaben V. F. bezeichne. Sie hatte folgende Zusammensetzung: 6.54 g KCl + 1.44 g NaCl + 1.18 g CaCl_2 + 1.05 g MgCl_2 + 1000 ccm Wasser. Nach Białasze wicz ('28) entspricht das Verhältnis der Konzentration der Kationen dieser Lösung der Intermizellarflüssigkeit des natürlichen, unverdünnten Eigelbs. Meine Versuche ('29) haben ergeben, dass auch der Gefrierpunkt dieser Flüssigkeit dem der Intermizellarflüssigkeit des Eigelbs entspricht.

Die Viskosität bestimmte ich im Viskosimeter nach Ostwald bei einer Temperatur von 38.0° unter zusätzlichem Druck von 600 und 800 mm Wasser.

Verlauf der Untersuchungen.

Unter Hinweis auf die im 1. und 2. Teil ('33, '35) eingehend behandelten Verhältnisse, löste ich die zugegebenen Elektrolyte zuerst in 5 ccm V.F. und dann erst gab ich diesen 5 ccm — 25 ccm Lösung, welche auf 100 g Eigelb 67.1 g V.F. enthielt.

Wie ich es im 1. Teil begründete, erhielt ich damals einen in 30 ccm des auf 50 Gewichtsprozent verdünnten Eigelbs gelösten Elektrolyt. Nur bei Untersuchungen über die gleichzeitige Einwirkung von CaCl_2 und NaOH löste ich die Salz in 3.5 ccm V.F., wenn die NaOH-Konzentration 0.05 M betragen sollte, — oder in 3.2 ccm V.F., wenn sie 0.06 M betrug. Dann gab ich 25 ccm eines im Verhältnis von 100:67.1 verdünnten Eigelbs zu und erst dann, nach gründlicher Mischung, gab ich entsprechend 1.5 oder 1.8 ccm n NaOH zu. Auf diese Weise erhielt ich, ähnlich wie bei anderen Versuchen, das Gesamtvolumen 30 ccm. Ich tat es aus dem Grunde, da nach Zusatz von CaCl_2 und NaOH zu V.F. das sonst schwer lösliches Ca(OH)_2 ausfiel und infolgedessen natürlich die Wirkung eine ganz andere wäre, als bei gesonderter Zugabe dieser Substanzen. Andererseits war der Zusatz von zuerst NaOH und dann CaCl_2 nicht möglich, da infolge des Zusatzes von NaOH die Viskosität der Lösung so stark wurde, dass CaCl_2 in dieser Lösung sich nicht gleichmäßig auflösen liess. Nach Zusatz von CaCl_2 bildeten sich Gelteilchen die in Milieu von geringerer Viskosität herumschwammen. Selbstverständlich konnte man unter diesen Umständen die Viskosität der Lösung nicht als Ganzes untersuchen.

Im Falle der gleichzeitiger Wirkung von NaCl und CaCl_2 , löste ich beide Elektrolyte in 5 ccm V.F., der ich dann 25 ccm der erwähnten Eigelblösung zusetzte. In allen übrigen Fällen ($\text{NaCl} + \text{HCl}$, $\text{NaCl} + \text{NaOH}$, $\text{CaCl}_2 + \text{HCl}$) gab ich zu 3.5 ccm oder 3.2 ccm V.F. — 1.5 oder 1.8 ccm der

normalen Lösung von Säure oder Lauge, sowie entsprechende Menge Salz zu, und dann nach einer gründlichen Durchmischung, gab ich 25 ccm eines im Verhältnis von 100:67,1 verdünnten Eigelbs zu.

Den weiteren Verlauf der Untersuchungen, sowie auch die Art der Berechnung von Ergebnissen, habe ich im 1. und 2. Teil besprochen.

Die Versuchsergebnisse.

Die Versuchsergebnisse über die gleichzeitige Wirkung von NaOH und NaCl ergibt die Tabelle I, über die gleichzeitige Wirkung von NaOH und CaCl₂ die Tabelle II. Die Zusammenstellung der Tabellen ist identisch mit der im 1. und 2. Teil angewandten, auch dort sind sie eingehend besprochen. Der Unter-

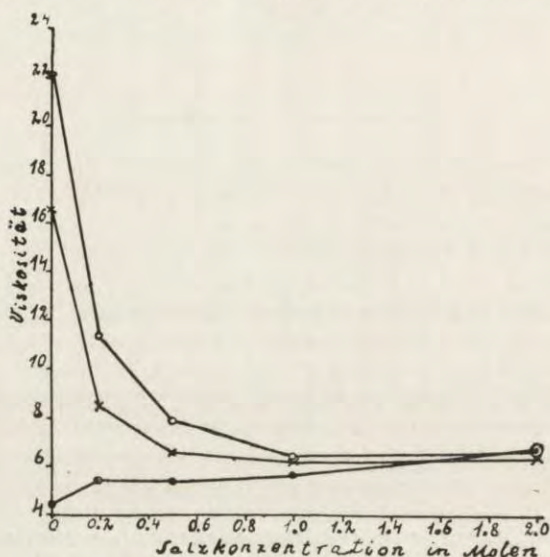


Fig. 1. Die Abhängigkeit der Viskosität der Eigelblösungen von der NaCl-Konzentration. Ohne NaOH (●), mit 0.05 M NaOH (×), mit 0.06 M NaOH (○).

schied besteht lediglich darin, dass anstatt einer haben wir im vorliegenden Falle die Konzentration beider zugegebenen Elektrolyte angegeben. Mit Rücksicht darauf, dass — wie es sich aus den im 1. Teil besprochenen pH Messungen ergibt — NaOH beinahe vollständig durch Eigelb gebunden wird, berücksichtigte ich seine Einwirkung auf die Viskosität der Interzellularflüssigkeit nicht.

Tabelle I.

Die gleichzeitige Wirkung von NaOH und NaCl auf die Viskosität der 50%-igen Eigelbblösungen.

Konzentration in Moleen		Viskosität der Interzellularflüssigkeit im Verhältnis zum Wasser	Durchflusszeit des Eigelbs in Sekunden unter zusätzlichem Druck		Die Viskosität der Eigelbblösungen		im Verhältnis zum Wasser unter zusätzlichem Druck		im Verhältnis zur Interzellularflüssigkeit unter zusätzlichem Druck			das Mittel für beiderlei Druck
von NaOH	von NaCl		600 mm H ₂ O	800 mm H ₂ O	600 mm H ₂ O	800 mm H ₂ O	600 mm H ₂ O	800 mm H ₂ O	600 mm H ₂ O	800 mm H ₂ O	800 mm H ₂ O	
1. — 600 mm H ₂ O — 11,68 Sek. 2. — 800 mm H ₂ O — 9,36 Sek.												
Die Durchflusszeit des Wassers durch das Viskosimeter für die Lösungen: mit NaOH unter zusätzlichem Druck. 1. — 600 mm H ₂ O — 9,03 Sek. 2. — 800 mm H ₂ O — 7,20 Sek.												
0	0	1.008	52.3	41.2	4.47	4.40	4.44	4.37	4.40			
0	0.2	1.031	67.4	52.0	5.77	5.56	5.60	5.39	5.50			
0	0.5	1.061	66.8	52.7	5.71	5.63	5.39	5.31	5.35			
0	1.0	1.119	75.0	58.5	6.42	6.26	5.74	5.59	5.67			
0	2.0	1.262	99.4	78.4	8.51	8.38	6.74	6.64	6.69			
0	3.0	1.440	130.2	102.3	11.14	10.93	7.74	7.59	7.67			
2. — 800 mm H ₂ O — 11,68 Sek. 2. — 800 mm H ₂ O — 9,36 Sek.												
0.05	0	1.008	156.7	116.4	17.35	16.17	17.21	16.04	16.6			
0.05	0.2	1.031	79.4	60.2	8.79	8.36	8.53	8.11	8.32			
0.05	0.5	1.061	63.8	50.0	7.07	6.95	6.66	6.55	6.60			
0.05	1.0	1.119	64.0	48.8	7.09	6.78	6.33	6.06	6.20			
0.05	2.0	1.262	74.4	57.8	8.24	8.03	6.53	6.36	6.45			
0.05	3.0	1.440	103.9	78.8	11.50	10.94	7.99	7.60	7.80			
3. — 800 mm H ₂ O — 11,68 Sek. 2. — 800 mm H ₂ O — 9,36 Sek.												
0.06	0	1.008	219.6	146.1	24.3	20.3	24.1	20.1	22.1			
0.06	0.2	1.031	105.5	84.4	11.69	11.72	11.33	11.37	11.35			
0.06	0.5	1.061	78.6	58.6	8.70	8.14	8.20	7.67	7.94			
0.06	1.0	1.119	66.5	51.9	7.36	7.21	6.58	6.44	6.51			
0.06	2.0	1.261	76.7	60.0	8.49	8.33	6.73	6.60	6.67			
0.06	3.0	1.440	104.3	82.4	11.55	11.44	8.02	7.94	7.98			

In Tabelle I führte ich an erster Stelle als Vergleich den Einfluss von NaCl auf die nicht NaOH enthaltende Eigelblösung an. Die hier angegebenen Zahlen erhielt ich in Versuchen, die im 1. Teil besprochen sind ('33), wo ich sie in Tab. III anführte. Weiter enthält Tab. I die Ergebnisse nach Zusatz von NaCl zur Eigelblösung, die 0.05 M NaOH enthält und endlich an dritter Stelle die Ergebnisse der 0.06 M NaOH enthaltenden Eigelblösungen.

In Tab. II führte ich an erster Stelle die in vorliegenden Untersuchungen erhaltene Werte an, die den Einfluss von CaCl_2 auf nicht NaOH enthaltende Eigelblösungen betreffen, weiter— wie in Tab. I — auf Lösungen, denen 0.05 M NaOH zugesetzt wurde, und endlich auf Lösungen, die 0.06 M NaOH enthalten.

Zur besseren Orientierung in den erzielten Ergebnissen veranschaulichte ich sie graphisch in Fig. 1 und 2.

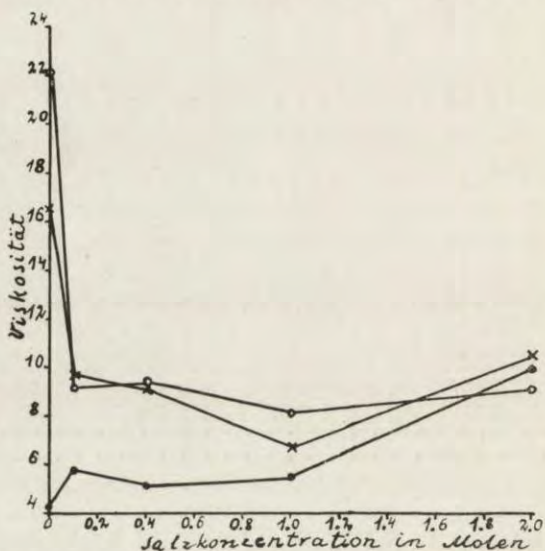


Fig. 2. Die Abhängigkeit der Viskosität der Eigelblösungen von der CaCl_2 -Konzentration. Ohne NaOH (·), mit 0.05 M NaOH (×), mit 0.06 M NaOH (○).

Die Verminderung der Viskosität unter dem Einfluss von Salzen ist für alle Konzentrationen beider Salze unzweifelhaft. Die durch Zusatz von NaCl erhaltenen Ergebnisse erscheinen mehr regelmässig. Der Unterschied in dem Verlauf der Kurven

Tabelle II.

Die gleichzeitige Wirkung von NaOH und CaCl₂ auf die Viskosität der 50%-igen Eigelblösungen.

Die Durchflusszeit des Wassers durch das Viskosimeter für alle Lösungen unter zusätzlichem Druck:

1. - 600 mm H₂O - 9.03 Sek.2 - 800 mm H₂O - 7.20 Sek.

Konzentration in Molen		Viskosität der Intermizellarflüssigkeit im Verhältnis zum Wasser	Durchflusszeit des Eigelbs in Sekunden unter zusätzlichem Druck		Die Viskosität der Eigelblösungen					
von NaOH	von CaCl ₂		im Verhältnis zum Wasser unter zusätzlichem Druck	im Verhältnis zum Wasser unter zusätzlichem Druck	600 mm H ₂ O	800 mm H ₂ O	600 mm H ₂ O	800 mm H ₂ O	600 mm H ₂ O	800 mm H ₂ O
0	0	1.008	40.2	31.3	4.45	4.35	4.41	4.31	4.36	
0	0.1	1.036	54.1	41.3	5.99	5.74	5.78	5.54	5.66	
0	0.4	1.117	51.4	39.6	5.69	5.50	5.10	4.92	5.01	
0	1.0	1.282	64.2	49.8	7.11	6.92	5.55	5.39	5.47	
0	2.0	1.628	151.6	112.3	16.78	15.60	10.30	9.58	9.94	
0.05	0	1.008	156.7	116.4	17.35	16.17	17.21	16.04	16.6	
0.05	0.1	1.036	91.7	70.0	10.15	9.72	9.80	9.38	9.60	
0.05	0.4	1.117	93.4	71.8	10.34	9.97	9.26	8.93	9.10	
0.05	1.0	1.282	77.8	60.9	8.62	8.46	6.72	6.60	6.66	
0.05	2.0	1.628	154.2	122.6	17.08	17.03	10.49	10.46	10.48	
0.06	0	1.008	219.6	146.1	24.3	20.3	24.1	20.1	22.1	
0.06	0.1	1.036	87.0	66.2	9.63	9.20	9.30	8.88	9.09	
0.06	0.4	1.117	93.8	72.1	10.39	10.01	9.30	8.96	9.13	
0.06	1.0	1.282	93.8	74.0	10.39	10.28	8.10	8.02	8.06	
0.06	2.0	1.628	138.2	102.1	15.30	14.17	9.40	8.70	9.05	

für NaCl und CaCl_2 ergibt sich möglicherweise aus der verschiedenen Art des Zusatzes von Elektrolyten, was ich bei der Besprechung des Verlaufs der Untersuchungen erwähnte. Im Falle NaCl ist der Verlauf aller dreier Kurven, beginnend mit der Konzentration 1 M NaCl, fast identisch.

Bei Zusatz von CaCl_2 ist der Verlauf der Kurven weniger regelmässig, jedoch erinnert das Gesamtbild an das Verhalten im Verhältnis zu NaCl.

Im Gegensatz zu diesen Ergebnissen sind die bei gleichzeitiger Wirkung von HCl und Salzen erhaltenen Ergebnisse in Tabellen schwer zu erfassen. Hierbei muss ich eine Tatsache besonders erwähnen, welche ich bei meinen früheren Untersuchungen übersah und zwar, dass die Durchflusszeit der Eigelblösungen durch das Viskosimeter, der man 0.1 M HCl zusetzte, bei jeder folgenden Bestimmung immer kürzer wird. So betrug z. B. die Durchflusszeit eines solchen Eigelbs — unter zusätzlichem Druck 600 mm Wasser — in drei aufeinander folgenden Messungen 505, 472 und 453 Sek. Unter einem Druck von 800 mm Wasser ergab die erste Messung eine Durchflusszeit von 359 Sek. Nach Verlauf einer Stunde fiel diese Zeit im Thermostat auf 234 Sek.

Bei geringeren Konzentrationen von HCl war dies Fallen ein bedeutend langsames. Bei Konzentration 0.05 M änderte sich die Durchflusszeit während der Messung praktisch nicht.

Schon dieser Umstand wies auf einen abweichenden Mechanismus der Wirkungen von HCl und NaOH hin. Noch deutlicher macht sich der Unterschied zwischen den Wirkungen von Säure und Base nach Zusatz von Salzen bemerkbar. Und zwar nahm die Durchflusszeit der Eigelblösungen, die neben HCl auch Salz enthielten, während des Stehens im Thermostat ständig zu. So ergab z. B. eine Lösung, die 0.05 M HCl und 0.2 M NaCl enthielt, nachstehende einander folgende Durchflusszeiten: 65.4, 66.5, 67.0, 68.0, 68.6, 69.3 und 70.1 Sek. Nach zwei Tagen, während die Lösung im Eisschrank stand, stabilisierte sich die Durchflusszeit und betrug unter einem Druck von 600 mm Wasser etwa 56.7 Sek. Drei nacheinander vorgenommene Messungen ergaben folgende Resultate: 57.0, 56.7 und 56.3 Sek. Die Durchflusszeit unter einem Druck von 800 mm Wasser betrug: 43.7,

44.1 und 44.0 — durchschnittlich 43.9 Sek. Wenn diese Werte endgültig wären, so hätten wir mit Rücksicht darauf, dass die Durchflusszeit der Eigelblösung, die 0.05 M HCl ohne Salz enthielt — unter denselben Umständen unter einem Druck von 800 mm Wasser durchschnittlich 64.1 Sek. und unter einem Druck von 600 mm Wasser durchschnittlich 80.4 Sek. betrug—ein endgültiges Ergebnis analog zu dem bei NaOH erzielten, und zwar: die Verringerung der Viskosität unter dem Einfluss von Salzen. Dem widerspricht jedoch das mit HCl und CaCl_2 erzielte Ergebnis. Die Eigelblösung, die neben 0.05 M HCl, 0.1 M CaCl_2 in einem Liter enthielt, ergab nämlich im ersten Tage, nach Ablauf von ungefähr 2 Stunden unter einem Druck von 800 mm Wasser, Durchflusszeiten von anfangs 79.6 bis 136.6 Sek. Nachdem die Lösung in den Eisschrank gestellt und am nächsten Tage wieder untersucht wurde, ergab sie unter dem Druck von 800 mm Wasser, zunehmende Durchflusszeiten, allmählich von 74.0 bis 81.1 Sek.

Da die Durchflusszeit der Eigelblösung, welche nur HCl enthielt unter diesem Druck durchschnittlich 64.1 Sek. betrug, während die kürzeste Durchflusszeit für eine Lösung, die beide Elektrolyte enthielt 74.0 Sek. ergab, war diese letzte Zeit grösser als die Durchflusszeit einer Lösung, die nur HCl enthielt. Dieses Ergebnis verweist auf einen abweichenden Mechanismus der Wirkungen von HCl und NaOH.

Grössere Konzentrationen beider Salze, wie auch grössere von Säure, ergaben eine erheblich grössere Zunahme der Durchflusszeit. So ergab z. B. eine Lösung, die neben 0.08 M HCl — 1.0 M CaCl_2 enthielt, bei einem Druck von 800 mm Wasser eine Durchflusszeit von 1214 Sek. Bei einem Gehalt von 0.08 M HCl und 1.0 M NaCl ergab die erste Messung unter demselben Druck 506 Sek., die zweite 608 Sek. Im allgemeinen verhielt sich eine 0.08 M HCl enthaltende Lösung abweichend von einer solcher, die 0.05 M HCl enthielt. Die Viskosität nahm nach 24 stündigen Stehen im Eisschrank kolossal zu. So hatte z. B. eine Lösung, die 0.08 M HCl und 0.2 M NaCl enthielt, am ersten Tage unter einem Druck von 600 mm Wasser, zunehmende Durchflusszeiten — und zwar von 127.4 — bis 268 Sek. Am folgenden Tage war die Viskosität so bedeutend, dass nach Ablauf von

17 Minuten weniger als die Hälfte des Viskosimeterinhalts durchfloss.

Die Ergebnisse der gleichzeitigen Wirkung von NaCl und CaCl₂ führte ich in Tabelle III an. In dieser Tabelle gab ich zuerst den Einfluss des Zusatzes von CaCl₂ zu Eigelblösungen, die keine NaCl enthalten—an, dann zu Lösungen, die in einem Liter nacheinander 0.1, 0.2, 0.4, 1.0 und 2.0 M NaCl enthalten. Sämtliche in der Tabelle angeführten Ergebnisse erhielt ich in meinen gegenwärtigen Untersuchungen. Im allgemeinen ist die Zusammenstellung der Tab. III eine gleiche wie die der Tab. I und II. Wenn man die einzelnen Ergebnisse genauer betrachtet, kann man feststellen, das vorwiegend zwar die gleichzeitige Wirkung beider Salze eine grössere Viskosität ergibt, als die eines jeden Salzes vereinzelt, jedoch ergibt in einem Falle die Wirkung beider Salze zusammen eine geringere Viskosität, als die eines jeden Salzes vereinzelt. Und zwar gibt CaCl₂ allein in Konzentration von 0.1 M eine Viskosität von 5.66, dagegen 0.2 M NaCl allein eine solche von 5.30, dagegen 0.1 M CaCl₂ zusammen mit 0.2 M NaCl eine Viskosität von 5.26. In anderen Fällen geben beide Salze zwar eine grössere Viskosität als NaCl allein, aber immerhin eine geringere als CaCl₂. Und es geben nämlich 0.1 M CaCl₂ mit 0.4 M NaCl zusammen eine Viskosität von 5.26, also mehr als NaCl allein, welches eine Viskosität von 4.90 ergibt, dagegen weniger als 0.1 M CaCl₂, welches eine Viskosität von 5.66 ergibt. In wieder anderen Fällen ist die Viskosität nach dem Zusatz beider Salze zwar grösser als die eines jeden Salzes vereinzelt, aber eine weitere Salzzugabe verringert sie. CaCl₂ allein ergibt in Konzentration von 0.05 M eine Viskosität von 5.25, der Zusatz von 0.1 M NaCl vergrössert diese bis zu 5.38. Eine weitere Zugabe NaCl zu Konzentration 0.2 verringert dagegen die Viskosität bis zu 5.30, d. h. dass die Viskosität nach Zusatz von 0.2 M NaCl und 0.05 M CaCl₂ eine gleiche ist, wie nach Zusatz von NaCl allein. Ebenso ergibt ein nachträglicher Zusatz von 0.05 M CaCl₂ zu Lösungen, die 0.1 M NaCl und 0.05 M CaCl₂ enthalten, eine Verringerung der Viskosität von 5.38 bis zu 5.19. Ein weiterer Zusatz von 0.05 M CaCl₂ zu einer Lösung, die neben 0.2 M NaCl auch 0.05 M CaCl₂ enthält, verringert die Viskosität von 5.30 bis zu 5.26, dagegen eine analoge Veränderung der Kon-

* Die gleichzeitige Wirkung von NaCl und CaCl₂ auf die Viskosität der 50%-igen Eigelblösungen.Die Durchflusszeit des Wassers durch das Viskosimeter für alle Lösungen unter zusätzlichem Druck:
1. — 600 mm H₂O — 9.03 Sek.
2. — 800 mm H₂O — 7.20 Sek.

Konzentration in Molen		Die Viskosität der Eigelblösungen		Die Viskosität der Eigelblösungen		Die Viskosität der Eigelblösungen		Die Viskosität der Eigelblösungen		das Mittel für beiderlei Druck	
		von NaCl	von CaCl ₂	im Verhältnis der Interzellulär- flussigkeit im Verhältnis zum Wasser	Durchflusszeit des Eigelbs in Sekunden unter zusätzlichem Druck	im Verhältnis zum Wasser unter zusätzlichem Druck	im Verhältnis zum Wasser unter zusätzlichem Druck	im Verhältnis zum Wasser unter zusätzlichem Druck	unter zusätzlichem Druck		800 mm H ₂ O
		600 mm H ₂ O	800 mm H ₂ O	600 mm H ₂ O	800 mm H ₂ O	600 mm H ₂ O	800 mm H ₂ O	600 mm H ₂ O	800 mm H ₂ O	600 mm H ₂ O	800 mm H ₂ O
0	0	1.008	38.4	30.1	4.25	4.18	4.22	4.15	4.18	4.15	4.18
0	0.05	1.021	48.8	38.2	5.40	5.31	5.29	5.20	5.25	5.20	5.25
0	0.1	1.036	54.1	41.3	5.99	5.74	5.78	5.54	5.66	5.54	5.66
0	0.4	1.117	51.4	39.6	5.69	5.50	5.10	4.92	5.01	4.92	5.01
0	1.0	1.282	67.0	52.3	7.42	7.26	5.79	5.67	5.73	5.67	5.73
0.1	0	1.021	41.0	31.8	4.54	4.42	4.44	4.33	4.38	4.33	4.38
0.1	0.05	1.037	51.2	39.5	5.66	5.49	5.46	5.29	5.38	5.29	5.38
0.1	0.1	1.046	49.7	38.5	5.50	5.35	5.26	5.12	5.19	5.12	5.19
0.2	0	1.031	49.7	39.0	5.50	5.41	5.34	5.25	5.30	5.25	5.30
0.2	0.05	1.046	51.1	39.1	5.66	5.43	5.41	5.19	5.30	5.19	5.30
0.2	0.1	1.059	51.0	39.6	5.65	5.50	5.33	5.19	5.26	5.19	5.26
0.2	0.4	1.137	57.6	45.0	6.37	6.25	5.60	5.50	5.55	5.50	5.55
0.2	1.0	1.302	80.4	62.2	8.90	8.64	6.85	6.64	6.74	6.64	6.74
0.4	0	1.051	47.4	36.3	5.25	5.04	4.99	4.80	4.90	4.80	4.90
0.4	0.5	1.063	52.2	41.0	5.78	5.70	5.44	5.36	5.40	5.36	5.40
0.4	0.1	1.081	51.6	40.8	5.71	5.67	5.28	5.24	5.26	5.24	5.26
0.4	0.4	1.165	65.4	50.5	7.24	7.01	6.22	6.02	6.12	6.02	6.12
0.4	1.0	1.350	81.0	62.6	8.97	8.70	6.64	6.44	6.54	6.44	6.54
1.0	0	1.119	53.2	42.0	5.89	5.83	5.26	5.21	5.24	5.21	5.24
1.0	0.05	1.131	62.9	49.0	6.97	6.81	6.16	6.02	6.09	6.02	6.09
1.0	0.1	1.158	65.6	50.3	7.26	6.99	6.27	6.03	6.15	6.03	6.15
1.0	0.4	1.246	80.8	62.7	8.95	8.71	7.18	6.99	7.09	6.99	7.09
1.0	1.0	1.440	103.1	80.0	11.41	11.11	7.92	7.72	7.82	7.72	7.82
2.0	0	1.262	75.6	57.8	8.37	8.03	6.63	6.36	6.50	6.36	6.50
2.0	0.1	1.302	101.0	77.8	11.19	10.81	8.59	8.30	8.45	8.30	8.45
2.0	1.0	1.678	266	180	29.4	25.0	17.5	14.9	16.3	14.9	16.3

zentration CaCl_2 bei 0.04 M NaCl sogar von 5.40 bis zu 5.26. Der Zusatz von 0.01 M NaCl zu einer Lösung, welche 0.1 M CaCl_2 enthält, verringert die Viskosität von 5.66 bis zu 5.19. Endlich verringert der Zusatz weiterer 0.2 M NaCl zu einer Lösung, welche 1.0 M CaCl_2 und 0.2 M NaCl enthält, die Viskosität von 6.74 bis zu 6.54.

In allen übrigen Fällen ergibt die gleichzeitige Wirkung beider Salze eine grössere Viskosität, als sie jedes Salz gesondert ergeben würde.

Besprechung der Ergebnisse.

In meiner vorherigen Arbeit ('33) führte ich die Annahme an, dass man die Wirkung der Elektrolyte auf die Viskosität der Eigelblösungen auf Grund der Bindung des Wassers im innern der deutoplasmatischen Körnchen erklären kann. Diese Bindung möchte infolge der Entstehung eines D o n n a n'schen Membrangleichgewichtes zwischen der in den deutoplasmatischen Körnchen enthaltenen Flüssigkeit und der Intermezellarflüssigkeit stattfinden. Auf Grund der Ergebnisse des vorliegenden Aufsatzes ist es schwer diese Annahme aufrecht zu erhalten. Denn wenn die Bindung des Wassers nach der Zugabe von NaOH und HCl wirklich nur durch die Entstehung einer D o n n a n's Membrangleichgewichtes verursacht wäre, so musste die Zugabe der Salzen zusammen mit NaOH sowie auch mit HCl eine geringere Viskosität geben, als die alleinige Zugabe von NaOH oder HCl. Das Verhalten der Eigelblösungen bei gleichzeitiger Wirkung von Lauge und Salzen entspricht zwar diesen Erwartungen, man darf aber den Umstand nicht vergessen, dass im Falle von Salzen wahrscheinlich das Kation hauptsächlich aktiv ist, wie darauf die Unterschiede im Verhalten von Salzen die sich nur durch das Kation unterscheiden, hinweisen, wogegen im Falle der Wirkung von Laugen man die Hauptaktivität dem Anion OH zuschreiben muss, wie dies aus dem Vergleich der Wirkungen von NaOH und NaCl hervorgeht. Mit Rücksicht darauf, kann die im Verhältnis zu Lauge antagonistische Salzwirkung nur auf den entgegengesetzten Wirkungen der Kationen und Anionen beruhen. Um vieles überzeugender wäre demnach für mich die Bestätigung meiner Annahme in bezug

auf Säuren. Und gerade hier erhielt ich ein meiner Erwartung widersprechendes Ergebnis. Zwar wirft dieses Ergebnis nicht unbedingt die Möglichkeit der Wirkung eines solchen Mechanismus um, welches ich vorher schilderte, da seine Wirkung eine durch irgend einen anderen energischer wirkenden Mechanismus maskiert sein könnte, so z. B. durch die Loslösung unlösbarer Systeme unter dem Einfluss gleichzeitiger Wirkungen von Säure und Salzen, oder infolge Veränderung der Grössen von Teilchen der dispersen Phase. Andererseits gibt es allenfalls keine bestimmte Anhaltspunkte für die Bestätigung meiner Annahme. Daher muss ich also diese Frage als offen betrachten.

Was die gleichzeitige Wirkung zweier Salze anbetrifft, so hat man den Eindruck, als wenn das gleiche Salzpaar eine einmal von der Konzentration abhängige synergetische, oder das andere Mal wieder eine antagonistische Wirkung im Verhältnis zur Viskosität hätte. Diese Erscheinung lässt sich sehr leicht durch die Annahme erklären, dass der Mechanismus der Wirkung beider Salze im Prinzip ein gleicher ist, dass also diese Salze sich bis zu einem gewissen Grade mit ihrer Wirkung auf die Viskosität von Eigelblösungen gegenseitig abzulösen imstande sind. Es muss festgestellt werden, dass die Salzkonzentrationen, die zusammengenommen eine geringere Viskosität ergeben als die Konzentration jedes Salzes vereinzelt ergeben würde — solchen Konzentrationen entsprechen, die, wie ich es im 1. Teil festgestellt hatte, für jede dieser Konzentrationen ein lokales Wirkungsmaximum ergeben. Der Zusatz einer entsprechenden Menge des gleichen Salzes ergibt bei diesen Konzentrationen eine Verringerung der Viskosität. So z. B. ergibt der Zusatz von 0.2 M NaCl eine grössere Viskosität als der Zusatz von 0.2 + 0.2, also 0.4 M NaCl. Wenn also CaCl_2 — NaCl ersetzen kann, so ist es kein Wunder, dass der Zusatz von 0.1 M CaCl_2 , dass gleichfalls ein lokales Maximum der Viskosität ergibt also gewissermassen analog zu 0.2 M NaCl ist, ebenfalls die Viskosität verringert. Umgekehrt können wir sagen, dass falls der Zusatz neben 0.1 M CaCl_2 einer zweiten solchen Portion dieses Salzes die Viskosität verringert, also müsste auch der Zusatz einer in bezug auf die wirkungsgleichwertigen Portion von NaCl, d. i. 0.2 M NaCl — die Viskosität verringern. In ähnlicher Weise kann man durch

das Überschreiten der Maximalwirkung eines Salzes durch den Zusatz eines anderen in der Mehrzahl von Fällen den scheinbaren Antagonismus der Wirkung dieser Salze erklären. In allen Fällen, wo der Zusatz einer entsprechenden Menge des gleichen Salzes die Viskosität verringert, verringert sie ebenfalls der Zusatz einer gleichwertigen Menge des anderen Salzes. Dort wieder, wo der Zusatz einer neuen Portion des ersten Salzes die Viskosität vergrößert, vergrößert sie ebenfalls auch der Zusatz einer gleichwertigen Menge des zweiten Salzes.

Vereinzelte Ausnahmen dieser Regel, wie die Abnahme der Viskosität nach Zusatz zu Lösungen, die 0.4 M NaCl und 0.05 M CaCl_2 enthalten — weiterer 0.05 M CaCl_2 , und die Verringerung der Viskosität einer Lösung, die 1.0 M CaCl_2 und 0.2 M NaCl enthält durch Zusatz weiterer 0.2 M NaCl—haben ihre Analogone im Verhalten der Viskosität bei Zusatz nur eines Salzes, wie man dies z. B. in Tab. V des 1. Teil sehen kann, wo das Minimum der Viskosität nicht bei 0.4 M KCl, sondern bei 0.6 eintritt, oder wie in Tab. III des 1. Teil wo 1.1 M NaCl eine geringere Viskosität als 1.0 M aufweist und 1.3 M eine geringere als 1.2 M. Mit Rücksicht auf den unsteten Charakter dieser Abweichungen nahm ich sie als die Ergebnisse von Fehlern an, was sich ebenfalls auch auf die wenigen und nicht bedeutenden Abweichungen der vorliegenden Arbeit bezieht.

Die angeführten Ergebnisse sagen zwar nichts davon, wie der Mechanismus der Wirkung bei Salzen ist, aber jedenfalls bestätigen sie die Annahme, dass dieser Mechanismus für beide untersuchten Salze ein gleicher ist. Überdies erscheint es mir, dass das scheinbar gleichzeitige Auftreten eines Synergismus und Antagonismus derselben Salze sehr interessant ist. Es kann sein, dass eine analogische der von mir erwähnten Erklärung in einzelnen anderen Fällen von Antagonismus Anwendung finden könnte.

Zusammenfassung.

1°. Der Verfasser hat den Einfluss der gleichzeitigen Wirkung folgender Elektrolyt-Paare: NaOH + NaCl, NaOH + CaCl_2 , HCl + NaCl, HCl + CaCl_2 , sowie NaCl + CaCl_2 — auf die Viskosität von 50%-igen Eigelblösung untersucht.

2°. Sowohl NaCl, als auch CaCl_2 ergeben in allen angewandten Konzentrationen bei gleichzeitiger Wirkung mit NaOH sowohl in Konzentrationen von 0.05, als auch 0.06 M eine geringere Viskosität der Eigelblösungen, als sie Lauge allein in denselben Konzentrationen ergeben würde.

3°. Sowohl NaCl als auch CaCl_2 ergeben in allen angewandten Konzentrationen bei gleichzeitiger Wirkung mit HCl in Konzentrationen von 0.05 M und noch deutlicher in solchen von 0.08 M, anfangs eine erheblich stärkere Viskosität der Eigelblösungen, als Säure allein in denselben Konzentrationen. Die Viskosität nimmt nach Zusatz von Säure allein — in grösseren Konzentrationen als 0.05 M — während der Messungen allmählich ab, dagegen bei Zusatz von Säure mit Salz wächst sie allmählich an. Nach der Unterbringung der Lösung im Eisschrank nimmt die Viskosität bei geringen Konzentrationen der Salze ab, in einem Falle sogar unter die Viskosität der Lösung mit Säure allein. Bei grösseren Konzentrationen — insbesondere CaCl_2 — wächst die Viskosität mit der Zeit an und dass sowohl während des Stehens im Thermostat, als auch im Eisschrank.

4°. Die gleichzeitige Wirkung beider Salze — NaCl und CaCl_2 — ergibt ein ähnliches Resultat wie der Zusatz eines dieser Salze in entsprechend grösserer Konzentration. Infolge des ungleichmässigen Anwachsens der Viskosität bei Zusatz eines Salzes — das Auftreten des lokalen Maximum und Minimum der Wirkungen — bewirkt der gleichzeitige Zusatz zweier Salze ein scheinbares Auftreten von Antagonismus und Synergismus dieser Salze in verschiedenen Konzentrationen. Das Gesamtergebnis der Wirkung zweier Salze bestätigt die Annahme des Verfassers, dass der Mechanismus der Wirkung verschiedener Salze auf die Viskosität der Eigelblösungen in Prinzip der gleiche ist, wobei die Unterschiede in den Wirkungen eher quantitativ als qualitativ sind.

5°. Die Ergebnisse der gleichzeitigen Wirkung von HCl und Salzen, falls sie nicht die Annahme, dass der Mechanismus der Wirkung der Elektrolyte auf die Viskosität der Eigelblösungen sich auf dem Donnan's Membrangleichgewicht stützt, umstossen, so weisen sie doch darauf hin, dass sie für die Aufklärung aller Arten von Wirkungen der Elektrolyte auf die Viskosität des Eigelbs unzureichend ist.

Literatur.

Białaszewicz K. 1928. L'ultratiltration appliqué aux recherches sur la répartition des électrolytes dans le cytoplasme. *Ann. de Physiologie*. 4. VII (190). — Zawadzki Br. 1929. Researches on the distribution of certain crystalloids in colloidal systems similar to cytoplasm. *Acta Biol. Exprim.* 4. (119). — Zawadzki Br. 1933. Influence of electrolytes on the physico-chemical properties of colloidal systems to compare with cytoplasm. Part. I. Influence of electrolytes on the viscosity of diluted egg yolk. *Protoplasma* 19. (485). — Zawadzki Br. 1935. Der Einfluss von Elektrolyten auf die physikalisch-chemischen Eigenschaften von kolloiden Systemen, die dem Cytoplasma vergleichbar sind. II. Teil: Der Einfluss von Salzen auf die Viskosität von Eigelblösungen verschiedener Konzentration. *Protoplasma* 22. (616).

[Zakład Fizjologii Instytutu im. Nenckiego T. N. W.].

J. Konorski, L. Lubińska i S. Miller.

Wytwarzanie się odruchów warunkowych w zahamowanej indukcyjnie korze mózgowej.

Élaboration des reflexes conditionnels dans l'écorce cérébrale à l'état d'inhibition induite.

Rękopis nadesłany w dniu 18.VI 1936 r.

Le présent travail avait pour l'objet l'étude des réflexes conditionnels alimentaires du chien, élaborés sur le fond de l'excitant absolu déclanché, c'est à dire pendant que l'écorce se trouve dans l'état d'inhibition induite.

La méthode appliquée au cours de présentes recherches consistait en ceci: on faisait agir le stimulus indifférent 5 ou 10 secondes après le commencement du repas, on le maintenait pendant 10 secondes suivantes, en le renforçant ensuite par la présentation d'une seconde gamelle de nourriture. En appliquant de temps en temps ce stimulus seul, sans renforcement, nous avons constaté que le reflexe conditionnel s'est formé dans ces conditions et qu'il est stable (tableaux I, II, III, IV, VII, VIII, IX, X, XI).

Le reflexe ainsi obtenu présente certaines particularités qui le différencient des reflexes élaborés par les procédés habituels. 1° Il est plus faible et ceci est d'autant plus marqué qu'est forte l'inhibition induite de l'écorce chez l'animal étudié. 2° Son élaboration est plus lente.

Nous avons constaté que la faiblesse de l'effet observé dans nos conditions est en rapport avec la liaison mal établie entre le centre correspondant au stimulus conditionnel et le centre alimentaire. Ceci est nettement mis en évidence par les expériences,

dans lesquelles on applique le même stimulus avant le repas. La réaction conditionnelle s'accroît alors (tableau XII) et garde cette valeur accrue si l'on revient ensuite à l'ordre expérimental suivi au début de cette recherche (tableau XIII).

Si le stimulus conditionnel appliqué pendant le repas n'est pas renforcé par la gamelle suivante et précède par conséquent la fin du repas, le réflexe conditionnel subit une inhibition active (interne). Ainsi, on peut déterminer l'extinction du réflexe simplement en ne faisant pas suivre le stimulus conditionnel par une seconde gamelle de nourriture. (Tableau V). On peut de façon analogue, produire une différenciation en faisant suivre le stimulus en question par la seconde gamelle et en ne le faisant pas pour un stimulus voisin. (Tableaux X, XI). Il semble que l'inhibition active se développe plus lentement sur le fond de l'inhibition induite que dans les conditions habituelles.

C'est parce qu'il précède immédiatement la fin du repas que le stimulus conditionnel déclenche les processus de l'inhibition interne. Nous avons montré antérieurement (Konorski et Miller '33) que la fin du repas peut être considérée comme une inhibition interne aigüe du centre alimentaire. Les stimulus qui la signale devient lui-même inhibiteur de même que le stimulus signalant l'excitation du centre alimentaire (la présentation du repas) devient l'excitant conditionnel.

Les résultats des présentes recherches indiquent nettement que les conclusions qu'ont tirées de leur données expérimentales Sołowiejczyk ('28), Krepes ('33), Pawłowa ('33), Winogradow ('33) et Pietrewa ('33) sont erronées. Si les réflexes conditionnels obtenus par ces auteurs par méthode de „superposition” (c'est à dire en présentant au chien d'abord la gamelle et ensuite le stimulus conditionnel) subissaient bientôt une inhibition interne, ce n'est pas parce que les stimuli tombaient sur l'écorce en état d'inhibition induite, mais parce qu'ils signalaient la fin d'un repas et n'étaient pas renforcés par le repas successif.

Wstęp.

Zagadnienie wytwarzania się odruchów warunkowych na bodźce, dochodzące do zwierzęcia po zadziałaniu bodźca bezwarunkowego, innemi słowy, pytanie czy zwierzę może nabywać nowe połączenia odruchowe w chwili, gdy daje reakcję wrodzoną, należy do jednego z najstarszych zagadnień, rozpatrywanych przez szkołę P a w ł o w a. W świetle otrzymanyh coraz to nowych faktów, co pewien czas stawało się ono nanowo aktualne, podlegało ponownemu opracowaniu doświadczalnemu — nie zostało jednak dotychczas całkowicie wyświetlone.

Zwykła, na intuicji i praktyce doświadczalnej oparta, metoda wytwarzania odruchów warunkowych polega na tem, że bodziec obojętny (mający stać się warunkowym) stosuje się bądź jednocześnie z bodźcem bezwarunkowym (pokarmem lub wlewaniem kwasu), bądź rozpoczyna go się o 1 lub 2 sekundy wcześniej, a następnie po pewnej ilości takich połączeń stopniowo początek bodźca bezwarunkowego coraz bardziej opóźnia się w stosunku do początku bodźca warunkowego (dochodząc zazwyczaj do 15 — 30 sekund), co daje możność obserwowania reakcji wydzielniczej, pojawiającej się w czasie izolowanego działania bodźca warunkowego.

Z chwilą jednak, gdy zaczęto się zajmować dokładniejszą analizą mechanizmu fizjologicznego wytwarzania się odruchu warunkowego, powstało zagadnienie, czy sposób wyżej przedstawiony jest jedyny możliwy i czy odruch warunkowy nie wytworzy się również wtedy, gdy bodziec obojętny będzie następował po rozpoczęciu bodźca bezwarunkowego.

Poraz pierwszy doświadczenie tego rodzaju wykonał P i m e n o w ('07) i otrzymał wynik pozytywny, jednak systematycznym opracowaniem tego zagadnienia zajął się w kilka lat później K r e s t o w n i k o w ('13, '21). Autor ten u 5-ciu psów zastosował po kilkaset „odwróconych” połączeń, w których bodziec bezwarunkowy poprzedzał w czasie bodziec obojętny. Próbując następnie oddzielnie co pewien czas stosowany bodziec obojętny, przekonał się, że odruch warunkowy nie wytwarza się przy takim układzie doświadczeń, sporadyczne zaś przypadki pojawiania się nieznacznej reakcji ślinowej mogły jego zdaniem zależeć od czynników ubocznych.

Wyniki, otrzymane przez K r e s t o w n i k o w a, znajdowały uzasadnienie teoretyczne w zjawisku indukcji ujemnej. Ognisko pobudzenia, po-

wstające w pewnym punkcie kory mózgowej w związku z zachodzącym odruchem bezwarunkowym, wywołuje (na zasadzie prawa indukcji) w innych obszarach kory stan zahamowania, który jest tem silniejszy, im silniejsze jest pobudzenie w ośrodkach zachodzącego odruchu. Dane Krestownikowa przemawiały za tem, że jeżeli do zahamowanych indukcyjnie punktów kory trafia jakiś bodziec, pozostaje on nieskuteczny, t. j. nie ma możności wytworzenia połączenia warunkowego z działającym jednocześnie odruchem bezwarunkowym.

Doświadczenia te przesądziły sprawę na czas dłuższy i usankcjonowały niejako normalnie przyjęte postępowanie przy wyrabianiu odruchów warunkowych. Wprawdzie pojawiały się głosy krytyczne autorów, którzy pracowali odmienną metodą — nad odruchami obronnemi na prąd elektryczny, jak np. Sz n i r m a n ('25), lecz dopiero prace Sołowiejczyka ('28) zmusiły do poddania tego zagadnienia ponownej rewizji. Autor ten badał, co się dzieje z wytworzonymi już odruchami warunkowymi, jeżeli odwrócić w nich kolejność stosowanych bodźców i doszedł do wniosku, że gdy bodziec bezwarunkowy (pokarm) stale i w ciągu dłuższego czasu dawany jest przed bodźcem warunkowym, wówczas ten ostatni przestaje wywoływać reakcję warunkową i przekształca się w aktywny (wewnętrzny) hamulec.

Powstało wówczas przypuszczenie, że w doświadczeniach Krestownikowa odruchy warunkowe mogły się również wytworzyć, lecz następnie, wskutek wielokrotnych odwróconych kojarzeń zostały zahamowane; moment wytwarzania się był jednak przeoczony, gdyż pierwsze próby izolowanego działania kojarzonych bodźców obojętnych robiono dopiero po wielu połączeniach. Przypuszczenie to tembardziej stało się prawdopodobne, że owe sporadyczne, nietrwałe reakcje warunkowe, które Krestownikow otrzymywał, nabierały na podstawie doświadczeń Sołowiejczyka odmiennego oświetlenia. Prace Krep sa ('33), Pa w ł o w e j ('33), W i n o g r a d o w a ('33) i P i e t r o w e j ('33) przypuszczenie to całkowicie potwierdziły. Aby nie przepuścić chwili wytworzenia się odruchu warunkowego, stosowali oni możliwie najczęściej, co kilka odwróconych połączeń z pokarmem, próby samego, niewzmocnianego bodźca obojętnego i otrzymywali przelotną fazę, w której dawał on mniej lub bardziej wyraźną reakcję warunkową. Po przeminięciu tej fazy, jak to wykazały przedewszystkiem doświadczenia Pietrowej, bodziec taki posiadał wszystkie cechy hamulca wewnętrznego.

Wyniki te dowiodły, że połączenia warunkowe mogą się wprawdzie wytwarzać również w tych obszarach kory mózgowej, które są zahamowane indukcyjnie przez zachodzący równocześnie odruch bezwarunkowy, że jednak połączenia te zostają następnie aktywnie zahamowane. Hamowanie to usiłowano objaśnić w ten sposób, że odpowiednie bodźce, trafiając stale na zahamowane indukcyjnie komórki korowe i kojarząc się z występującym w nich stanem, same nabierają własności hamujących.

Powyższe tłumaczenie opiera się na analogji z doświadczeniami F o l b o r t a ('12), który wykazał, że bodźce obojętne przez kojarzenie ich z ha-

mulcami wewnętrznymi same nabierają własności hamulców. Jednak analogja ta nie jest zupełna, gdyż nie zostało dowiedzione, że procesy hamowania wewnętrznego (czynnego) i zewnętrznego (indukcyjnego) są idenryczne i że jedne z nich mogą przechodzić w drugie. Z drugiej zaś strony, w tłumaczeniu tem pozostaje niewyjaśnione, dlaczego hamowanie zewnętrzne, pochodzące z pobudzenia ośrodka pokarmowego, nie „zaraża” bodźców warunkowych, które choćby na chwilę poprzedzają bodziec bezwarunkowy — przecież wówczas również bodziec kojarzony występuje przez dość długi czas jednocześnie ze wzmacniającym go bodźcem bezwarunkowym. Te zastrzeżenia nasunęły nam wątpliwości co do wyżej podanej interpretacji zjawisk i dlatego zaczęliśmy szukać ich wyjaśnienia gdzieindziej.

W doświadczeniach, które prowadziliśmy nad ruchowemi odruchami warunkowemi ('33), ustaliliśmy, że wytworzony u zwierzęcia ruch jest niezmiernie czułym wskaźnikiem procesów pobudzenia i hamowania, dotyczących ośrodka pokarmowego, że mianowicie, pobudzenie tego ośrodka hamuje pojawiające się pod wpływem odpowiedniego bodźca czynne ruchy, aktywne zaś hamowanie tego ośrodka, naodwrot, ruchy te pobudza. Dalej, przy pomocy tegoż wskaźnika ruchowego stwierdziliśmy, że po zjedzeniu każdorazowej porcji pokarmu pies zachowuje się dokładnie w ten sam sposób, jak przy zastosowaniu hamulca wewnętrznego, co każe przypuszczać, że koniec jedzenia związany jest u zwierzęcia ze stanem ostrego hamowania, mającego wszelkie cechy hamowania wewnętrznego. Fakt ten, który bywał naogół przeoczany, względnie niedoceniany w pracach nad odruchami warunkowemi, pozwala pod innym nieco kątem widzenia ująć omawiane wyżej zagadnienie. O ile bowiem bodziec obojętny, poprzedzający podanie pokarmu, sygnalizuje p o b u d z e n i e ośrodka pokarmowego i nabiera przez to własności pobudzających, o tyle bodziec, zastosowany podczas jedzenia i trwający do końca tej czynności, zastaje ośrodek pokarmowy w pełni aktywności i poprzedza przejście jego do stanu spoczynku, które, jak mówiliśmy, odbywa się drogą hamowania. Innemi słowy, bodziec taki s y g n a l i z u j e h a m o w a n i e o s r o d k a p o k a r m o w e g o. Czy przez to nie nabiera on sam własności hamowania tego ośrodka? I czy to właśnie nie jest przyczyną zjawisk opisanych na wstępie?

Streszczając się — mamy fakt doświadczalny: bodziec obojętny, stosowany po bodźcu bezwarunkowym, staje się w krót-

kim czasie hamulcem wewnętrznym. W doświadczeniach, które to wykazały, bodziec ten dochodził do zahamowanych indukcynie części kory mózgowej i — jednocześnie — sygnalizował czynne hamowanie ośrodka pokarmowego. Aby odpowiedzieć, co tu jest przyczyną przejścia owego bodźca w hamulec, należy to zjawisko rozszczepić, stosując ten bodziec w taki sposób, aby nadal podlegał on hamowaniu indukcyjnemu, a nie poprzedzał końca jedzenia. Rozszczepienie takie można osiągnąć, jeżeli podczas stosowanego w trakcie jedzenia bodźca obojętnego, podawać psu drugą miskę pokarmu.

Metodyka.

Doświadczenia prowadzono przy pomocy zwykłej metodyki, stosowanej w badaniach nad ślinowemi odruchami warunkowemi. Eksperymentator znajdował się w tym samym pokoju, co zwierzę doświadczalne, oddzielony od niego ekranem. Rejestrowano wydzielanie śliny przyrządem G a n i k e - K u p a ł o w a; miski z pokarmem podawano przy pomocy odpowiedniego urządzenia pneumatycznego.

C z ę ś ć d o ś w i a d c z a l n a.

I.

Doświadczenia wykonano na dwóch psach „Brytanie” i „Czarnym”.

„Brytan”, samiec, wagi 17 kg. Przetoki ślinowe obu ślinianek przyusznych założono 15.I.35 r. Wytworzono pokarmowe odruchy warunkowe na metronom 120/1', dzwonek i dotykanie 32/1' (na prawej łopatce), oraz różniczkowanie na metronom 60/1'. Odruchy odsunięte na 30". W przerwach pies śliny nie wydziela. Typ mało pobudliwy, prawo siły bodźców zachowane, hamulec zerowy.

Jako bodziec, który miał być stosowany po podaniu pokarmu, wzięto bulgotanie. Upewniwszy się, że bodziec ten jest rzeczywiście dla psa bodźcem obojętnym i nie wywołuje wydzielania śliny (patrz tab. I dośw. Nr. 129 z dn. 2.I.36 r.), od dn. 3.I. 36 r. zaczęto stosować bulgotanie podczas jedzenia. Parokrotnie w ciągu doświadczenia podawano sam pokarm bez poprzedzającego go bodźca warunkowego; po 10" od chwili podania pokarmu, rozlegało się bulgotanie, które po następnych 10"

Tabela I.

Min. dośw.	Nr. potącz.	Bodźce warunkowe <i>Stimuli conditionnels</i>	Czas izolowanego działania bodźca warunkowego <i>Durée de l'action isolée du stimulus conditionnel</i> sec	Wydzielanie warunkowe <i>Sécrétion conditionnelle</i> w 0.01 cm ³	Wzmocnienie <i>Renforcement</i>	Uwagi <i>Remarques</i>
2'	475	metronom 120/1' <i>métronomie</i>	30	20	+	
8'	81	dzwonek <i>sonnerie</i>	30	48	+	
12'	2	bulgotanie <i>bruit de glouglou</i>	30	2	—	
17'	476	metronom 120/1' <i>métronomie</i>	30	40	+	
22'	56	metronom 60/1' <i>métronomie</i>	20	0	—	
25'	477	metronom 120/1' <i>métronomie</i>	30	30	+	
29'	3	bulgotanie <i>bruit de glouglou</i>	30	0	—	
31'	82	dzwonek <i>sonnerie</i>	30	43	+	
35'	83	dzwonek <i>sonnerie</i>	30	37	+	

ruchowa reakcja pokarmowa nie występuje
pas de réaction alimentaire notrice

ruchowa reakcja pokarmowa nie występuje
pas de réaction alimentaire notrice

Tabela II.

Doświadczenie Nr. 141, dn. 18.1.36 r., godz. 17 m. 40. — *Expérience* Nr. 141, le 18.1.36, 17 heures 40.

1'	491	metronom 120/1' <i>métronomie</i>	30	96	+	
6'	98	dzwonek <i>sonnerie</i>	30	90	+	
10'	4	bulgotanie <i>bruit de glouglou</i>	30	63	—	
14'	127	dotykanie <i>stimulus tactile</i>	30	30	+	
19'	99	dzwonek <i>sonnerie</i>	30	70	+	
23' 10"	16	bulgotanie (w czasie jedzenia) <i>bruit de glouglou (pendant le repas)</i>	(10)	—	+	
27'	128	dotykanie <i>stimulus tactile</i>	30	24	+	

silna ruchowa reakcja pokarmowa, utrzymująca się nadal po bulgotaniu
avec réaction alimentaire notrice persistant après l'interruption du bruit

wzmacniano przez drugą miskę pokarmu. Bulgotanie ogółem trwało 20—25" (10" przed i 10—15" po podaniu drugiej miski). Czas jedzenia w tych warunkach wynosił u „Brytana” około 80 sek., jedzenie z pojedynczej miski natomiast trwało u tego psa 1 min. Miska, którą odbierano psu, zastępując ją świeżą, była zaledwie w połowie opróżniona z pokarmu, tak więc samo przesuwanie misek (odbywające się sposobem mechanicznym i trwające niecałą sekundę) miało miejsce w czasie pełnej akcji odruchu bezwarunkowego.

Po 13 tego rodzaju połączeniach wypróbowano w doświadczeniu z dn. 18.I.36 r. (Nr. 141) działanie samego bulgotania (tab. II). Jak widać z protokołu, bulgotanie dało zupełnie wyraźną reakcję pokarmową, zarówno wydzielniczą, jak i ruchową. Wydzielnicza wyniosła w ciągu 30 sek. 63 podziałki śliny (1 podz. = 0.01 cm³), co stanowi 70% reakcji na inne bodźce słuchowe i prawie trzykrotnie przewyższa ilość śliny otrzymywaną na bodźce dotykowe. Reakcja ruchowa, która polegała na zwrocie głowy w kierunku miski, machaniu ogonem i t. d., utrzymywała się jeszcze jakiś czas po przerwaniu bodźca i skończyła się ogólnym niepokojem. Ponieważ powyższa próba nie miała być oczywiście jedyną, przeto bulgotanie nie zostało wzmocnione.

Następne próby wykonano w doświadczeniach z dn. 25.I. i 30.I.36 r. (Nr. 147 i 151, tab. III). Bulgotanie dało po 29 połączeniach 38 podziałek (84% reakcji na inne bodźce słuchowe), a po 42 połączeniach 37 podziałek (52%).

W ostatnim z tych doświadczeń zaznaczył się pewien spadek reakcji na bulgotanie, wprawdzie tylko względny — w stosunku do reakcji na metronom, jednak budzący pewne podejrzenia, że i w naszym przypadku rozwija się hamowanie, opisywane przez innych autorów. Z tego powodu należało prowadzić doświadczenia w dalszym ciągu, aby sprawdzić, czy reakcja na bulgotanie będzie się nadal obniżać. Pewne jednak względy zmusiły nas do zmiany dotychczasowej metody. W ostatnich doświadczeniach zaczęło się pojawiać u „Brytana” stałe wydzielanie śliny w przerwach między bodźcami, zaś hamulec — metronom 60/1' okazał się rozhamowany. Ponieważ przypuszczaliśmy, że wskutek podawania pokarmu bez poprzedzającego go

Tabela III.

Doświadczenie Nr 147, dn. 25.1.36 r., godz. 17 m. 30 — *Expérience* Nr. 147, le 25.1.36, 17 heures 30.

Min. dośw.	Nr. potącz.	Rodźca warunkowe	Czas izolowania i działania bodźca warunkowego	Wydzielanie warunkowe	Wzmocnienie	Uwagi
<i>Minutes de l'expérience</i>	<i>Nr. de l'association</i>	<i>Stimuli conditionnel</i>	<i>Durée de l'action isolée du stimulus conditionnel</i>	<i>Sécrétion conditionnelle</i>	<i>Renforcement</i>	<i>Remarques</i>
			sec.	w 0.01 cm ³		
1'	497	metronom 120/1'	30	53	+	
5' 10"	29	bulgotanie (w czasie jedzenia) bruit de gonglou (pendant le repas)	(10)	—	+	
10'	104	dzwonek	30	53	+	
14' 30"	134	dotykanie stimulus tactile	30	37	+	
19'	5	bulgotanie bruit de gonglou	30	38	—	
22' 30"	498	metronom 120/1'	30	36	+	
27' 10"	30	bulgotanie (w czasie jedzenia) bruit de gonglou (pendant le repas)	(10)	—	+	
31'	499	metronom 120/1'	30	36	+	wyraźna ruchowa reakcja pokarmowa <i>réaction motrice alimentaire très nette</i>

Doświadczenie Nr. 151, dn. 30.1.36 r., godz. 17 m. 15. — *Expérience* Nr. 151, le 30.1.36, 17 heures 15.

1'	502	metronom 120/1'	30	88	+	
6' 10"	42	bulgotanie (w czasie jedzenia) bruit de gonglou (pendant le repas)	(10)	—	+	
10' 30"	6	bulgotanie bruit de gonglou	30	37	—	silna ruchowa reakcja pokarmowa; patrzy to do miski, to w stronę bulgotania, po zaprzestaniu bodźca niepokoi się i piszczy. <i>vive réaction alimentaire motrice; se tourne tantôt vers la gamelle tantôt vers le bruit; après l'interruption du stimulus — inquiétude, piaillé.</i>
14' 10"	43	bulgotanie (w czasie jedzenia) bruit de gonglou (pendant le repas)	(10)	—	+	
19'	503	metronom 120/1'	30	54	+	
23'	71	metronom 60/1'	30	17	—	

bodźca same okoliczności, w których odbywa się doświadczenie, nabrały własności bodźca warunkowego („refleks na o b s t a n o w k u”), przeto, aby zjawisko powyższe usunąć, w dalszym ciągu doświadczeń k a ż d e podanie pokarmu poprzedzono jednym z wyrobionych bodźców warunkowych (metronom 120/1', dzwonek, dotykanie). Na tle zaś jedzenia niekiedy, w 10" po podaniu pokarmu stosowano bulgotanie i wówczas po następnych 10" podawano drugą miskę. Rzeczywiście postępowanie tego rodzaju okazało się skuteczne i wydzielanie w przerwach znacznie zmalało.

Następne próby bulgotania wykonano w doświadczeniach z dn. 5 i 20.II.1936 r. (tab. IV). Po 52 połączeniach, bulgotanie dało 35 podziałek (63%), a po 102 połączeniach 44 podziały (75% reakcji na bodźce słuchowe).

W przytoczonych doświadczeniach bulgotanie wywoływało prócz reakcji ślinowej bardzo wyraźną reakcję ruchową. Natychmiast po zadziałaniu bodźca pies zwracał łeb w kierunku miski i czekał, aż pojawi się pokarm. Reakcja ta była bez porównania wybitniejsza, niż na bodźce dotykowe, przy których występowały tylko nieznaczne ruchy głowy.

Niezmiernie ciekawe było zachowanie się „Brytana”, wywoływane stosowaniem bulgotania w czasie jedzenia. Po paru sekundach „Brytan” przestawał jeść i z głową nachyloną nad nieoprózniczoną jeszcze całkowicie miską czekał na podanie mu następnej porcji. Zjawisko to nie było stałe; niekiedy podczas takiego czekania parę razy liznął znajdujący się przed nim pokarm. Wydzielanie śliny nie ulegało przytem zwolnieniu. Widać tu było współzawodnictwo dwóch reakcyj ruchowych: bezwarunkowej — wylizywania i warunkowej — oczekiwania. Należy przypuszczać, że obie te reakcje u „Brytana” posiadały mniej więcej jednakową siłę i w zależności od chwilowej przewagi jednej z nich, druga ulegała indukcyjnemu zahamowaniu. Już to samo zachowanie się zwierzęcia wskazuje, że zahamowane indukcyjnie przez bodziec bezwarunkowy odcinki kory nie są całkowicie nieczułe na działanie bodźców, które do nich dochodzą i że w odcinkach tych mogą wytwarzać się połączenia warunkowe, siłą swoją przewyższające nawet zachodzący w danej chwili odruch bezwarunkowy.

Przeszło 100 odwróconych skojarzeń bulgotania z pokarmem nie doprowadziło u „Brytana” do zahamowania wytworzonego w ten sposób odruchu warunkowego, co świadczy, że hamowanie indukcyjne nie jest w stanie „zarazić” sobą raz powstałego odruchu warunkowego.

Sprzeczność tych wyników z rezultatami, otrzymanymi przez innych autorów, zależy najwidoczniej od tego, że w naszych doświadczeniach bodziec stosowany na tle zachodzącego odruchu pokarmowego nie poprzedzał nigdy bezpośrednio końca jedzenia.

Aby usunąć możliwe zastrzeżenia, zaprzestano po bulgotaniu podawać drugą miskę pokarmu, czyli wprowadzono te same warunki, jakie spotykamy w doświadczeniach cytowanych autorów.

Już w pierwszym prowadzonym w ten sposób doświadczeniu (Nr. 172 z dn. 27.II.36 r., tab. V), w którym zastosowano 9 razy bulgotanie, niewzmocnione drugą porcją pokarmu, stwierdzono znaczny spadek reakcji ślinowej na ten bodziec — z 35 — 65 podziałek na 19. Jednocześnie, jak widać z protokołu, pod koniec doświadczenia znacznie spadły reakcje na wszystkie bodźce warunkowe, co zapewne stoi właśnie w związku z rozwijającym się tu hamowaniem bulgotania. Bulgotanie, które dotychczas dawało reakcję, wynoszącą 60—70% reakcji na inne bodźce słuchowe, dało teraz tylko 49%. Następne doświadczenia prowadzone w ten sam sposób obniżają wartość reakcji na bulgotanie jeszcze bardziej. W doświadczeniu Nr. 176 z dn. 3.III.36 r. (tab. V), po 33-krotnym zastosowaniu bulgotania w czasie jedzenia, bez następnego ponownego wzmocnienia, reakcja ta wynosi już tylko 30% reakcji na inne bodźce słuchowe. Zastosowany bezpośrednio po bulgotaniu dzwonek, wywołał wzmoczoną reakcję wydzielniczą, wykazując w ten sposób indukcję dodatnią. Prócz tego w obu przytoczonych doświadczeniach prawie całe wydzielanie śliny na bulgotanie przypada na pierwsze 15” działania tego bodźca.

Wszystko to świadczy o przetworzeniu się bulgotania z bodźca warunkowego w hamulec wewnętrzny.

Mamy tu do czynienia z pewnego rodzaju wygasaniem, tem różniącym się od wygasania zwykłego, że wytwarza się ono na

„Brytan

Tabela IV.

Doświadczenie Nr. 155, dn. 5.II.36 r., godz. 16 m. 20. — *Expérience* Nr. 155, le 5.II.36, 16 heures 20.

Min. dośw.	Nr. połączeń. <i>Nr. de l'association</i>	Bodźce warunkowe <i>Stimuli conditionnels</i>	Czas izolowanego działania bodźca warunkowego <i>Durée de l'action isolée du stimulus conditionnel</i> sec	Wydzielanie warunkowe <i>Sécrétion conditionnelle</i> w 0,01 cm ³	Wzmocnienie <i>Renforcement</i>	Uwagi <i>Remarques</i>
1'	115	dzwonek <i>sonnerie</i>	30	58	+	silna ruchowa reakcja pokarmowa. <i>forte réaction alimentaire matrice.</i>
6'	507	metronom 120/1' <i>métromome</i>	30	66	+	" " "
11'	7	bulgotanie <i>bruit de gonglou</i>	30	35	—	reakcja ruchowa dokładnie taka, jak na metronom. Przez cały czas patrzy do miski. <i>réaction matrice comme pour le métrome, Regarde la gamelle sans cesse.</i>
15'	146	dotykanie <i>stimulus tact le</i>	30	36	+	slaba ruchowa reakcja warunkowa. <i>réaction alimentaire matrice faible.</i>
22'	508	metronom 120/1' <i>métromome</i>	30	42	+	" " "
27'	147	dotykanie <i>stimulus tactile</i>	30	15	+	slaba ruchowa reakcja pokarmowa. <i>réaction alimentaire matrice faible.</i>
27' 40"	53	bulgotanie (w czasie jedzenia) <i>bruit de gonglou (pendant le repas)</i>	(10)	—	+	" " "
32'	148	dotykanie <i>stimulus tactile</i>	30	22	+	" " "
32' 40"	54	bulgotanie (w czasie jedzenia) <i>bruit de gonglou (pendant le repas)</i>	(10)	—	+	" " "

Doświadczenie Nr. 198, dn. 20.II.36 r., godz. 16 m. 55, — *Expérience* Nr. 198, le 20.II.36, 16 heures 55.

138	1'	dzwonek <i>sonnerie</i>	30	68	+	natychmiast zwraca się do miski. <i>se tourne immédiatement vers la gamelle.</i>
102	1' 40"	bulgotanie (w czasie jedzenia) <i>bruit de goulgoul (pendant le repas)</i>	(10)	—	+	w czasie bulgotania przerywa jedzenie i czeka na następną miskę. <i>pendant le bruit s'arrête de manger et attend la gamelle suivante.</i>
8	6'	bulgotanie <i>bruit de goulgoul</i>	30	44	—	na bulgotanie natychmiast zerwał się i podskoczył do miski, dłuższy czas trzyma głowę nad miską, przy końcu bodźca zaczął się rozglądać. <i>se dresse brusquement au stimulus, saute vers la gamelle, tient longtemps la tête au-dessus, regarde sur les côtés vers la fin de stimulation.</i>
535	10'	metronom 120/1' <i>métronome</i>	30	52	+	reakcja ruchowa mniej wybitna, niż na bulgotanie, ale trwa cały czas <i>réaction motrice moins intense que celle provoquée par le bruit mais subsiste pendant toute la durée d'application du stimulus.</i>
174	16'	dotykanie <i>et maldas tactile</i>	30	37	+	reakcja ruchowa bardzo słaba. <i>réaction motrice très faible.</i>
103	16' 40"	bulgotanie (w czasie jedzenia) <i>bruit de goulgoul (pendant le repas)</i>	(10)	—	+	przerywa jedzenie i czeka na następną miskę. <i>cesse de manger et attend la gamelle suivante.</i>
536	22'	metronom 120/1' <i>métronome</i>	30	47	+	reakcja ruchowa żywa. <i>réaction motrice vive.</i>
175	26'	dotykanie <i>stimulus tact le</i>	30	21	+	reakcja ruchowa słaba. <i>réaction motrice faible.</i>
104	26' 40"	bulgotanie (w czasie jedzenia) <i>bruit de goulgoul (pendant le repas)</i>	(10)	—	+	podczas bulgotania na 5" przerywa jedzenie, trzymając nadal głowę nad miską. <i>pendant le bruit l'animal s'arrête de manger, gardant la tête au-dessus de la gamelle.</i>

Tabela V.

Doświadczenie Nr. 172, dn. 27.II.36 r. — *Expérience* Nr. 172, le 27.II.36.

„Brytan”

Min. dośw.	Nr. połąc.	Bodźce warunkowe	Czas izolowanego działania bodźca warunkowego	Wydzielanie warunkowe	Wzmocnienie	Uwagi
<i>Minutes de l'expérience</i>	<i>Nr. de l'association</i>	<i>Stimuli conditionnels</i>	<i>Durée de l'action isolée du stimulus conditionnel</i> sec	<i>Sécrétion conditionnelle</i> w 0,01 cm ³	<i>Renforcement</i>	<i>Remarques</i>
1'	543	metronom 120/1'	30	39	+	
5' 30"	145	dzwonek	30	68	+	
6' 10"	1	bulgotanie (w czasie jedzenia) <i>bruit de gongolon (pendant le repas)</i>	(20)	—	—	po paru sekundach bulgotania przestaję jeść, zaczął jeść po zakończeniu bulgotania. <i>Pendant le bruit l'animal cesse de manger au bout de quelques secondes; mange après l'interruption du bruit.</i>
9'	544	metronom 120/1'	20	41	+	
9' 40"	2	bulgotanie (w czasie jedzenia) <i>bruit de gongolon (pendant le repas)</i>	(20)	—	—	na 4'' bulgotania przestaję jeść, zaczął ponownie 4'' po zakończeniu bodźca. <i>après 4'' de bruit — cesse, de manger, recommence 4'' après l'interruption du bruit.</i>
13'	181	dotykanie	30	19	+	
13' 40"	3	bulgotanie (w czasie jedzenia) <i>bruit de gongolon (pendant le repas)</i>	(20)	—	—	na 9'' bulgotania przestaję jeść, po paru sek. zaczął ponownie i znów przestaję; na nowo wziął się do jedzenia 2'' po zakończeniu bulgotania. <i>au bout de 9'' du bruit s'arrête de manger, recommence et s'arrête de nouveau, pour se mettre à manger 2'' après la fin du bruit.</i>
17'	146	dzwonek	30	42	+	
17' 40"	4	bulgotanie (w czasie jedzenia) <i>bruit de gongolon (pendant le repas)</i>	(20)	—	—	nie przerwał jedzenia podczas bulgotania. <i>n'a pas interrompu le repas pendant le bruit.</i>
21'	545	metronom 120/1'	30	29	+	
21' 40"	5	bulgotanie (w czasie jedzenia) <i>bruit de gongolon (pendant le repas)</i>	(20)	—	—	na 14'' bulgotania przerwał jedzenie i po paru sek. zaczął ponownie. <i>cesse de manger à la 14'' de bruit, mais recommence bientôt.</i>

25'	147 _a	dzwonek <i>sonnerie</i>	30	39	+	nie przerwał jedzenia. <i>n'a pas interrompu le repas pendant le bruit.</i>
25' 40"	6	bulgotanie (w czasie jedzenia) <i>bruit de glouglou (pendant le repas)</i>	(20)	—	—	
29'	182	dotykanie <i>stimulus tactile</i>	30	26	+	na 10' bulgotania przerwał jedzenie, na 15' zaczął jeść ponownie. <i>s'arrête de manger au bout de 10' de bruit, recommence à la 15'.</i>
29' 40"	7	bulgotanie (w czasie jedzenia) <i>bruit de glouglou (pendant le repas)</i>	(20)	—	—	
33'	148	dzwonek <i>sonnerie</i>	30	42	+	nie przerwał jedzenia. <i>n'a pas interrompu le repas pendant le bruit.</i>
33' 40"	8	bulgotanie (w czasie jedzenia) <i>bruit de glouglou (pendant le repas)</i>	(20)	—	—	na metronom piszczał i rozglądał się. <i>sur les côtés</i>
37'	546	metronom 120/1'	30	28	+	nie przerwał jedzenia. <i>ne cesse pas de manger.</i>
37' 40"	9	bulgotanie (w czasie jedzenia) <i>bruit de glouglou (pendant le repas)</i>	(20)	—	—	reakcja orjentacyjna na bulgotanie, potem spojrzął do miski, następnie rozglądał się obojętnie. <i>réaction d'investigation au bruit; jette un coup d'œil dans la gamelle regarde sur le côté.</i>
40' 30"	9	bulgotanie <i>bruit de glouglou</i>	30	19	—	

Doświadczenie Nr. 176, dn. 3.III.36 F., godz. 16 m. 30. — *Expérience Nr. 176, le 3.III.36, 16 heures 30.*

1'	157	dzwonek <i>sonnerie</i>	30	73	+	nie przerwał jedzenia. <i>ne cesse pas de manger.</i>
1' 40"	31	bulgotanie (w czasie jedzenia) <i>bruit de glouglou (pendant le repas)</i>	(20)	—	—	
5'	554	metronom 120/1'	30	61	+	" " "
5' 40"	32	bulgotanie (w czasie jedzenia) <i>bruit de glouglou (pendant le repas)</i>	(20)	—	—	" " "
9' 30"	190	dotykanie <i>stimulus tactile</i>	30	46	+	" " "
10' 10"	33	bulgotanie (w czasie jedzenia) <i>bruit de glouglou (pendant le repas)</i>	(20)	—	—	" " "
13' 30"	10	bulgotanie <i>bruit de glouglou</i>	30	20	—	bardzo słaba reakcja pokarmowa, siedząc patrzy w kierunku miski, brak jakiegokolwiek ożywienia, zachowuje się podobnie, jak na hamulec. <i>réaction alimentaire très faible; l'animal reste assis, regarde sans animation vers celui qui prononce l'inhibiteur.</i>
18'	158	dzwonek <i>sonnerie</i>	30	79	+	na dzwonek zerwał się, przez cały czas patrzył uporezywie do miski, machał ogonem. <i>la sonnerie le fait lever brusquement, l'animal regarde fixement la gamelle et agite la queue.</i>

bodziec stosowany w czasie jedzenia. Jest rzeczą godną uwagi, że hamowanie gaszące rozwija się w tych warunkach, pomimo ciągłego stosowania bodźca bezwarunkowego. Okoliczność ta, być może, opóźnia rozwój hamowania, nie jest jednak w stanie powstrzymać go całkowicie.

W doświadczeniach ze zwykłym wygasaniem, możemy śledzić stopniowe zmniejszanie się reakcji wydzielniczej na hamowany bodziec; przy bodźcu, stosowanym w czasie jedzenia, nie pozwala na to zachodząca jednocześnie reakcja bezwarunkowa i dlatego zmuszeni jesteśmy sprawdzać jego aktualną wartość przez oddzielne stosowanie od czasu do czasu hamowanego bodźca. U „Brytana” jednak owo zmniejszanie się reakcji warunkowej przejawiało się bardzo wyraźnie w reakcji ruchowej. Jak widać z protokołów, spoczątku „Brytan” na bulgotanie przestawał jeść i czekał na następną miskę. Stopniowo te przerwy w jedzeniu stawały się coraz krótsze, aż zanikły zupełnie i zwierzę przestało reagować w ten sposób na pojawiające się w czasie jedzenia bulgotanie.

Po wykonaniu tych doświadczeń, pozostała do usunięcia jeszcze jedna wątpliwość, czy rzeczywiście ostatecznie zmniejszenie reakcji na bulgotanie pozostaje w związku z zaprzestaniem podawania drugiej miski jedzenia, czy nie jest to poprostu wynik ciągłego stosowania bulgotania w czasie jedzenia, wynik, który dotychczas, pomimo 102 połączeń nie zdążył wystąpić i dopiero teraz nagle się ujawnił. Dlatego też wróciliśmy do dawnej metodyki, t. j. zaczęliśmy ponownie wzmacniać bulgotanie przez drugą miskę pokarmu, a następnie po 21 połączeniach, w doświadczeniu Nr. 182 i po 30 połączeniach w dośw. Nr. 185 wypróbowaliśmy znowu działanie bulgotania (tab. VI).

W pierwszym przypadku bodziec ten dał 28 podziałek (58% reakcyj na bodźce słuchowe), w drugim — 30 podziałek (61%).

Gdyby wyżej podana wątpliwość była słuszna, należałoby oczekiwać dalszego zmniejszenia się reakcji na bulgotanie, tymczasem, jak widzimy, reakcja ta ulega zwiększeniu.

Powyższe doświadczenia dowodzą, że w zahamowanych indukcyjnie przez odruch bezwarunkowy częściach kory mózgowej mogą powstawać nowe połączenia warunkowe, że mogą one ulegać zahamowaniu i ponownej restytucji. Narazie, jeżeli cho-

Doświadczenie Nr 182, dn. 12.III.31 r., godz. 16 m. 55. — *Expérience Nr. 182, le 12.III.36, 16 heures 55.*

Min. dośw.	Nr. polącz. Nr. de l'association	Bodźce warunkowe Stimuli conditionnels	Czas izolowania- nego działania bodźca warun- kowego Durée de l'isolation isolée du stimu- lus conditionnel sec	Wydzielanie warunkowe Sécrétion conditionnelle w 0.01 cm ³	Zwmo- czenie Renforce- ment	Uwagi Remarques
1'	564	metronom 120/1'	30	61	+	na bulgotanie nie przerwał jedzenia. <i>ne cesse pas de manger pendant le bruit.</i>
1' 40"	132(19*)	bulgotanie (w czasie jedzenia) <i>bruit de glouglou (pendant le repas)</i>	(15)	—	+	na bulgotanie nie przerwał jedzenia. <i>ne cesse pas de manger pendant le bruit.</i>
6'	200	dotykanie <i>stimulus tactile</i>	30	37	+	staba reakcja pokarmowa. <i>réaction alimentaire faible</i>
6' 40"	133(20)	bulgotanie (w czasie jedzenia) <i>bruit de glouglou (pendant le repas)</i>	(10)	—	+	na bulgotanie nie przerwał jedzenia. <i>ne cesse pas de manger pendant le bruit.</i>
10' 30"	565	metronom 120/1'	30	39	+	na bulgotanie nie przerwał jedzenia. <i>ne cesse pas de manger pendant le bruit.</i>
11' 10"	134(21)	bulgotanie (w czasie jedzenia) <i>bruit de glouglou (pendant le repas)</i>	(10)	—	+	zywa reakcja pokarmowa, przez cały czas trzyma głowę nad miską. <i>vive réaction alimentaire. Tient la tête au — dessus de la gamelle pendant tout la durée du stimulus.</i>
15'	11	bulgotanie <i>bruit de glouglou</i>	30	28	—	zywa reakcja pokarmowa, piszczy. <i>forte réaction alimentaire. Piauie.</i>
19'	566	metronom 120/1'	30	44	+	
24'	201	dotykanie <i>stimulus tactile</i>	30	26	+	
Doświadczenie Nr. 185, dn. 19.III.36 r., godz. 17. — <i>Expérience Nr. 185, le 19.III.36, 17 heures.</i>						
1'	571	metronom 120/1'	30	54	+	b. żywa reakcja pokarmowa. <i>forte réaction alimentaire.</i>
1' 40"	142(29)	bulgotanie (w czasie jedzenia) <i>bruit de glouglou (pendant le repas)</i>	(15)	—	+	na 8' bulgotania przestał jeść. <i>s'arrête de manger à la 8 sec. de bruit.</i>
6'	12	bulgotanie <i>bruit de glouglou</i>	30	30	—	na bulgotanie zerwał się i stanął nad miską, jak przy innych bodźcach stuchowych po chwili podniósł głowę, rozglądał się, piszczał. <i>le bruit fait lever l'animal brusquement. L'animal se tient au — dessus de la gamelle ensuite leve la tête, regarde, piaule.</i>
10'	173	dzwonek <i>sonnerie</i>	30	39	+	na bulgotanie nie przestał jeść. <i>ne cesse pas de manger pendant le bruit.</i>
10' 45"	143(30)	bulgotanie (w czasie jedzenia) <i>bruit de glouglou (pendant le repas)</i>	(15)	—	+	przez cały czas patrzy do miski. <i>regarde sans cesse la gamelle.</i>
15'	13	bulgotanie <i>bruit de glouglou</i>	30	30	+	

*) Liczby w nawiasach podają numer bulgotania od czasu ponownego wzmacniania przez drugą miskę pokarmu.

Les nombres entre paranthèses indiquent le Nr. de l'application du bruit depuis que ce stimulus est de nouveau renforcé par une seconde gamelle.

dzi o wytwarzanie się w tych warunkach hamowania wewnętrznego, mieliśmy do czynienia tylko z wygasaniem. Czy dotyczy to również innych odmian hamowania czynnego, naprzykład różniczkowania — zagadnienie to pozostaje tymczasem otwarte; próbę jego rozwiązania wykonaliśmy na drugim psie, „Czarnym”. Do doświadczeń tych przejdziemy obecnie.

II.

„Czarny”, samiec, wagi 19 kg., typ pobudliwy. Przetokę ślinową prawej ślinianki przyusznej założono dnia 13.XII.35 r. Wytworzono odruch warunkowy na światło (zapalenie się lampek elektrycznych), którego efekt wynosił dwadzieścia kilka podziałek śliny w ciągu 15" izolowanego działania bodźca. W czasie przerw występowało stałe wydzielanie śliny, wynoszące średnio 13 podziałek na 15 sek.

W doświadczeniach Nr. 10 z dn. 15.I. i Nr. 11 z dn. 16.I. 36 r. (tab. VII) wypróbowano działanie metronomu 120/1'. Ponieważ wydzielanie śliny na metronom nie przewyższało wydzielania w przerwach, można było uznać metronom za bodziec obojętny. Podobnie, jak u „Brytana”, zaczęto następnie stosować sam pokarm, po 5" puszczano w ruch metronom 120/1', poczem po 10" wzmacniano ten bodziec przez drugą miskę pokarmu. Ogółem metronom działał 15—20". Czas jedzenia z obu misek wynosił około 45", z jednej — 30". Po 15 takich połączeniach w doświadczeniu Nr. 19 z dn. 25.I.36 r. (tab. VIII) wypróbowano działanie samego metronomu. Odruch na metronom nie wytworzył się jeszcze — reakcja nań nie przewyższała wydzielania w poprzedzającej przerwie. Następne jednak próby, po 26 połączeniach (w doświadczeniu Nr. 23 z dn. 30.I.36 r.) i po 43 połączeniach (w doświadczeniu Nr. 28 z dn. 6.II.36 r. tab. IX), dały już wyraźny w porównaniu z przerwą wzrost wydzielania śliny na metronom. Świadczy to o wytworzeniu się odruchu warunkowego na ten bodziec. W doświadczeniach tych wartość reakcji na metronom 120/1' dochodzi do 70% reakcji na światło.

W następnych doświadczeniach wprowadzono, z zamiarem różniczkowania, metronom 60/1', stosowany w czasie jedzenia, bez wzmocnienia przez drugą porcję pokarmu. Metronom ten zaczynał działać w 10—15" po podaniu miski jedzenia i był

Doświadczenie Nr. 10, z dn. 15.I.36 r., godz. 16 m. 50. — *Expérience Nr. 10, le 15.I.36, 17 heures 50.*

Min. dośw.	Nr. połączenia	Bodźce warunkowe	Czas izolowanego działania bodźca warunkowego	Wydzielanie warunkowe	Wzmocnienie	Wydzielanie średnio przez 15' w ciągu 1 min. przed bodźcem	Uwagi
<i>Minute de l'expérience</i>	<i>Nr. de l'association</i>	<i>Stimuli conditionnels</i>	<i>Durée de l'action isolée du st. mutus conditionnel sec.</i>	<i>Sécrétion conditionnelle w 0,01 cm³</i>	<i>Renforcement</i>	<i>Quantité moyenne de salive en 15' — 1 min. avant le stimulus</i>	<i>Remarques</i>
1'	51	światło <i>lampe</i>	15	13	+		
5'	52	"	15	27	+		
10'	53	"	15	17	+		
14'	1	metronom 120/1'	15	12	-	16	
16'	54	światło <i>lampe</i>	15	19	+		
21'	55	"	15	19	+		
25'	56	"	15	24	+	13	

Doświadczenie Nr. 11, z dn. 16.I.36 r., godz. 15 m. 40. — *Expérience Nr. 11, le 16.I.36, 15 heures 40.*

1'	57	światło <i>lampe</i>	15	25	+		
8'	58	"	15	22	+	13	
12'	59	"	15	35	+	11	
16'	2	metronom 120/1'	15	7	-	12	
18'	60	światło <i>lampe</i>	15	24	+	15	
22'	61	"	15	27	+	10	

„Czarny“

Tabela VIII.

Doświadczenie Nr. 19, z dn. 25 I.36 r., godz. 15 m. 50. — *Expérience Nr. 19, le 25.I.36, 15 heures 50.*

Min. dośw. <i>Minute de l'expérience</i>	Nr. połączeń <i>Nr. de l'association</i>	Bodźce warunkowe <i>Stimuli conditionnels</i>	Czas izolowanego działania bodźca warunkowego <i>Durée de l'action isolée du stimulus conditionnel sec.</i>	Wydzielanie warunkowe <i>Sécrétion conditionnelle w 0.01 cm³</i>	Zmocnienie <i>Remforcement</i>	Wydzielanie średnio przez 15" w ciągu 1 min. przed bodźcem <i>Quantité moyenne de salive en 15" — 1 min. avant le stimulus</i>	Uwagi <i>Remarques</i>
1'	85	światło <i>lampe</i>	15	31	+		
5' 5"	15	metronom 120/1' (w czasie jedzenia) <i>métronome pendant le repas</i>	(10)	—	+	14	
10'	86	światło <i>lampe</i>	15	33	+	12	
14'	3	metronom 120/1' <i>métronome</i>	15	13	-	14	brak ruchowej reakcji pokarmowej. <i>pas de réaction alimentaire motrice.</i>
17'	87	światło <i>lampe</i>	15	30	+	10	
21' 5"	16	metronom 120/1' (w czasie jedzenia) <i>métronome pendant le repas</i>	(10)	—	+	5	

Tabela IX.

Doświadczenie Nr. 23, z dn. 30.II.36 r., godz. 15 m. 35. — *Expérience Nr. 23, le 30.II.36, 15 heures 35.*

Minuta doświad.	Nr. połączenia	Bodźce warunkowe	Czas izolowanego działania bodźca warunkowego	Wydzielanie warunkowe	Srednie wydzielanie w ciągu 1 min. przed bodźcem	Uwagi
<i>Minute de l'expérience</i>	<i>Nr. de association</i>	<i>Stimuli conditionnels</i>	<i>Durée de l'action isolée du stimulus conditionnel</i> sec.	<i>Sécrétion conditionnelle</i> w 0.01 cm ³	<i>Renforcement</i>	<i>Remarques</i>
1' 5"	26	metronom 120/1' (w czasie jedzenia) <i>metronome 120/1' pendant le repas</i>	(8)	—	+	
6'	94	światło <i>lampe</i>	15	40	+	
10'	4	metronom 120/1' <i>metronome 120/1'</i>	15	23	—	
13' 5"	27	metronom 120/1' (w czasie jedzenia) <i>metronome 120/1' pendant le repas</i>	(8)	—	+	
18'	95	światło <i>lampe</i>	15	29	+	
23' 35"	28	metronom 120/1' (w czasie jedzenia) <i>metronome 120/1' pendant le repas</i>	(8)	—	+	
Doświadczenie Nr. 28, z dn. 6.II.36 r., godz. 15 m. 45. — <i>Expérience Nr. 28, le 6.II.36, 15 heures 45.</i>						
1' 5"	43	Metronom 120/1' (podczas jedzenia) <i>Métronome 120/1' pendant le repas</i>	(8)	—	+	
7'	102	światło <i>lampe</i>	15	29	+	
12'	5	metronom <i>métronome</i>	15	20	—	
16'	103	światło <i>lampe</i>	15	29	+	
22' 5"	44	metronom 120/1' (w czasie jedzenia) <i>metronome 120/1' pendant le repas</i>	(8)	—	+	
28' 5"	45	metronom 120/1' (w czasie jedzenia) <i>metronome 120/1' pendant le repas</i>	(12)	—	+	

brak wyraźnej reakcji pokarmowej
*pas de réaction nette*niepokój — zwraca się do mi-
ski, potem znów spokojny
*inquiet, se tourne vers la ga-
melle, se calme ensuite*

czynny aż do chwili, gdy zwierzę przestawało jeść, to znaczy w ciągu 15—20". Aby usunąć wydzielanie w przerwie, zastosowano zabieg, który dał dobry skutek u „Brytana”, mianowicie, zaprzestano podawania misek z pokarmem bez poprzedzającego bodźca warunkowego. Poczynając od doświadczenia Nr. 36 z dn. 28.II.36 r., wprowadzono nowy bodziec — dotykanie i stosowano go narówni ze światłem (15" przed podaniem pokarmu), w czasie zaś jedzenia dawano za każdym razem albo metronom 120/1', wzmacniany powtórnią miską jedzenia, albo też metronom 60/1' bez następnego wzmocnienia. Od czasu do czasu próbowano same metronomy, aby sprawdzić wywoływane przez nie reakcje warunkowe. Niestety u „Czarnego” postępowanie tego rodzaju nie odniosło oczekiwanego skutku — wydzielanie śliny w przerwach trwało nadal. Okoliczność ta zaciemnia w pewnym stopniu otrzymane wyniki.

W doświadczeniu Nr. 55 z dn. 11.III.36 r. metronom 120/1' po 117 połączeniach dał 27 podziałek śliny, co stanowiło 77% reakcji na inne bodźce. W doświadczeniu Nr. 57 z dn. 13.III.36 r. metronom 60/1' po 60 połączeniach dał 20 podziałek, t. j. 60% innych reakcyj (tab. X). O wytworzeniu się różniczkowania nie możemy tu jeszcze mówić — różnica między reakcjami na oba metronomy jest zbyt mała, aby móc twierdzić, że nie jest przypadkowa. Dopiero w następnych doświadczeniach staje się ona zupełnie wyraźna. Metronom 120/1' w doświadczeniu Nr. 72 z dn. 3.IV.36 r. po 170 połączeniach daje 23 podziałki śliny — dokładnie tyle co bodziec świetlny; reakcja zaś na metronom 60/1', w doświadczeniu Nr. 75 z dn. 7.IV.36 r. po 100 połączeniach wynosi tylko 13 podziałek, co stanowi zaledwie połowę wydzielania na światło (tab. XI). Zaznaczyć tu jeszcze wypada, że wydzielanie w przerwie, poprzedzającej próbę metronomu 120/1', było wyjątkowo małe, tak że wydzielanie na ten bodziec wystąpiło bardzo wyraźnie. Prócz tego, pojawiła się znaczna ruchowa reakcja pokarmowa — pies zwrócił głowę do miski, czego nie czynił dotychczas nigdy, ani na bodziec dotykowy, ani na światło. Natomiast na metronom 60/1' nie można było u „Czarnego” spostrzec żadnej ruchowej reakcji pokarmowej — ślinowa zaś nie przewyższała w gruncie rzeczy wydzielania w poprzedzającej przerwie.

Tak więc metronom 120/1', pomimo że był przeszło 170 razy stosowany na tle odruchu bezwarunkowego nie wykazał żadnej tendencji do hamowania, natomiast hamowanie to wyraźnie się zaznaczyło na metronomie 60/1', nie wzmacnianym przez drugą miskę pokarmu i tem samym poprzedzającym zawsze zakończenie jedzenia. Doświadczenia te świadczą o możliwości różniczkowania bodźców, pojawiających się na tle odruchu bezwarunkowego.

III.

Jak widzimy, zasadnicze rezultaty doświadczeń są ze sobą zgodne — w naszych warunkach odruch warunkowy wytwarza się i nie ulega zahamowaniu. Jednak wielkość tego odruchu jest w obu przypadkach różna. U „Brytana” prawo siły bodźców jest w ogólnych zarysach zachowane. Bulgotanie, jako bodziec dźwiękowy, nie dorównywa wprawdzie innym bodźcom dźwiękowym, lecz daje reakcję większą, niż dotykanie. U „Czarnego” zaś metronom nie może dorównać nawet tak słabemu bodźcowi, jakim jest zazwyczaj bodziec świetlny — lampka.

Przedewszystkiem należało się przekonać, czy niskie wartości odruchów na bulgotanie (u „Brytana”) i metronom 120/1' (u „Czarnego”), zależą od stosowania tych bodźców podczas jedzenia. W tym celu w jednej z następnych seryj doświadczeń zaczęto stosować te bodźce p r z e d podaniem pokarmu: u „Brytana” o 30", u „Czarnego” o 15".

Okazało się rzeczywiście, że odruchy te wzmożły się (patrz protokoły: „Brytan” Nr. 189 z dn. 24.III.36 r. i „Czarny” Nr. 78 z dn. 10.IV.36 r. tab. XII).

Reakcja na bulgotanie wzrosła średnio o 30—40% w stosunku do dawnych wartości i osiągnęła w ten sposób poziom bodźców słuchowych. Reakcja na metronom u „Czarnego” wzrosła o przeszło 50% i przewyższyła reakcję na światło i bodziec dotykowy.

Doświadczenia te wykazują, że odruchy warunkowe, które wytwarzają się na bodźce stosowane po podaniu pokarmu, posiadają *caeteris paribus* niższe wartości od odruchów wytwarzanych zwykłym sposobem, gdy bodziec warunkowy poprzedza bezwarunkowy.

Tabela X.

Doświadczenie Nr. 55, z dn. 11.III.36 r., godz. 15 m. 55. — *Expérience Nr. 55, le 11.III.36, 15 heures 55.*

Minuta doświad.	Nr. połączenia	Dośćce warunkowe	Czas izolowanego działania bodźca warunkowego	Wydzielanie warunkowe	Wzmocnienie	Średnie wydzielanie w ciągu 1 min. przed bodźcem	U w a g i
<i>Minute de l'expérience</i>	<i>Nr. de l'association</i>	<i>Bodźce conditionnels</i>	<i>Durée de l'action isolée du stimulus conditionnel</i> sec.	<i>Sécrétion conditionnelle</i> w 0.01 cm ³	<i>Renforcement</i>	<i>Quantité moyenne de salive avant le stimulus</i>	<i>Remarques</i>
1'	145	światło	15	30	+		
1' 25"	117	metronom 120/1' (w czasie jedzenia)	(10)	—	+		
5' 30"	32	dotykkanie	15	35	+	14	
5' 55"	118	<i>stimulus tactile</i>	(10)	—	+		
10'	38	metronom 120/1' (w czasie jedzenia)	15	38	+	12	
10' 25"	119	dotykkanie	(10)	—	+		
14'	8	<i>stimulus tactile</i>	15	27	—	12	niewyraźnej reakcji pokarmowej
18'	146	metronom 120/1' (w czasie jedzenia)	15	38	+	20	<i>pos de réaction nette</i>
18' 25"	120	światło	(10)	—	+		
23'	34	metronom 120/1' (w czasie jedzenia)	15	34	+	10	
23' 25"	55	dotykkanie	(25)	—	—		
		<i>stimulus tactile</i>					
		metronom 60/1' (w czasie jedzenia)					
		<i>metronome 60/1' pendant le repas</i>					
Doświadczenie Nr. 57, z dn. 13.III.36 r. — <i>Expérience Nr. 57, le 13.III.36.</i>							
1'	38	dotykkanie	15	27	+		
1' 25"	123	<i>stimulus tactile</i>	(10)	—	+		
6'	150	metronom 120/1' (w czasie jedzenia)	15	33	+	14	
		<i>metronome 120/1' pendant le repas</i>					
6' 25"	60	światło	(25)	—	—		
10'	39	metronom 60/1' (w czasie jedzenia)	15	37	+	18	
10' 25"	61	dotykkanie	(20)	—	—		
		<i>stimulus tactile</i>					
		metronom 60/1' (w czasie jedzenia)					
		<i>metronome 60/1' pendant le repas</i>					

Minuta doświad.	Nr. połączenia	Bodźce warunkowe	Czas izolowanego działania bodźca warunkowego	Wydzielanie warunkowe	Średnie wydzielanie w ciągu 1 min. przed bodźcem	U w a g i
Minute de l'expérience	Nr. de l'association	Stimuli conditionnels	Durée de l'action isolée du stimulus conditionnel	Sécrétion conditionnelle	Quantité moyenne de salive en 15" — 1 min. avant le stimulus	Remarques
			sec.	w 0.01 cm ³	Vzmocnienie	
20'	83	dotykanie stimulus tactile	15	28	+	
20' 25"	170	metronom 120/1' (w czasie jedzenia) métronome 120/1' pendant le repas	(10)	—	+	Reakcja ruchowa mniejsza niż na metronom Réaction motrice plus faible que pendant le métronome
Doświadczenie Nr. 75, dn. 7.IV.36 r., godz. 15 m. 50. — Expérience Nr. 75, le 7.IV.36, 15 heures 50.						
1'	200	światło lampe	15	24	+	
1' 25"	109	metronom 60/1' (w czasie jedzenia) métronome 60/1' pendant le repas	(20)	—	—	
5' 30"	88	dotykanie stimulus tactile	15	30	+	10
5' 55"	110	metronom 60/1' (w czasie jedzenia) métronome 60/1' pendant le repas	(20)	—	—	10
9' 30"	4	metronom 60/1' métronome 60/1'	15	13	—	Ruchowej reakcji pokarmowej brak — spokojny Pas de réaction alimentaire motrice — l'animal est calme
13'	201	światło lampe	15	32	+	7
13' 25"	177	metronom 120/1' (w czasie jedzenia) métronome 120/1' pendant le repas	(10)	—	+	5
18'	89	dotykanie stimulus tactile	15	25	+	5
18' 25"	178	metronom 120/1' (w czasie jedzenia) métronome 120/1' pendant le repas	(10)	—	+	5
23'	202	światło lampe	15	26	+	5
23' 25"	179	metronom 120/1' (w czasie jedzenia) métronome 120/1' pendant le repas	(10)	—	+	

Tabela XII.

„Brytan”

Doświadczenie Nr. 189, z dn. 24.III.36 r., godz. 15 m. 50. — *Expérience* Nr. 189, le 24.III.36, 15 heures 50.

Minuta doświad.	Nr. połączenia	Bodźce warunkowe	Czas izolowanego bodźca warunkowego	Wydzielanie warunkowe	Wzmocnienie	U w a g i
<i>Minute de l'expérience</i>	<i>Nr. de l'association</i>	<i>Stimuli conditionnels</i>	<i>Durée de l'action isolée du stimulus conditionnel</i> sec.	<i>Sécrétion conditionnelle</i> w 0,01 cm ³	<i>Renforcement</i>	<i>Remarques</i>
2'	179	dzwonek	30	56	+	
7'	14 *)	bulgotanie	30	56	+	
11'	577	<i>bruit de glouglou</i> metronom 120/1'	30	43	+	
16'	15	bulgotanie	30	47	+	
20'	97	<i>bruit de glouglou</i> metronom 60/1'	30	10	—	
25'	237	dotykanie	30	37	+	
30'	180	dzwonek	30	52	+	
34'	16	bulgotanie	30	35	+	
„Czarny”		Doświadczenie Nr. 78, z dn. 10.IV.36 r., godz. 15 m. 10. — <i>Expérience</i> Nr. 78, le 10.IV.36, 15 heures 10.				
3'	206	światło	15	31	+	
8'	8 *)	metronom metronome 120/1'	15	43	+	
13' 30"	94	dotykanie	15	28	+	
17' 30"	9	metronom metronome 120/1'	15	36	+	
22'	4 *)	metronom 60/1'	15	24	—	
26'	10	metronom metronome 120/1'	15	30	+	

*) Nr. bodźca stosowanego jako bodziec poprzedzającej pokarm. Poprzednio odwróconych kojarzeń bulgotania było 142, metronomu 120/1' — 180, a metronomu 60/1' — 110.

*) Nr. du stimulus appliqué avant le repas. Il y avait avant: 142 associations „superposées” de bruit de glouglou, 180 du métronome 120/1' et 110 du métronome 60/1'.

Od czego to zależy? Czy mamy tu do czynienia z hamowaniem, o którym mówią inni autorzy, które wprawdzie nie spowodowało u nas reakcji do zera, a tylko obniżyło jej wartość, czy też po prostu bodziec taki (podobnie do słabszych bodźców) w mniejszym stopniu pobudza ośrodek pokarmowy, t. j. wytworzone połączenie warunkowe jest słabsze, niż w zwykłych warunkach?

Gdybyśmy tu mieli do czynienia z hamowaniem, wówczas bodziec, który dzięki zmianie warunków stosowania na zwykłe wywoływał większą reakcję, winienby po powrocie do dawnych warunków (stosowania go podczas jedzenia), dać ponownie reakcję zmniejszoną. Jeżeli natomiast pierwotna niska wartość odruchu była spowodowana tem, że wskutek stosowania bodźca na tle jedzenia, odpowiednie połączenie było słabsze, niż w warunkach normalnych, wówczas należy przewidywać, że ponowne odwrócenie kolejności stosowanych bodźców nie powinno zmniejszyć wartości bodźca warunkowego.

Odpowiednie doświadczenia zostały wykonane na „Brytanie”. Po zastosowaniu bulgotania 49 razy dawnym sposobem (t. j. w czasie jedzenia), wypróbowano następnie jego wartość, stosując ten bodziec oddzielnie (doświadczenie Nr. 210 z dn. 29.IV.36 r. tab. XIII). Reakcja na bulgotanie nie uległa obniżeniu i dorównywała nadal reakcjom na inne bodźce słuchowe.

Doświadczenie to potwierdza drugie z podanych przypuszczeń, że bodziec stosowany po podaniu pokarmu nie uzyskuje pełni swej wartości, wskutek słabszego, niż w zwykłych warunkach, połączenia ośrodka tego bodźca z ośrodkiem pokarmowym.

Dyskusja.

Z doświadczeń naszych wynika, iż pierwotny pogląd K r e s t o w n i k o w a, polegający na tem, że podczas działania bodźca bezwarunkowego zdolność kory do wytwarzania połączeń warunkowych zostaje czasowo zniesiona jest nieślusny. Również nieślusne jest ujęcie tych autorów, którzy pogląd powyższy obalili, twierdząc, iż w zahamowanych indukcyjnie częściach kory wytwarzają się co prawda nowe połączenia, lecz

Doświadczenie Nr. 210, z dn. 22.IV.36 r., godz. 15 m. 50.—*Expérience Nr. 210, le 22.IV.36, 15 heures 50.*

Minuta doświad.	Nr. połączenia	Bodźce warunkowe	Czas izolowanego działania bodźca warunkowego	Wydzielanie warunkowe	Wzmocnienie	U w a g i
<i>Minute de l'expérience</i>	<i>Nr. de l'association</i>	<i>Stimuli conditionnels</i>	<i>Durée de l'action isolée du stimulus conditionnel</i> sec.	<i>Sécrétion conditionnelle</i> w 0.01 cm ³	<i>Renforcement</i>	<i>Remarques</i>
1'	568	metronom 120/1'	30	57	+	
1' 40"	48 ^{a)}	bulgotanie (w czasie jedzenia) <i>bruit de glonglou pendant le repas</i>	(10)	—	+	
7'	219	dzwonek <i>sonnerie</i>	30	70	+	
7' 40"	49	bulgotanie (w czasie jedzenia) <i>bruit de glonglou pendant le repas</i>	(10)	—	+	
13'	29	bulgotanie <i>bruit de glonglou</i>	30	73	+	
18'	220	dzwonek <i>sonnerie</i>	30	46	+	
22'	569	metronom 120/1'	30	44	+	
26' 30"	30	bulgotanie <i>bruit de glonglou</i>	30	40	+	
31'	232	dotykanie <i>stimulus tactile</i>	30	32	+	

a) Nr. bulgotania od czasu, kiedy zaczęto je ponownie stosować w czasie jedzenia.

b) Nr. d'application du bruit de glonglou depuis qu'il est de nouveau appliqué pendant le repas.

odpowiednie bodźce, trafiając stale na zahamowane komórki, same stają się hamulcami.

Wyniki, które otrzymaliśmy, rzucają odmienne światło na kwestję wytwarzania się połączeń warunkowych w zahamowanych obszarach kory, a zarazem zmuszają do nowego ujęcia wyników, otrzymanych przez cytowanych we wstępie autorów.

Co się tyczy pierwszej kwestji, to wykazaliśmy, że przy należyтым układzie doświadczeń — gdy stosowany podczas jedzenia bodziec obojętny nie jest sygnałem końca jedzenia, lecz sygnalizuje nową porcję pokarmu, odruch warunkowy na ten bodziec wytwarza się i jest trwały. Wyrazem tego odruchu jest, z jednej strony, wydzielnicza i ruchowa reakcja pokarmowa, występująca na powyższy bodziec stosowany oddzielnie, z drugiej zaś — reakcja ruchowa, która może się zjawić przy stosowaniu bodźca podczas jedzenia i która polega na zaprzestaniu jedzenia i „oczekiwaniu” następnej miski. (Wy tłumaczenie tego „oczekiwania” podaliśmy wyżej). Odruch w ten sposób wytworzony może być wygaszony, gdy bodziec stosowany podczas jedzenia przestaniemy wzmacniać dodatkową porcją pokarmu, t. j. stworzymy warunki doświadczalne, analogiczne do tych, które występowały w doświadczeniach poprzednich autorów. Może on również być odróżnicowany, gdy zaczniemy stosować bodziec podobny do bodźca warunkowego bez wzmacniania przez dodatkową porcję pokarmu. Wyrazem hamowania będzie zmniejszenie się reakcji wydzielniczej i ruchowej na dany bodziec stosowany oddzielnie, oraz zanik reakcji „oczekiwania” przy stosowaniu danego bodźca podczas jedzenia.

Tak więc twierdzenie, że kora mózgowa w stanie zahamowania indukcyjnego jest niepobudliwa, względnie „zaraża” hamowaniem trafiające do niej bodźce, czyniąc je na stałe hamulcami wewnętrznymi, jest całkowicie niesłuszne. W korze, znajdującej się w takim stanie, mogą zachodzić zarówno procesy pobudzenia, jak i hamowania wewnętrznego, mogą w niej wytwarzać się nowe połączenia warunkowe, a odruchy już wytworzone mogą ulegać wygasaniu, względnie różniczkowaniu.

Temniemniej, stan czynnościowy kory mózgowej w czasie hamowania indukcyjnego jest wyraźnie zmieniony i wykazuje

pewne odstępstwa od zwykłych stosunków, tem wybitniejsze, im głębsze jest hamowanie. Szczególnym zbiegiem okoliczności, dwa psy, na których wykonywaliśmy doświadczenia, różniły się krańcowo w zakresie pobudliwości pokarmowej. O ile „Brytan” był typem mało pobudliwym — podaną porcję pokarmu wylizywał powoli i systematycznie w ciągu całej minuty i stosunkowo łatwo było go „oderwać od jedzenia”, „Czarny” odznaczał się znaczną pobudliwością — łapczywie rzucał się na podany pokarm i z pośpiechem, na nic nie zważając, zjadał zawartość miski w ciągu zaledwie pół minuty. Ponieważ pobudzenie ośrodka pokarmowego podczas jedzenia było u „Czarnego” znacznie większe niż u „Brytana”, wywoływało ono znacznie silniejsze hamowanie indukcyjne w pozostałych obszarach kory.

Jak widać z protokołów doświadczeń, u obu psów odruch warunkowy na bodziec stosowany podczas jedzenia nie osiągnął tej wielkości, którą powinien był osiągnąć na zasadzie prawa siły bodźców, i do którego w następstwie doszedł, gdy zaczęto stosować ten bodziec w zwykły sposób. Przytem, o ile u „Brytana” bulgotanie wywoływało reakcję ślinową pośrednią między bodźcami silnymi (słuchowymi) a słabymi (dotykowymi), o tyle u „Czarnego” reakcja na metronom była niższa, niż na bodźce słabe (dotykowe i świetlne). Powyższe fakty pozwalają wnosić, że odruch warunkowy, wytwarzany na tle hamowania indukcyjnego, osiąga mniejszą wielkość, niż w warunkach normalnych i to tem mniejszą, im silniejsze jest w danym przypadku hamowanie indukcyjne, t. zn. im silniejsze jest pobudzenie czynnych w danej chwili ośrodków.

Badając przyczyny powyższego zjawiska, stwierdziliśmy, że nie zależy ono od procesu hamowania wewnętrznego, gdyż po przejściu (u „Brytana”) od doświadczeń, w których bulgotanie było stosowane w sposób zwykły, do doświadczeń pierwotnych, mogliśmy stwierdzić, że odruch na ten bodziec nie uległ ponownemu obniżeniu. Wynik ten daje się wytłumaczyć w ten sposób, że połączenie, wytwarzane między odpowiednimi ośrodkami w warunkach hamowania indukcyjnego, nie dochodzi do zwykłej siły, właściwej dla danego bodźca, innymi słowy, że bodziec ten zachowuje się jak bodziec słabszy. Z chwilą gdy

zaczniemy stosować dany bodziec w sposób zwykły, połączenie to wzmacnia się i powrót do dawnego układu doświadczeń nie zmienia już niczego (gdyż osłabienie wytworzonego połączenia z reguły może zachodzić jedynie drogą hamowania).

Nietylko wielkością różni się wytworzony na tle hamowania indukcyjnego odruch od odruchu wytworzonego zwykłym sposobem. Dane nasze pozwalają przypuszczać, że również sam proces wytwarzania odruchu odbywa się w tych warunkach powolniej. Wskazują na to doświadczenia z „Czarnym”. O szybkości wytwarzania u tego psa zwykłym sposobem odruchu warunkowego (jeżeli pominiemy pierwszy wyrabiany odruch, który z reguły powstaje wolniej) można sądzić z odruchu na dotykaniu, którego pierwsze ślady pojawiły się już po 5 połączeniach, po 10 zaś odruch ten osiągnął już swą normalną wielkość. Jak szybko wytwarzał się odruch na metronom, dokładnie wiedzieć nie możemy, gdyż bodziec ten stosowano stale podczas jedzenia. Próba zastosowania tego bodźca oddzielnie uczyniona po 15 połączeniach (doświadczenie Nr. 19 tabela VIII) wykazuje, że odruch w tym czasie jeszcze nie powstał, co świadczyłoby o tem, że proces wytwarzania odbywał się tu wolniej niż w zwykłych warunkach.

Pewne dane wskazują na to, że procesy hamowania wewnętrznego (wygasanie i różniczkowanie) również odbywają się wolniej na tle zahamowanej indukcyjnie kory. Przemawiałby za tem fakt, że różniczkowanie metronomów u „Czarnego” powstawało stosunkowo powoli i pozostało niezupełne, tak samo jak wygasanie bulgotania u „Brytana”; bodziec ten po 33 połączeniach niewzmocnionych przez drugą porcję pokarmu dał jeszcze przeszło 50% dawnej wartości.

Trzeba jednak pamiętać, że wnioski tego rodzaju należy wysnuwać z wielką ostrożnością, gdyż zarówno wytwarzanie, jak i hamowanie połączeń warunkowych w naszym układzie doświadczeń musi z konieczności odbywać się „na ślepo”, a nie liczne próby, w których dany bodziec dla sprawdzenia stosujemy bez pokarmu, nie mogą oczywiście dać należytego i pełnego obrazu zachodzących procesów.

Wyniki, które uzyskaliśmy, zmuszają też do nowego ujęcia rezultatów prac K r e p s a, P a w ł o w e j, P i e t r o

w e j, S o ł o w i e j c z y k a i W i n o g r a d o w a, t. j. tych wszystkich autorów, którzy — stosując dany bodziec po podaniu pokarmu — otrzymywali czynne jego hamowanie. Rezultaty te w świetle naszych doświadczeń należy tłumaczyć w ten sposób, że bodziec stosowany podczas odruchu pokarmowego, poprzedzając zakończenie jedzenia, stawał się sygnałem tego zakończenia i jako taki nabywał własności hamujących. Fakt ten potwierdza przypuszczenie, o którym mówiliśmy na początku, że koniec jedzenia (oczywiście nie w przypadku zupełnego nasylenia) należy traktować jako hamowanie ośrodka pokarmowego, mające wszelkie cechy hamowania wewnętrznego. Ze względu na to, że hamowanie to, w odróżnieniu od typowego hamowania wewnętrznego, prawdopodobnie nie jest nabyte, lecz raczej wrodzone, fakt powyższy zmuszałby nas do pewnej rewizji dotychczasowych poglądów na proces czynnego hamowania.

Wnioski.

1°. Pokarmowe odruchy warunkowe wytwarzają się nie tylko wtedy, gdy bodziec warunkowy poprzedza bezwarunkowy, ale i wówczas, gdy jest on stosowany na tle odbywającej się reakcji bezwarunkowej (jedzenia).

2°. Odruchy warunkowe na bodźce, pojawiające się w czasie jedzenia, nie ulegają następnemu zahamowaniu, o ile tylko nie poprzedzają bezpośrednio zakończenia reakcji pokarmowej.

3°. Bodźce warunkowe, poprzedzające bezpośrednio zakończenie reakcji bezwarunkowej, stają się hamulcami wewnętrznymi (czynnymi). Można w ten sposób, na tle zachodzącego odruchu pokarmowego, otrzymywać wygasanie lub różniczkowanie wytworzonego już odruchu warunkowego.

4°. Odruchy warunkowe, wytworzone na tle zachodzącej reakcji bezwarunkowej, dają mniejsze reakcje wydzielnicze od wytworzonych zwykłym sposobem. Zmniejszenie to nie jest spowodowane przez proces hamowania wewnętrznego, lecz przez to, że dany bodziec, dochodząc stale do zahamowanych indukcji nie okolic kory, nie jest w stanie rozwinąć pełni swego działania i zachowuje się jak bodziec słabszy.

5°. Hamowanie indukcyjne kory nie zmienia zasadniczych praw wytwarzania się odruchów warunkowych. Zachodzące na

jego tle procesy osiągają jednak mniejsze natężenie i, jak się zdaje, odbywają się wolniej. Powyższe zwolnienie i osłabienie procesów korowych jest prawdopodobnie tem silniejsze, im większy jest wpływ indukcyjny odruchu bezwarunkowego, co skolei zależy od siły reakcji pokarmowej i typu zwierzęcia.

P i ś m i e n n i c t w o .

Folbort J. W. 1912. Tormoznyje usłownyje refleksy. Dysert. Petersburg. — Konorski J. i Miller S. 1933. Podstawy fizjologicznej teorii ruchów nabytych. Ruchowe odruchy warunkowe. Med. Dośw. i Społ. 16 (95). (Die Grundlagen der physiologischen Theorie erworbener Bewegungen. Zbl. f. Neur. u. Psych. 1934, 69, 590), — Krepes E. M. 1933. K woprosu o wożmożnosti obrazowanja usłownowo refleksa pri predsztwowanji bezusłownowo razdrażitiela indifferentnomu razdrażitielu. Trudy Fizj. Łab. Ak. Pawłowa. 5 (5). (Zu der Entstehungsmöglichkeit eines bedingten Reflexes, wenn dem indifferenten Reiz ein unbedingter Reiz vorangeht. Zbl. f. Neur. u. Psych. 1934, 70, 328). — Krestownikow A. N. 1913, 1921. Suszczestwiennoje usłowje pri obrazowanji usłownych refleksow. Trudy Obszcz. Russk. Wraczej w Petersburgie 80. Izwiestja Peterb. Naucz. Inst. im. Lesgafta. 3. (cyt. wg. Pawłow J. P. 1927. Lekcji o rabotie bolszych połuszarij gołownowo mozga. Moskwa — Leningrad). — Pawłowa W. J. 1933. Obrazujetsia li usłownyj refleks pri predsztwowanji bezusłownowo razdrażitiela indifferentnomu. Trudy Fizj. Łab. Ak. Pawłowa. 5 (21). (Kann ein bedingter Reflex entstehen wenn ein unbedingter Reiz dem indifferenten vorangeht. Zbl. f. Neur. u. Psych. 1934, 71, 168). — Petrowa M. K. 1933. Preobladanje tormoznowo diejstwa bezusłownowo razdrażitiela pri predsztwowanji jewo indifferentnomu razdrażitielu. Trudy Fizj. Łab. Ak. Pawłowa 5 (49). (Das Verherrschen der Hemmungswirkung des unbedingten Reizes, wenn dieser dem indifferenten vorangeht. 1934, 70, 329). — Pimenow P. P. 1907. Osobaja gruppa usłownych refleksow. Dysert. Petersburg. — Sołowiejczyk D. I. 1928. Sostojanje wozbudimosti korkowych kletok wo wremia diejstwa bezusłownowo razdrażitiela. Trudy Fizjol. Łab. Ak. Pawłowa. 2 (95). — Sznirman A. Ł. 1925. K woprosu o wożmożnosti wospitanja soczeta-tielnych dwigatielnych refleksow putiom retrosignalnych soczetanij. Nowoje w refleksołogji i fizjologii nerwn. sist. 1 (218). — Winogradow N. W. 1933. Wozniknowienie nowych swiaziej w zatormożennyh uczastkach kory gołownowo mozga. Trudy Fizj. Łab. Ak. Pawłowa 5 (33). (Entstehung neuer Verknüpfungen in gehemmten Bezirken der Grosshirnrinde. Zbl. f. Neur. u. Psych. 1934, 71, 168).

[Zakład Fizjologii Zwierząt Uniwersytetu J. P. w Warszawie].

Halina Rosenberg.

Badania nad zjawiskami regulowania składu mineralnego cieczy ciała. III. O wpływie wprowadzonych do organizmu soli magnezowych na skład chemiczny surowicy.

Recherches sur la régulation de la composition minérale dans les liquides organiques. III. L'influence des sels de magnésium introduits dans l'organisme sur la composition chimique du sérum.

Rękopis nadesłany w dniu 10.VII. 1936.

Les rapports établis par Białogłowska ('34) entre le magnésium et le calcium dans le sérum, après l'introduction des sels magnésiens aux doses déterminant la narcose magnésienne, ont suggéré l'idée que les autres constituants minéraux du sérum peuvent également varier dans ces conditions.

Les présentes recherches avaient pour objet l'étude des questions suivantes: 1° vitesse d'élimination du sang circulant des sels magnésiens injectés; 2° les rapports réciproques entre les variations de concentration de l'ion magnésien et des autres constituants minéraux (K, Ca, Na, P) du sang. On a essayé, de plus, de voir, si aux différentes étapes caractéristiques de la narcose, tels que le reveil ou la mort correspondent les rapports définis de concentration de différents ions dans le sérum.

On a effectué dans ce but deux séries d'expériences. Dans la première l'introduction des solutions de $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ isotoniques avec le sang des animaux avait lieu par voie intrapéritonéale (fig. 1, 2 et 3, tabl. I, II, III, V), dans l'autre par voie intraveineuse. Dans cette dernière série on étudiait également, parallèlement aux prélèvements du sang, l'évolution de l'amplitude des contractions musculaires.

Voici le résumé des résultats obtenus:

1°. Les sels magnésiens introduits par voie intrapéritonéale à la dose déterminant la „narcose magnésienne” provoquent les changements de concentration des constituants minéraux du sérum. Ce trouble de l'équilibre ionique engendre dans l'organisme soit des modifications passagères se manifestant en une „narcose” réversible (tabl. I et II, fig. 1 et 2) soit des troubles plus graves de la „narcose” irréversible, conduisant à la mort (tabl. III et V, fig. 3).

2°. L'injection intraveineuse de sels magnésiens provoque des effets semblables mais à l'évolution beaucoup plus rapide (tabl. VI, fig. 4).

3°. Dans les stades initiaux de la narcose, réversible ou non, on constate un accroissement considérable de la concentration du magnésium, qui peut atteindre 7 à 11 fois la valeur normale. On observe en même temps une augmentation de la teneur du sang en potassium et en phosphore minéral (tabl. V), ainsi qu'un faible accroissement de calcium ne dépassant pas 30 p. c. dans les cas extrêmes. La teneur en sodium ne varie pas.

4°. Après cette période, dans les cas de narcose réversible (tabl. II, fig. 2), on observe une diminution progressive de la concentration du magnésium, qui présente, au moment de réveil, 2 à 4 fois la valeur normale. Cette diminution est accompagnée de chute de la teneur en potassium au-dessous de la norme.

5°. Dans les cas mortels la teneur du sang en potassium présente une évolution indépendante de celle du magnésium (tabl. III, V et VI, fig. 3 et 4). La concentration du potassium croît constamment et rapidement. Lorsqu'elle atteint une certaine limite, l'animal meurt. Le phosphore minéral présente une évolution parallèle à celle du potassium. Ce fait suggère l'hypothèse que l'augmentation des phosphates de potassium dans le sérum, déterminée secondairement par l'injection de sels magnésiens, constitue la cause immédiate de la mort de l'animal.

6°. Les troubles de la transmission neuro-musculaire sont parallèles aux variations de la concentration du magnésium (tabl. VI, fig. 4). Les concentrations les plus élevées de cet ion sont accompagnées de la disparition plus ou moins complète de

la transmission neuro-musculaire qui se rétablit progressivement au fur et à mesure de l'élimination du magnésium du sérum.

Dla zjawisk regulacyjnych ustroju zwierzęcego niezmiernie charakterystyczna jest dążność do utrzymywania stałego składu mineralnego cieczy ciała. Zjawisko to szczególnie wyraźnie ujawnia się w przypadku zakłócenia równowagi jonowej bądź środowiska, w jakim zwierzę przebywa, bądź też zmienianego drogą zastrzyków składu mineralnego cieczy ciała. Te zdolności regulacyjne, występujące zarówno u bezkręgowców, jak i u zwierząt kręgowych, badano doniedawna tylko ubocznie (Bethe, Berger, Magnus, Bock).

W związku z zagadnieniem przepuszczalności pokrycia ciała zwierząt bezkręgowych względem elektrolitów przeprowadzili szereg badań Bethe ('29) i Bethe i Berger ('31), którzy wykazali, że skład surowicy tych bezkręgowców, trzymany w sztucznej wodzie morskiej, w której jeden z katjonów był nieobecny lub znajdował się w nadmiarze, zmienia się w kierunku zgodnym ze spadkiem stężeń środowiska otaczającego.

Znacznie sprawniejszą zdolnością regulacyjną obdarzony jest układ krwionośny zwierząt ssących. Fakt ten wynika z badań Magnusa ('00) i Bocka ('07) nad zjawiskami diurezy solnej. Wprowadzane do naczyń krwionośnych zwierząt ssących roztwory soli mineralnych zostają usunięte z krwiobiegu w czasie stosunkowo krótkim. Szczególnie szybko przebiega proces eliminacji soli potasowych, nadmiar bowiem tych jonów znika niemal natychmiast po wprowadzeniu (Bock '07).

W ostatnich latach ukazały się prace, poświęcone specjalnie zagadnieniom zdolności chemoregulacyjnych cieczy ciała. Należy tu wymienić prace Białaszewicza, Boguckiego i Schollesa na bezkręgowcach, Białogłowskiej na zwierzętach kręgowych. Jak wynika z pracy Białaszewicza nad *Maja squinado* ('30), organizm tego zwierzęcia posiada zdolność szybkiego eliminowania z układu krwionośnego nadmiaru elektrolitów, naruszających normalne stosunki międzyjonowe; szybkość eliminacji jest różna w zależności od jakości soli: najszybciej znika z krwiobiegu chlorek potasowy, najpóźniej siarczan sodowy. Zwiększenie koncentracji jednego ze składników nie wpływa w wybitny sposób na zmianę stężenia składników pozostałych, to też zmieniony eksperymentalnie skład mineralny hemolimfy zostaje przywrócony głównie dzięki usunięciu jonów, wprowadzonych drogą zastrzyku. W zjawisku usuwania nadmiaru wprowadzonych elektrolitów a także w procesie utrzymywania stałego składu mineralnego cieczy ciała biorą udział gruczoły czułkowe i tkanki ciała (Białaszewicz '30, Scholles '33), przy czym główna rola przypada najprawdopodobniej tym ostatnim.

Zdolności chemoregulacyjne krwi raka rzecznożebardane zostały przez Boguckiego ('33). Autor umieszczał te zwierzęta w różnych stężeniach

wody morskiej, sztucznie przyrządzanych, i stwierdził, że organizm raka posiada nie tylko zdolność regulowania ogólnej koncentracji soli w hemolimfie, ale jednocześnie posiada zdolność regulowania jej składu mineralnego, dzięki czemu skład ten jest w pewnych granicach niezależny od zmian, zachodzących w środowisku otaczającym.

Badania nad zdolnościami regulacyjnymi cieczy ciała zwierząt ssących (królika) przeprowadziła Białogłowska ('34). Białogłowska wprowadzała do zwierzęcia sole magnezowe dootrzewnie lub dożylnie i wykazała, że ściany naczyń krwionośnych stanowią barierę przepuszczalną w obydwu kierunkach dla wprowadzonych soli, ponadto zaś — że wzrost stężenia magnezu pociąga za sobą wzrost koncentracji wapnia. Główną rolę w zjawisku usuwania wprowadzonych do organizmu królika soli magnezowych pełnią nerki, rolę pomocniczą spełniają pozatem skóra i mięśnie.

Zachowanie się soli magnezowych w organizmie zwierzęcym i rola ich w procesach regulacyjnych ustroju zwierzęcego jest specjalnie ciekawa z kilku względów.

Przedewszystkiem jonowi magnezowemu przypisuje się specyficzną rolę w szeregu jonów dwuwartościowych (Zondek '27, Höber '26), pod pewnymi względami mianowicie przypomina on raczej jednowartościowe jony K i Na, zachowując się antagonistycznie w stosunku do jonu wapniowego (Meltzer, Auer i współpracownicy '08, Neuschloss '20 i inni). Po drugie, sole magnezowe wywołują stan tak zwanej „narkozy magnezowej”, zjawiska związanego z szeregiem zmian natury chemicznej i fizyko-chemicznej.

Bliższe badania Cahours'a i Joliet'a ('69), Wiki ('06), Wiechmanna ('20), Desprèsa ('31), a ostatnio Lubin'skiej ('33, '35) wykazały tego rodzaju zmiany pobudliwości, że całość zjawisk przypomina raczej paraliżujące działanie kurary, niż narkozę we właściwym tego słowa znaczeniu.

Narkotyczny wpływ soli magnezowych badany był także od strony chemicznej i fizyko-chemicznej.

Meltzer i współpracownicy stwierdzili hamujące działanie soli wapniowych na narkozę magnezową, a fakt ten posłużył innym (Wiechmann '20, Starckenstein '14, Stransky '15, Białogłowska '34) za punkt wyjścia do badania narkozy magnezowej z punktu widzenia antagonistycznego działania jonów Ca i Mg. Starckenstein stwierdził pogłębienie narkozy pod wpływem soli, strącających wapń. Stransky wykrył naruszenie we krwi normalnego stosunku Ca i Mg w czasie narkozy wskutek wzrostu stężenia jonu magnezowego i obniżenia wapniowego. W przeciwieństwie do Stransky'ego Białogłowska stwierdziła wzrost stężenia wapnia. Pozatem ustaliła dość wyraźną zależność między stężeniem jonu magnezowego we krwi a momentem budzenia się zwierzęcia.

Mansfeld i Bosanyi ('13) próbowali wyjaśnić zjawisko narkozy magnezowej zmianami chemicznymi, zachodzącymi w mózgu, nie

można jednak na podstawie danych doświadczalnych tych autorów ustalić żadnej ściślejszej zależności między stopniem narkozy a zmianami stężeń magnezu i wapnia w mózgu.

Wreszcie Höber ('26) i współpracownicy próbowali wyjaśnić to zjawisko na podstawie fizyko-chemicznych zmian koloidów plazmy i tkanek.

Jak wynika z przytoczonych wyżej prac, zjawisko narkozy magnezowej związane jest z całym szeregiem procesów fizjologicznych. Powstaje pytanie, czy i w jakim stopniu zmienia się skład mineralny surowicy po wprowadzeniu do organizmu odpowiednich ilości roztworu soli magnezowych. W pracy niniejszej starano się zbadać szybkość eliminacji z krwiobiegu wprowadzonych soli magnezowych. Ponadto próbowano ustalić zależność między zmianami stężenia jonu magnezowego we krwi a wzajemnem ustosunkowaniem się pozostałych elektrolitów i zbadać, czy poszczególne stadia narkozy, moment budzenia się, względnie śmierci, charakteryzuje określony stosunek jonów mineralnych w osoczu.

Metodyka.

Badania przeprowadzono na królikach i kotach. Wykonano dwie serie doświadczeń. W pierwszej — wstrzykiwano zwierzętom do otrzewnej roztwory siarczanu magnezu i po wystąpieniu objawów narkotycznych obnażano *a. carotis*. W niektórych doświadczeniach tej serii roztwory siarczanu magnezu wprowadzano zwierzętom, uśpionym uprzednio „Dialem-Ciba”.

W drugiej serii doświadczeń stosowano zastrzyki dożylnne, przyczem siarczan magnezu wstrzykiwano do *v. femoralis* zwierzętom, znarkotyzowanym roztworem dialu.

W obu rodzajach doświadczeń wprowadzano zwierzętom odpowiednie, wywołujące narkozę roztwory $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ w stężeniu izotonicznym w stosunku do krwi ssaków (6.75%, $\Delta = 0.56^0$). Zakładano do *a. carotis* kaniulę i pobierano w pewnych, zależnych od przebiegu doświadczenia, momentach próbki krwi.

Zapobiegano krzepnięciu, dodając na każdy cm^3 pobranej krwi kroplę heparyny w roztworze fizjologicznym 1:1000. Oddzielano osocze, powstałe po odwirowaniu krwi, i odbiałczano je 12% kwasem trójchlorooctowym (1 obj. osocza + 1 obj. wody + 1 obj. kwasu). Po upływie 24 godzin osad odwirowywano, klarowną ciecz, znajdującą się nad osadem, zlewano do próbek i oznaczano ilościowo metodami mikrochemicznymi następujące składniki: Mg, K, Ca, Na i P. Oznaczano magnez — metodą Bella i Doisy'ego ('21) oraz Briggs'a ('22), zmodyfikowaną przez Białasze-wicza ('26), potas — metodą Kramer'a i Tisdall'a ('21), wapń — we-

dług De Waard'a ('19) i Hecht'a ('23), sól — metodą Barrenschena i Messiner ('27) i fosfor — według Brigg's'a ('22). We wszystkich analizach przestrzegano zasady jednoczesnego oznaczania składników mineralnych w płynie badanym i roztworze wzorcowym.

C z ę ś ć d o ś w i a d c z a l n a .

1. Zastrzyki do otrzewnej.

W tej grupie doświadczeń zastrzyki soli magnezowych stosowano do-
otrzewniowo i po zapadnięciu zwierzęcia (koty i króliki) w stan narkozy
odpreparowywano i przewiązywano *a. carotis*, skąd pobierano próbki krwi
w odpowiednich odstępach czasu. Ten sposób postępowania uniemożliwił
jednakże poznanie składu mineralnego surowicy przed zastrzykiem i w pierw-
szych momentach narkozy. Aby móc otrzymać próbki krwi z tych okre-
sów, wstrzyknięcie soli magnezowych poprzedzano narkozą przy pomocy
preparatu „Dialu-Ciba”, przyjmując, że narkotyk ten nie wpływa w spo-
sób wybitny na skład mineralny surowicy.

Ze istotnie tak jest — dowodzą tego dane autorów, dotyczące składu
mineralnego surowicy kota i królika oraz wyniki moich analiz, dokona-
nych na zwierzętach, uspiionych przy pomocy dialu.

Po uspieniu zwierzęcia diałem pobierano próbkę krwi, poczem za-
strzykiwano zwierzętom roztwór siarczanu magnezu. Ze względu na zwięk-
szoną u zwierząt, narkotyzowanych diałem, wrażliwość na iniekcję soli
magnezowych, obniżano mniej więcej o 20% w stosunku do normalnie sto-
sowanych dawki siarczanu magnezu, opierając się na danych, zaczerpnię-
tych z pracy Lubin'skiej ('33).

W zależności od indywidualnej wrażliwości zwierząt do-
świadczalnych zjawisko narkozy magnezowej miało przebieg
dwojaki. W pierwszym przypadku, po pewnym czasie od chwili
zastrzyku, zwierzęta zapadały w głęboki sen, objawiający się
brakiem reakcji na podniety, stopniowym zanikiem odruchów
i całkowitem zwiótczeniem mięśni. Stan ten był jednak prze-
mijający i po pewnym, indywidualnie dość różnym, czasie (2—
5 godzin) zwierzęta powracały do stanu normalnego (narkoza
o d w r a c a l n a). W przypadku drugim iniekcja soli magnez-
owych wywoływała w organizmie, z przyczyn bliżej niezbad-
anych, zaburzenia nieodwracalne, kończące się śmiercią zwierzę-
cia (narkoza n i e o d w r a c a l n a). Wykonano 20 doświadc-
zeń (częściowo na królikach, częściowo na kotach), z których
dokładniej omówione zostały tylko najbardziej udane i typowe.
Wyniki tych doświadczeń, przedstawiające stężenie poszczegól-

nych składników mineralnych w surowicy w różnych momentach narkozy zarówno odwracalnej, jak i nieodwracalnej, zebrane są w tabelach I, II i III oraz przedstawione na rysunkach (rys. 1, 2 i 3). Stężenia pierwiastków wyrażają się w mg% oraz w procentach ich stężenia początkowego.

Tabela I.

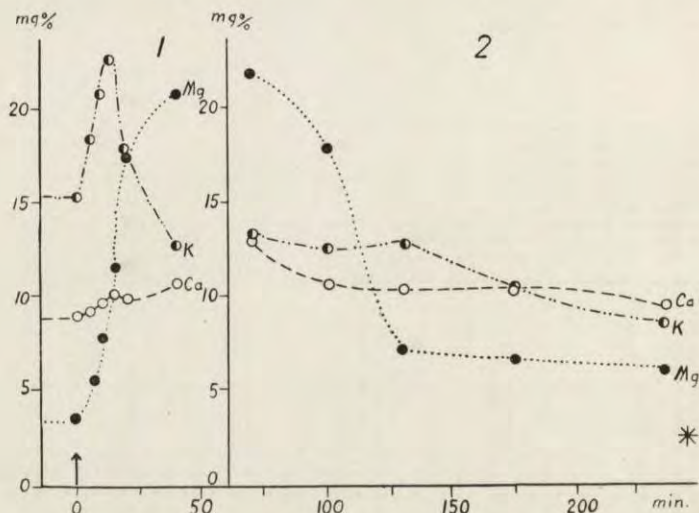
Stężenie w surowicy składników mineralnych: magnezu, wapnia i potasu po wstrzyknięciu do otrzewnej kotowi, uśpionemu (2.1 cm³) Dialelem-Ciba, 37 cm³ 6.75% MgSO₄·7H₂O, zawierającego 249 mg Mg. Ciężar zwierzęcia C^{*} 3500 g. Początek doświadczenia 29.IV.1935, godz. 11⁰⁰. Dośw. Nr. XX.

Concentration des constituants minéraux dans le sérum du chat: magnésium, calcium et potassium après l'injection intrapéritonéale. Chat anesthésié au Dial-Ciba (2.1 cm³). Injection de 37 cm³ 6.75% MgSO₄·7H₂O contenant 249 mg Mg. Poids d'animal C^{} 3500 g. Début de l'expérience (Nr. XX) 29.IV.1935, 11⁰⁰ h.*

Nr. obserwacji Nr. de l'observation	Czas od chwili wstrzyknięcia MgSO ₄ w min. Temps écoulé après l'injection MgSO ₄ en min.	Mg		Ca		K		U w a g i Remarques
		mg%	W %% stężenia początkowego En %% de la concentration initiale	mg%	W %% stężenia początkowego En %% de la concentration initiale	mg%	W %% stężenia początkowego En %% de la concentration initiale	
1	0	3.5	100	9.08	100	15.2	100	
2	6	5.4	154	9.2	101	18.4	121	
3	10	7.8	223	9.8	107	20.82	130	
4	15	11.6	331	10.02	110	22.7	149	
5	20	17.2	491	9.9	108	17.7	116	
6	40	20.8	594	10.8	118	12.69	83	Nie udało się pobrać następujących próbek. On n'a pas pu prélever les échantillons suivants.

Jak wynika z tabel i wykresów, zwiększenie się stężenia magnezu w surowicy krwi rozpoczyna się dość wcześnie, mianowicie w kilka zaledwie minut od chwili zastrzyku do otrzewnej; stężenie tego pierwiastka szybko rośnie, osiągając w pewnym momencie (20' — 70') wartości 7—11-krotne w stosunku do stężenia początkowego (por. tab. I i III, rys. 1 i 3). Po tym okresie, w przypadku narkozy odwracalnej (tab. II i rys. 2), rozpoczyna się okres powrotu do normy; eliminacja magnezu z krwiobiegu przebiega stosunkowo wolno, przyczem budzenie się następuje w tym czasie, gdy w surowicy znajdują się jeszcze

znaczne, bo 2—4-krotne w stosunku do normalnego stężenia (stężenie normalne — 2.5—3.5 mg %), ilości magnezu. W przypadku narkozy nieodwracalnej (tab. III i rys. 3) stężenie ma-



Rys. 1 i 2. Zmiany stężenia składników mineralnych w surowicy w różnych momentach narkozy magnezowej odwracalnej.

Rys. 1. Zmiany stężenia magnezu, wapnia i potasu w momentach początkowych narkozy i w czasie największego jej nasilenia (wg. tab. I).

Rys. 2. Zmiany stężenia magnezu, wapnia i potasu w czasie ustępowania narkozy (wg. tab. II).

Na osi odciętych — czas w min., który upłynął od zastrzyku soli magnezowej (chwila zastrzyku oznaczona jako zero), na osi rzędnych — stężenie w mg na 100 cm³. ↑ — moment wstrzyknięcia. * — moment obudzenia.

Fig. 1 et 2. La concentration du sérum en constituants minéraux aux divers moments de la narcose magnésienne réversible.

Fig. 1. La concentration du magnésium, du calcium et du potassium au début de la narcose et au moment de sa plus grande intensité (d'après tabl. I).

Fig. 2. La concentration du magnésium, du calcium et du potassium pendant dissipation de la narcose (d'après tabl. II).

En abscisses — temps en minutes, écoulé à partir de l'injection (moment d'injection pris pour zéro); en ordonnées — la concentration en mg p. c. ↑ — moment de l'injection. * — désigne le reveil.

gnezu rośnie gwałtownie, osiągając w chwili śmierci zwierzęcia wartości znaczne, nie przekraczające jednakże stężenia maksymalnego, notowanego dla zjawiska narkozy odwracalnej.

Na szczególną uwagę zasługuje zachowanie się potasu w surowicy, zarówno w przypadku magnezowej narkozy odwracalnej, jak i nieodwracalnej. W przypadku pierwszym w początkowych stadiach narkozy wzrostowi stężenia magnezu towarzyszy gwał-

Tabela II.

Stężenie w surowicy składników mineralnych: magnezu, wapnia, potasu, sodu i fosforu po wstrzyknięciu kotowi do otrzewnej 40 cm³ 6.75% MgSO₄·7H₂O, zawierającego 283.5 mg Mg. Ciężar zwierzęcia C^{*} 3150 g. Początek doświadczenia 12.VI.1934, godz. 12⁴⁰. Doświadczenie Nr. III.

Concentration des constituants minéraux dans le sérum du chat: magnésium, calcium, potassium, sodium et phosphore après l'injection intrapéritonéale de 40 cm³ 6.75% MgSO₄·7H₂O, contenant 283.5 mg Mg. Poids d'animal C^{} 3150 g. Début de l'expérience (Nr. III) 12.VI.1934, 12⁴⁰ h.*

Nr. obserwacji Nr. de l'observation	Czas od chwili wstrzyknięcia MgSO ₄ w min. Temps écoulé après l'injection MgSO ₄ en min.	Mg	Ca	K	Na	P	U w a g i Remarques
		mg%	mg%	mg%	mg%	mg%	
1	70	21.8	13.0	13.1	300	5.5	
2	100	17.7	10.5	12.4	330	4.4	
3	130	7.2	10.5	12.8	330	5.4	
4	175	6.65	10.5	10.4	300	5.4	
5	235	6.00	9.4	8.5	330	5.1	
	240						moment obudzenia moment du reveil

towny wzrost koncentracji potasu (tab. I i rys. 1). Stężenie tego jonu wzrasta szczególnie prędko w pierwszych minutach po zastrzyku, osiągając maksimum (150% stężenia początkowego) w kilkanaście minut od chwili zastrzyku, poczem spada niemiernie szybko, dochodząc do 80% stężenia początkowego. Jak wynika z tab. II, rys. 2, w okresie, w którym odbywa się eliminacja magnezu z krwiobiegu, stężenie potasu ulega nieznacznym zmianom, utrzymując się na obniżonym, w stosunku do normalnego stężenia, poziomie nawet w momencie budzenia się zwierzęcia.

W wybitnie odmienny sposób przebiega natomiast krzywa koncentracji potasu w przypadkach narkozy nieodwracalnej, zarówno celowo wywołanej przez wprowadzenie nadmiernej ilości soli magnezowych, jak i spowodowanej większą niż przeciętna wrażliwością zwierząt na zastrzyk tych soli.

W pierwszych momentach po zastrzyku daje się zauważyć niewielką tendencją niżkową (tab. III i rys. 3), w następnych minutach jednakże stężenie potasu rośnie w sposób gwałtowny

i nieodwracalny, osiągając wartości, przekraczające nieraz dwukrotnie normalne stężenie potasu w surowicy. W tym samym mniej więcej czasie ustają ruchy oddechowe i zatrzymuje się serce.

Tabela III.

Stężenie w surowicy składników mineralnych: magnezu, wapnia i potasu po wstrzyknięciu do otrzewnej kotowi, uśpionemu Diale-Ciba (1.9 cm³), 47 cm³ 6.75% MgSO₄·7H₂O, zawierającego 317 mg Mg. Ciężar zwierzęcia (♂) 3200 g. Początek doświadczenia 8.IV.1935, godz. 10²⁰. Dośw. Nr. XIX.

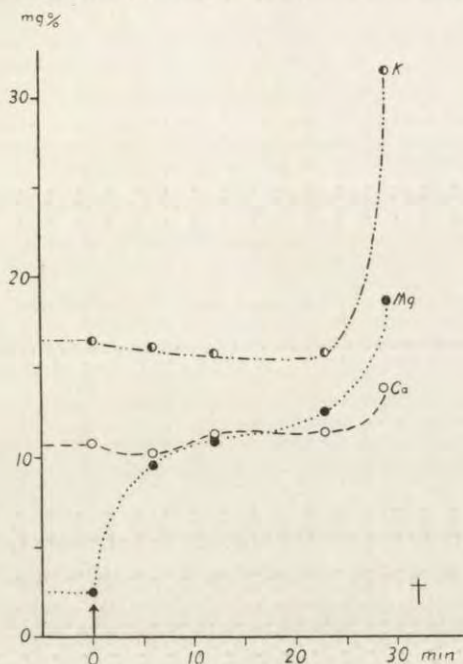
Concentration des constituants minéraux dans le sérum du chat: magnésium, calcium et potassium après l'injection intrapéritonéale. Chat anesthésié au Dial-Ciba (1.9 cm³). Injection de 47 cm³ 6.75% MgSO₄·7H₂O contenant 317 mg Mg. Poids d'animal ♂ 3200 g. Début de l'expérience (Nr. XIX). 8.IV.1935, 10²⁰ h.

Nr. obserwacji Nr. de l'observation	Czas od chwili wstrzyknięcia MgSO ₄ w min. Temps écoulé après l'injection MgSO ₄ en min.	Mg		Ca		K		Uwagi Remarques
		mg%	W % stężenia początkowego En % de la concentration initiale	mg%	W % stężenia początkowego En % de la concentration initiale	mg%	W % stężenia początkowego En % de la concentration initiale	
1	0	2.50	100	10.8	100	16.46	100	
2	6	9.64	385	10.1	93.5	16.2	98	
3	12	11.06	442	11.1	102	15.8	96	
4	23	12.5	500	11.4	105	15.8	96	
5	29	18.8	752	13.9	128	31.66	192	
	32							śmierć mort

O wiele mniej charakterystyczne jest zachowanie wapnia w surowicy w obu rodzajach narkozy. W niektórych doświadczeniach stężenie tego pierwiastka nieznacznie rosło, w innych zaś ulegało niewielkiemu obniżeniu. W żadnym przypadku zmiany nie przekraczały 30% stężenia początkowego, przytem wzrost koncentracji wapnia, o ile zachodził, był zawsze krótkotrwały.

Ze względu na niezgodność moich wyników, dotyczących zachowania się wapnia w czasie narkozy magnezowej, z rezultatami, otrzymanymi przez Białogłowską ('33), powstało pytanie, czy niezgodność ta nie jest skutkiem stosowania przez nas różnej metodyki. Mianowicie Białogłowska oznaczała

wapń w surowicy spopieleney, natomiast w pracy niniejszej stosowano metodykę odbiałczania. Nasunęło się zatem przypuszczenie, że podczas narkozy ulega zwiększeniu stężenie wapnia,



Rys. 3. Zmiany stężenia składników mineralnych w surowicy (magnezu, wapnia i potasu) w różnych momentach narkozy magnezowej nieodwracalnej (wg. tab. III).
Objaśnienia jak w rys. 1 i 2. + — oznacza śmierć zwierzęcia.

Fig. 3. La concentration du sérum en constituants minéraux (magnésium, calcium et potassium) aux divers moments de la narcose magnésienne irréversible (d'après les données du tabl. III).

Même légende que pour la fig. 1 et 2. + — désigne la mort d'animal.

związanego koloidalnie z białkiem, czego przy zastosowaniu metody odbiałczania nie można byłoby stwierdzić. W celu rozstrzygnięcia tej kwestji przeprowadzono badania dodatkowe, w których oznaczono wapń w surowicy krwi, pobranej w dwóch momentach narkozy magnezowej: w momencie początkowym i w chwili największego natężenia narkozy magnezowej. Surowicę dzielono na dwie części, jedną z nich spopieleno, drugą odbiałczano i oznaczano w obydwu jednocześnie wapń. Jak wynika z przytoczonej tabeli (tab. IV), w czasie narkozy magnezowej nie zachodzą zmiany stężenia wapnia, związanego koloidalnie.

Tabela IV.

Stężenie wapnia i magnezu w surowicy odbiałzonej i spopielonej w dwóch momentach narkozy. Krew pobrano po wprowadzeniu do otrzewnej królikowi roztworu siarczanu magnezu, dwukrotnie, w odstępach dwudziestominutowych.

Concentration du calcium et du magnésium dans le sérum du lapin après la défécation et l'incinération. Deux moments de la „narcose“. Injection intrapéritonéale de la solution du sulfate de magnésium. Deux prélèvements du sérum dans l'intervalle de 20 min.

100 cm³ surowicy zawiera:

100 cm³ du sérum contient:

Czas od chwili wstrzyknięcia MgSO ₄ w min. <i>Temps écoulé après l'injection MgSO₄ en min.</i>		Mg	Ca
50	spopielone <i>incinéré</i>	18.7	12.2
	odbiałzone <i>deféqué</i>	18.5	11.3
70	spopielone <i>incinéré</i>	19.8	13.7
	odbiałzone <i>deféqué</i>	20.0	12.4

W niektórych doświadczeniach przeprowadziliśmy także oznaczenia nieorganicznego fosforu w surowicy. Wyniki tych oznaczeń wskazują na to, że po iniekcji siarczanu magnezu zmiany koncentracji fosforu biegną równolegle do zmian stężenia potasu (tab. V).

Aby upewnić się, że obserwowane zmiany stężenia składników mineralnych w różnych momentach narkozy zachodzą istotnie, a nie są jedynie wynikiem zmiany koncentracji krwi, przeprowadzono kontrolne oznaczenia stężenia sodu. Jak wynika z danych doświadczalnych (tab. II i V), stężenia tego pierwiastka pozostają bez zmiany, co świadczy, że w czasie doświadczenia krew nie ulegała ani rozcieńczaniu, ani też zagęszczaniu.

2. Zastrzyki dożylnne.

Technika, stosowana w wyżej omówionych doświadczeniach, mianowicie zastrzyk dootrzewny siarczanu magnezu po uprzednim znarkotyzowaniu zwierzęcia dialem, utrudniała w znacznym stopniu wyodrębnienie charakterystycznych dla przebiegu narkozy momentów (moment zasypiania, bezruchu, powracania

Tabela V.

Stężenie w surowicy składników mineralnych: magnezu, wapnia, potasu, sodu i fosforu po wstrzyknięciu do otrzewnej kotłowi (C*), uśpionemu Dialek-Ciba (2 cm³), 22.5 cm³ + 4 cm³ 6.75% MgSO₄·7H₂O, zawierającego 179 mg Mg. Ciężar zwierzęcia 3320 g. Początek doświadczenia 5.II.1935, godz. 17¹⁰. (Czas trwania — 17 godzin). Doświadczenie Nr. XVI.

Concentration des constituants minéraux dans le sérum du chat: magnésium, calcium, potassium, sodium et phosphore après l'injection intrapéritonéale. Chat anesthésié au Dial-Ciba (2 cm³). Injection de 22.5 cm³ + 4 cm³ 6.75% MgSO₄·7H₂O contenant 179 mg Mg. Poids d'animal (C) 3320 g. Début de l'expérience (Nr. XVI): 5.II.1935, 17¹⁰. Durée de l'expérience 17 heures.*

Nr. obserwacji Nr. de l'observation	Czas od chwili wstrzyknięcia MgSO ₄ w min. Temps écoulé après l'injection MgSO ₄ en min.	Mg		Ca		K		Na		P		U w a g i Remarques
		mg%	W % En %	mg%	W % En %	mg%	W % En %	mg%	W % En %	mg%	W % En %	
1	0	3.16	—	9.55	—	16.8	—	330	—	7.0	—	Próbkę krwi pobrano dnia poprzedniego o godz. 17 ³⁰ , zwierzę pozostawiono przez noc i rano 7 ⁰⁰ pobrano ponownie próbkę krwi. <i>L'échantillon du sang à été pris le jour précédant à 17 h., on a laissé l'animal durant la nuit et à 7 h. du matin on a prélevé de nouveau un échantillon du sang.</i>
2	0	3.30	100	10.4	100	16.4	100	320	100	6.6	100	MgSO ₄ 22.5 cm ³ .
3	42	8.8	273	9.2	88	14.4	87	300	94	5.7	87	MgSO ₄ 4 cm ³ .
4	54	9.0	278	9.2	88	26.9	164	320	100	12.2	184	Śmierć. Mort.

do normalnego stanu). Ponadto zastrzyk do otrzewnej związany jest z pewną nieregularnością i indywidualnie dość różną szybkością chłonięcia.

W celu usunięcia wspomnianych niedogodności, wykonane zostało doświadczenie, w czasie którego notowano na kimigrafie wysokość maksymalnych skurczów mięśniowych w odstępach 3-sekundowych i, opierając się na danych, zaczerpniętych z pracy Lub i ń s k i e j ('35), próbki krwi pobierano w momentach

charakterystycznych dla zmiany pobudliwości pośredniej. Poza-tem starano się także otrzymać oba wyodrębnione typy narkozy (narkozę odwracalną i nieodwracalną) na jednym zwierzęciu, co umożliwiłoby usunięcie wpływu różnic indywidualnych, dając jednocześnie możliwość wyciągnięcia wniosków ogólnych, dotyczących obu rodzajów narkozy.

W tym celu uśpionemu Diałem-Ciba kotowi odpreparowano *n. peroneus* i *m. tibialis* i ściętno mięśnia przywiązano do dźwigni miografu auksotonicznego. W ciągu całego czasu działano na nerw zwierzęcia pojedynczymi bodźcami elektrycznymi, stosowanymi w liczbie 20 na minutę, pochodzącymi z obwodu lampy neonowej, zmontowanej według schematu B r i s c o e i L e y s h o n ('29). Po kilku minutach, w chwili, gdy wysokość skurczów osiągnęła pożądaną stałość, wprowadzono do krwiobiegu (*v. femoralis*) ze stałą prędkością w ciągu 1' izotoniczny roztwór $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ w takich ilościach, aby stężenie magnezu we krwi nie przekraczało w chwili początkowej po dokonanej iniekcji 20 mg %. Próbkę krwi pobierano w momentach, w których wysokość skurczów ulegała charakterystycznym zmianom (malała niemal do całkowitego zaniku, poczem rosła, aby po 10 min. osiągnąć ponownie wysokość niemal równą, notowanej w chwili rozpoczęcia doświadczenia), w 2 godziny od chwili zastosowania pierwszego zastrzyku wprowadzono zwierzęciu powtórnie tę samą ilość siarczanu magnezu i pobierano próbki krwi aż do chwili śmierci zwierzęcia.

Wyniki tego doświadczenia można streścić w następujący sposób (tab. VI, rys. 4). Analiza krzywych, wyrażających zmiany stężenia magnezu, wapnia, potasu, sodu i zmianę wysokości skurczów, ujawnia cały szereg zjawisk charakterystycznych. Jak wskazuje wykres, wysokość skurczów maleje bardzo szybko niemal do wartości zerowych. Po 3—4' od chwili zastrzyku wysokość skurczów rośnie od bardzo małych do większych; osiągają one między 7'—11' wysokości, niewiele różniące się od wysokości początkowych, począwszy od 11' wysokość ich utrzymuje się na jednakowym poziomie. Analiza próbki krwi, pobranej między 1'—2' od chwili zastrzyku, w momencie, w którym wysokość skurczów gwałtownie malała, wykazała mniej więcej pięciokrotny wzrost stężenia magnezu. Jednocześnie stężenie wapnia spadło do 90%, stężenie potasu do 86% stężenia początkowego. Pobranie próbki krwi w następnych minutach sprawiało pewną trudność ze względu na nagły spadek ciśnienia krwi. Ponieważ — ze względu na zastosowanie zastrzyku dożylnego, zjawi-

Tabela VI.

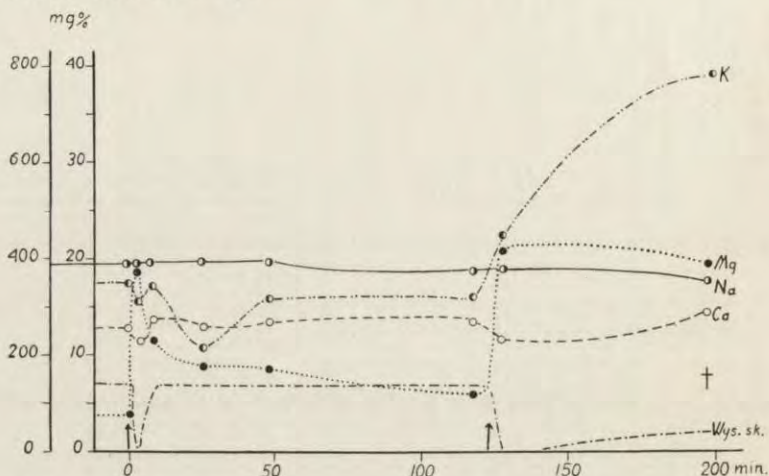
Stężenie w surowicy składników mineralnych: magnezu, wapnia, potasu i sodu po wstrzyknięciu kotowi, uśpionemu uprzednio Dialek-Ciba (2.55 cm³), dożylnie 19 cm³ 6.75% MgSO₄·7H₂O, zawierającego 136 mg Mg. Ciężar zwierzęcia (C⁷) 4200 g. Początek doświadczenia 30.XI.1935, godz. 11¹⁰. Dośw. Nr. XXI.

Concentration des constituants minéraux dans le sérum du chat: magnésium, calcium, potassium et sodium après l'injection intraveineuse au chat anesthésié préalablement au Dial-Ciba (2.55 cm³). Injection de 19 cm³ 6.75% MgSO₄·7H₂O contenant 136 mg Mg. Poids d'animal (C⁷) 4200 g. Début de l'expérience (Nr. XXI) 30.XI.1935, 11¹⁰ h.

Nr. obserwacji Nr. de l'observation	Czas od chwili wstrzyknięcia w min. Temps écoulé après l'injection en min.	Mg		Ca		K		Na		U w a g i Remarques
		MgSO ₄	MgSO ₄	MgSO ₄	MgSO ₄	MgSO ₄	MgSO ₄	MgSO ₄	MgSO ₄	
1	0	3.78	100	13.0	100	17.84	100	384	100	Zastrzyk 9.5 cm ³ MgSO ₄ Injection de 9.5 cm ³ MgSO ₄
2	2—3	18.8	494	11.8	91	15.52	86	384	100	Wysokość skurczów maleje gwałtownie niemal do zera. Amplitude des contractions tombe rapidement jusqu'à zéro.
3	6—11	11.51	304	13.9	107	17.32	97	384	100	Wysokość skurczów wzrasta, osiągając normę. Amplitude des contractions augmente et atteint la norme.
4	23—25	8.91	235	13.0	100	10.65	60	387	100.8	Wysokość skurczów utrzymuje się na pierwotnym poziomie. Amplitude des contractions se maintient sur niveau précédent.
5	48	8.90	235	13.6	104	15.61	87	388	101	Jak wyżej. Comme ci dessus.
6	118	5.98	163	13.6	104	15.61	87	363	94	Jak wyżej. Comme ci dessus.
	123									Zastrzyk 9.5 cm ³ MgSO ₄ . Injection de 9.5 cm ³ MgSO ₄ .
7	124—129 (1—5)	20.85	551	11.8	91	22.29	125	366	95	Wysokość skurczów spada do zera. Amplitude des contractions tombe jusqu'à zéro.
	142 (18)									Pojawiają się skurcze. Les contractions reapparaissent.
8	198	19.2	508	13.4	103	39.19	219	348	90.6	Śmierć. Mort.

sko badane miało bardzo szybki przebieg w czasie (o wiele szybszy, niż w serji doświadczeń, w której stosowano iniekcje do otrzewnej), przeto nie udało się prześledzić przypuszczalnie zacho-

dzącego w tym czasie wzrostu stężenia potasu, charakterystycznego dla zjawiska narkozy odwracalnej. Udało się natomiast zaobserwować ponowny niewielki wzrost i spadek koncentracji potasu od wartości 86%, poprzez wartości niemal równe stężeniu początkowemu, do wartości równej 60% koncentracji, notowanej przed zastrzykiem. W tym samym czasie opadła krzywa stężenia magnezu, osiągając w momencie ustabilizowania się wysokości skurczów wartości dwukrotnie wyższe od stężenia początkowego. Część pierwsza doświadczenia miała zatem przebieg odwracalny, przyczem wyniki analiz są mniej więcej zgodne z wynikami, opisywanymi w części poprzedniej, dotyczącymi narkozy odwracalnej.



Rys. 4. Zmiany stężenia składników mineralnych w surowicy (magnezu, wapnia, potasu i sodu) i zmiany wysokości skurczów po iniekcjach dożylnych roztworów soli magnezowych (wg. tabl. VI).

Na osi odciętych — czas, który upłynął od zastrzyku soli magnezowej (chwila pierwszego zastrzyku oznaczona jako zero), na osi rzędnych — stężenie w mg na 100 cm³ surowicy i wysokość skurczów w cm; — — — — — wysokość skurczów; ^ — moment wstrzyknięcia; + — moment śmierci.

Fig. 4. La concentration du sérum en constituants minéraux (magnésium, calcium, potassium et sodium) et les variations de l'amplitude de contractions après des injections intraveineuse de la solution magnésienne (d'après tabl. VI).

En abscisses — temps en minutes, écoulé à partir de l'injection (moment de la première injection pris pour zéro); en ordonnées — la concentration en mg p. c. et hauteur des contractions en cm; — — — — — l'amplitude de contractions; ^ — moment de l'injection; + — moment de la mort.

Po ustaleniu się wysokości skurczów (2 godz. od chwili pierwszego zastrzyku) wstrzyknięto zwierzęciu ponownie roztwór MgSO₄·7H₂O w ilościach, identycznych z dawką poprzed-

nią. Tym razem zjawisko miało typowo nieodwracalny przebieg, a krzywe stężenia poszczególnych składników przebiegały w sposób charakterystyczny dla tego typu narkozy. Świadczą o tym zmiany stężenia potasu, wzrastające od stężenia 15.61 mg % poprzez 21.2 mg % do wartości 39.19 mg %, notowanej w chwili śmierci, a przewyższającej przeszło dwukrotnie normalne stężenie potasu w surowicy.

Należy podkreślić, że śmierć zwierzęcia nastąpiła nie w okresie największego stężenia magnezu i nie w okresie całkowitego zaniku pobudliwości pośredniej, ale w czasie, gdy zarówno pojawienie się skurczów, jak i spadek koncentracji magnezu zdawały się wskazywać na ustępowanie narkozy magnezowej.

Omówienie wyników.

Wyniki niniejszych doświadczeń przedstawić można w następujący sposób:

Sole magnezowe, wprowadzone w odpowiednich dawkach do organizmu zwierzęcego, naruszają w surowicy normalne stosunki międzyjonowe, to znaczy — wpływają zarówno na znaczne zwiększenie koncentracji magnezu, jak i na wzajemne ustosunkowanie się składników pozostałych. To zakłócenie równowagi jonowej wywołuje w organizmie albo krótkotrwałe zaburzenia, objawiające się stanem przemijającej narkozy magnezowej, albo też doprowadza do zaburzeń nieodwracalnych, kończących się śmiercią.

Jeżeli zestawić wyniki analiz, dotyczące zmian stężenia elektrolitów w różnych momentach narkozy odwracalnej i nieodwracalnej, to możemy zanotować następujące fakty:

1°. Zarówno w przypadku narkozy odwracalnej, jak i nieodwracalnej, można obserwować początkowo wzrost stężenia magnezu, przewyższający kilka do kilkunastu razy normalne stężenie tego pierwiastka w surowicy. Po osiągnięciu pewnego maksimum w przypadku narkozy odwracalnej jony magnezowe znikają z surowicy, przyczem szybkość eliminacji, początkowo duża, zmniejsza się stopniowo. Stężenie magnezu w momencie budzenia jest 2 do 4 razy wyższe od stężenia normalnego, notowanego przed zastrzykiem. W przypadku narkozy nieodwra-

calnej śmierć zwierzęcia następuje naogół w momencie, gdy w surowicy znajdują się jeszcze zwiększone ilości jonu magnezowego.

2°. Dane doświadczalne wskazują na to, że narkoza magnezowa nie wpływa w sposób istotny na zmiany stężenia jonu wapniowego. Obserwowane zmiany nie przekraczają w krańcowych przypadkach 30%. Fakt ten zasługuje na specjalną uwagę ze względu na sprzeczne dane w literaturze, dotyczące zagadnienia wzajemnego stosunku jonów Ca:Mg w różnych momentach narkozy. Gdy mianowicie *S t r a n s k y* ('15) i *R i c h t e r - Q u i t t n e r* ('24) obserwowali obniżenie koncentracji wapnia, *B i a ł o g ł o w s k a* ('34) stwierdziła zwiększenie stężenia wapnia, biegnące w tym samym kierunku, co stężenie magnezu. Zwiększenie stężenia wapnia utrzymywało się zarówno w końcowych momentach narkozy, jak i w chwili budzenia. Na podstawie wyników niniejszych należy przypuszczać, że w czasie narkozy magnezowej w zjawisku naruszania normalnego stosunku Ca:Mg decydującą rolę grają wyłącznie zmiany stężenia jonu magnezowego.

3°. Jest rzeczą bardzo charakterystyczną, że nawet wielokrotne zwiększenie stężenia magnezu nie jest czynnikiem decydującym o nieodwracalności narkozy. Bliższe badania wskazują, że momentem decydującym jest zwiększenie stężenia jonów potasowych. Wzrost koncentracji magnezu pociąga za sobą stosunkowo wybitny wzrost koncentracji potasu. Jony potasu, jako działające trująco, organizm stara się w czasie możliwie najkrótszym usunąć z krwiobiegu. O ile mechanizmy regulacyjne działają sprawnie, organizm radzi sobie bardzo szybko z napływającymi do krwiobiegu jonami potasowymi, usuwając cały ich nadmiar. O ile natomiast wskutek mniejszych zdolności regulujących ustroju organizm nie jest w stanie szybko wyeliminować całej napływającej do krwiobiegu ilości potasu, obserwujemy stałe narastanie stężenia potasu w surowicy, doprowadzające do koncentracji śmiertelnej.

Trujące działanie jonów potasowych podkreślano niejednokrotnie w literaturze. Przemawiają za tem szczególnie doświadczenia *B o c k a* ('07) i *B i a ł a s z e w i c z a* ('30). Jak wy-

nika z pracy Białaszewicza, wprowadzenie jonów potasowych do hemolimfy krabów wywołuje silne i długotrwałe zatrucie organizmu. Analizy chemiczne tego autora wykazały ponadto, że hemolimfa posiada zdolność szybkiego usuwania wprowadzonych jonów potasowych; szybkość eliminacji jest tak wielka, że w przypadku wprowadzenia niewielkich ilości soli potasowych trudno jest uchwycić moment wzrostu stężenia tego pierwiastka w cieczy ciała. Jeszcze wybitniejsze zdolności regulacyjne w stosunku do jonu potasowego wykazuje surowica ssaków, na co wskazują doświadczenia Bocka. Autor ten wykazał, że mimo stałego doprowadzania potasu z zewnątrz (drogą zastrzyku) organizm utrzymuje stałe stężenie potasu we krwi, różniące się nieznacznie od normalnej koncentracji. Podwyższenie stężenia o 35% powoduje według Bocka śmierć zwierzęcia.

Wyniki niniejszej pracy potwierdzają w zupełności dane literatury.

4°. Biegające równoległe do zmian stężenia potasu w surowicy wahania ilości fosforu nieorganicznego wskazują na to, że w czasie narkozy magnezowej potas wywędrowuje z tkanek.

Streszczenie wyników.

1°. Sole magnezowe, wprowadzone dootrzewnie do organizmu zwierząt ssących w ilościach, wywołujących tak zwaną narkozę magnezową, powodują zmiany w stężeniu innych składników mineralnych surowicy.

2°. W podobny sposób, przy znacznie jednak szybszym przebiegu w czasie, wpływa na zmiany koncentracji magnezu i pozostałych składników mineralnych dożylnie wprowadzenie odpowiednich ilości roztworu soli magnezowych.

3°. W początkowym stadium narkozy stężenie magnezu znacznie wzrasta, osiągając wartości, przewyższające 7—11-krotnie normalną koncentrację tego składnika w surowicy. Towarzyszy mu wzrost stężenia potasu i fosforu nieorganicznego oraz niewielkie zmiany w stężeniu wapnia nieprzekraczające w końcowych przypadkach 30%. Koncentracja sodu w surowicy nie ulega zmianie.

Po tym okresie zjawisko przebiegać może w dwóch kierunkach:

4°. Zwierzę po pewnym czasie budzi się z narkozy:

W tym przypadku stężenie magnezu zmniejsza się, osiągając w momencie obudzenia 2—4-krotną wartość normalnej koncentracji tego jonu; towarzyszą mu spadek i obniżenie stężenia potasu poniżej normalnej wartości.

5°. W przypadku, gdy zjawisko narkozy magnezowej kończy się śmiercią, zmiany stężenia potasu bieżą niezależnie od zmian stężenia magnezu. Następuje stałe i szybkie narastanie stężenia potasu w surowicy, powodujące po przekroczeniu pewnej wartości śmierć zwierzęcia. Równoległe do zmian stężenia potasu bieżą w surowicy zmiany stężenia fosforu nieorganicznego.

6°. Zmiany przewodnictwa nerwowo-mięśniowego i zmiany koncentracji magnezu w surowicy bieżą w kierunkach przeciwnych:

Najwyższej zaobserwowanej koncentracji magnezu odpowiada całkowity lub prawie całkowity zanik przewodnictwa nerwowo-mięśniowego, ustępujący w miarę eliminacji magnezu z surowicy.

P i ś m i e n n i c t w o .

Barrensch en H. K. und L. Messiner. 1927. Kolorimetrische Mikrobestimmung des Natriums. *Bioch. Zeitschr.* 189 (308). — Bell R. D. and E. A. Doisy. 1920. Rapid colorimetric methods for the determination of phosphorus in urine and blood. *Journ. of biol. Chem.* 44 (55). — Bethe A. 1929. Jonendurchlässigkeit der Körperoberfläche von wirbellosen Tieren des Meeres als Ursache der Giftigkeit von Wasser abnormer Zusammensetzung. *Arch. f. d. ges. Physiol.* 221 (344). — Bethe A. und Berger E. 1931. Variationen im Mineralbestand verschiedener Blutarten. *Arch. f. d. ges. Physiol.* 227 (571). — Białaszewicz K. 1926. O składzie mineralnym komórek jajowych. *Prace inst. im. Nenckiego.* 3. — Białaszewicz K. 1930. Badania nad zjawiskami regulacyjnymi składu mineralnego cieczy ciała. I Doświadczenia nad krabem *Maja squinado* L. *Acta Biol. Exper.* 5 (57). — Białogłowska F. 1934. Badania nad zjawiskami regulacyjnymi składu chemicznego cieczy ciała. II. Losy soli magnezowych wprowadzonych do organizmu królika. *Acta Biol. Exper.* 8 (290). — Böck J. 1907. Untersuchungen über die Nierenfunktion. I. Über die Ausscheidung der Alkalimetalle nach Injektion von Kaliumsalzen. 57 (182). — Bogucki M. 1933. O regulowaniu składu mineralnego krwi raka rzeczynego (*Astacus flaviatilis*). *Acta Biol. Exper.* 8 (80). — Briggs A. P. 1922. A modification of the Bell-Doisy phosphate method. *Journ. of biol. Chem.*

53 (13). — Briscoe and Leyshon. 1929. Proc. of Roy. Soc. 105 (B) 259. — Desprès M. 1931. Action curarisante du chlorure de magnésium. C. R. Soc. Biol. 107 (602). — Hecht G. 1923. Bestimmung des Organkalkes nach de Waard. Biochem. Zeitschr. 143 (342). — Höber R. 1926. Physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe. — Joliet et Cahour. 1869. Arch. de Physiologie 2, cyt. wg. Markwaldera. — Kramer B. and F. F. Tisdall. 1921. A clinical method for the quantitative determination of potassium in small amounts of serum. Journ. of biol. Chem. 46 (339). — Lubińska L. 1933. Próba analizy „narkozy magnezowej”. I. Wpływ magnezu na pobudliwość obwodowego układu lokomocyjnego. Acta Biol. Exper. 8 (252). — Lubińska L. 1935. Próba analizy „narkozy magnezowej”. II. Wpływ magnezu na obwodowe reakcje nerwowo-mięśniowe. Acta Biol. Exper. 9 (56). — Magnus R. 1900. Über die Veränderungen der Blutzusammensetzung nach Kochsalzinfusion. Arch. f. exp. Path. u. Pharmak. 44 (68). — Magnus R. 1900. Über Diurese. II Mitt. Vergleich der diuretischen Wirksamkeit isotonischer Salzlösungen. Arch. f. exp. Path. u. Pharmak. 44 (396). — Markwalder J. 1917. Experimentelle Untersuchungen über Therapie des Wundstarrkrampfes mit intravenöser Magnesiuminfusion. Zeitschr. f. die ges. exp. Med. 5 (150). — Mansfeld G. und Bosanyi S. 1913. Untersuchungen über das Wesen der Magnesiumnarkose. Arch. f. die ges. Physiol. 152 (175). — Meltzer J. S. and Auer J. 1908. The antagonistic action of calcium upon the inhibitory effect of magnesium. Am. Journ. of Physiol. 21 (400). — Meltzer J. S. and Auer J. 1905. Physiological and pharmacological studies of magnesium salts. I. General anaesthesia by subcutaneous injections. Amer. Journ. of Physiol. 14 (366). — Neuschlosz S. M. 1920. Die kolloidchemische Bedeutung des physiologischen Jonenantagonismus und der äquilibrierten Salzlösungen. Arch. f. d. ges. Physiol. 181 (17). — Richter-Quittnier M. 1924. Sur les modifications de la composition minérale du plasma après administration de CaCl_2 et de MgCl_2 . C. R. Soc. Biol. 91 (596). — Scholles W. 1933. Über die Mineralregulation wasserlebender Evertbraten. Zeitschr. f. vergl. Physiol. 19 (522). — Starckenstein E. 1914. Über die pharmakologische Wirkung kalziumfällender Säuren und der Magnesiumsalze. Arch. f. exp. Path. u. Pharmak. 77 (45). — Stransky E. 1915. Untersuchungen über die Magnesiumnarkose. Arch. f. exp. Path. u. Pharmak. 78 (122). — De Waard D. J. 1919. Eine Mikrobestimmung des Calciums in Blut, Serum und anderen organischen Substanzen. Bioch. Zeitschr. 97 (176). — Wiki B. 1906. Sur les propriétés pharmacodynamiques des sels de magnésium. Journ. de Physiol. et de Pathol. Gén. 8 (794). — Wiechmann. 1920. Zur Theorie der Magnesiumnarkose. Arch. f. d. ges. Physiol. 182 (74). — Zondek S. G. 1927. Die Elektrolyten.

[Zakład Fizjologii Instytutu im. Nenckiego T. N. W. i Zakład Fizjologii Zwierząt Uniwersytetu J. P. w Warszawie].

K. Białaszewicz.

Badania nad przemianą materji i energji w czasie rozwoju owadów. III. O odżywianiu się jedwabnika (*Bombyx mori* L.) w ostatnim okresie wzrostu.

*Recherches sur le métabolisme chimique et énergétique au cours du développement des Insectes. III. Sur l'alimentation du ver à soie (*Bombyx mori* L.) pendant la dernière période de sa croissance.*

Rękopis nadesłany w dniu 30.VII.1936 r.

Dans le présent travail nous donnons les résultats de nos recherches concernant le bilan de l'alimentation des chenilles du *Bombyx* pendant la dernière période de leur croissance, c'est-à-dire à partir de la quatrième mue jusqu'au moment du filage du cocon. Les expériences, effectuées séparément sur différents individus, ont porté sur les chenilles au début et à la fin de la période expérimentale, sur leurs excréments, sur les feuilles de mûrier offertes aux animaux et sur les feuilles laissées (non utilisés). Nous y avons dosé la substance sèche, les cendres, l'azote, le carbone, la cellulose et les autres glucides, les acides gras et l'insaponifiable et déterminé la chaleur de combustion de la substance sèche (tabl. XIII). Ces déterminations ont permis de préciser la composition et l'énergie chimique de la nourriture consommée et de la nourriture absorbée ainsi que leur rôle dans les processus cataboliques et anaboliques s'accomplissant pendant la croissance des chenilles (tabl. XIV et XV).

En nous basant sur les expériences et les analyses chimiques effectuées, nous avons tout d'abord constaté que la consommation des feuilles de mûrier pendant toute la période en question est, par rapport à l'accroissement de la masse vivante,

une valeur constante, indépendante du sexe de l'insecte et de la durée de sa croissance (tabl. I). Elle est égale en moyenne à 4.14 g d'aliments frais par gramme d'accroissement net du poids du corps (tabl. II et fig. 1). Le rendement d'assimilation de la nourriture est le plus grand au commencement d'alimentation après la mue et diminue ensuite progressivement au cours de la croissance (tabl. III).

Du total de la nourriture consommée par les chenilles pendant leur croissance environ 52% est absorbé dans le tube digestif (tabl. I). De même que pour le rendement d'assimilation c'est pendant les premiers moments de l'alimentation après la mue que nous observons le maximum d'utilisation intestinale globale de la nourriture (tabl. IV).

Les différents constituants de la nourriture ne sont pas absorbés au même degré (tabl. V). C'est ainsi que l'eau, contenue dans les feuilles de mûrier, est absorbée en bien plus grande quantité (60.2%) que la substance sèche (41.4%), dont la majeure partie n'est pas digérée. Le liquide, absorbé dans l'intestin de la chenille, est une solution concentrée (à 21% environ) des produits de l'hydrolyse digestive (tabl. VI) qui, en comparaison avec la substance sèche des feuilles, sont bien plus riches en glucides solubles dans l'eau, en carbone et en énergie chimique.

Une certaine partie de ce liquide absorbée par les chenilles pendant la période de leur croissance soit disparaît par perspiration soit est consommée dans les processus métaboliques, ceci en proportions suivantes (tabl. VII): la moitié environ de l'eau (63.6%), de la substance sèche (52.7%) du carbone (51.7%) contenu dans celle-ci, ce qui représente 49.7% de l'énergie chimique. La valeur du quotient calorique de CO_2 , déterminée par la perte du carbone oxydé et de l'énergie chimique transformée en chaleur, pour toute la période examinée, est égale à 4.77 kcal par litre de ce gaz (tabl. IX). C'est ainsi qu'en calculant les pertes de carbone, établies dans expériences particulières, nous arrivons à évaluer la production calorique des vers à soie, pendant leur dernière période de croissance à 3 kcal en moyenne (tabl. X). Il en résulte que le rendement énergétique des processus assimilateurs pendant la croissance des chenilles, expri-

mé en rapport de l'énergie chimique contenue dans les substances assimilées à la chaleur de combustion de la nourriture absorbée, est considérable, car il s'éleve à 0.5 environ (0.497 chez les femelles et 0.485 chez les mâles).

En ce qui concerne les constituants organiques assimilés et en particulier les acides gras, ils ne peuvent provenir qu'en partie de la nourriture consommée (tabl. XI): le reste, par contre, s'élevant au moins à la moitié de la quantité assimilée, est formé de nouveau au dépens de la transformation des autres substances organiques de la nourriture. De même la quantité des glucides absorbés par les chenilles est relativement petite: bien que cette quantité eût suffi comme matière première pour la synthèse des acides gras, du glycogène et de la chitine qui se forment pendant la période de la croissance, elle serait cependant insuffisante pour les besoins énergétiques de l'organisme.

Ces faits permettent de supposer que les composés azotés organiques de la nourriture sont des matériaux de première importance tant au point de vue de l'énergie que de l'organisation chez les vers à soie en croissance. Ces composés se dégradent en partie, et en partie subissent des transformations de structure très profondes, liées à la production de la soie.

Ostatni okres wzrostu gąsienic jedwabnika może z wielu względów budzić zainteresowanie fizjologa. Powodem zainteresowania może być przede wszystkim okoliczność, że w tym okresie rozwoju zachodzą zjawiska wzrostu o bardzo znacznym nasileniu: stwarza to z gąsienic jedwabnika dogodny obiekt do badań nad chemizmem i energetyką procesów asymilacyjnych. Po drugie, w okresie tym na wielką skalę rozwija się swoisty proces syntezy składników jedwabiu, tak niezmiernie ciekawy z punktu widzenia przebudowy strukturalnej związków azotowych, zawartych w pokarmie roślinnym. I wreszcie — w ciele gąsienic zachodzą w tym czasie zjawiska gromadzenia rezerw organicznych, których kosztem odbywają się późniejsze procesy rozpadowe i syntetyczne, ujawniające się w okresie przeobrażania się gąsienicy w motyla.

W ogólnym programie naszych poszukiwań nad rosnącymi gąsienicami jedwabników praca niniejsza stanowi część pierwszą. Porusza ona zagadnienia stosunku procesów asymilacyjnych do dysymilacyjnych, badanych z pomocą metod ogólnej przemiany materji i energii. Następne części będą dotyczyły procesów gromadzenia się organicznych składników ciała w okresie wzrostu, sprawy przebiegu procesów oddechowych w tym czasie oraz — zagadnienia pochodzenia i powstawania aminokwasów, wchodzących w skład jedwabiu.

Z piśmiennictwa, dotyczącego rozwoju larwalnego jedwabnika i bezpośrednio odnoszącego się do kwestyj, będących przedmiotem obecnej pracy, należy wymienić dwie najważniejsze publikacje, a mianowicie — Peligota ('67) i Kellnera ('84).

Badania Peligota miały na celu ustalenie w czasie całego okresu rozwoju larwalnego jedwabnika bilansu czterech pierwiastków, mianowicie — węgla, wodoru, tlenu i azotu. Za najważniejszy wynik tej pracy należy uważać stwierdzenie faktu, że w okresie życia larwalnego nie zachodzi ani utrata w postaci lotnej azotu, pobieranego przez gąsienicę w pokarmie, ani też przyswajanie tego pierwiastka z atmosfery. Poza to jako ciekawy wynik obliczeń bilansowych należy podnieść konkluzję autora, iż wskutek procesów oddechowych i perspiracyjnych wodór i tlen znikają z pobranego pokarmu w tym samym stosunku, w jakim te pierwiastki występują w wodzie wzgl. w węglowodanach.

Podstawowa w tej dziedzinie praca Kellnera obejmuje wyniki badań nad wszystkimi pięcioma okresami wzrostu gąsienic jedwabnika. Posługując się ówczesnymi metodami analitycznymi, autor ten oznaczał szereg składników (substancję suchą, białka, tłuszcze, chitynę, związki mineralne) w ciele gąsienic, które znajdowały się w kolejnych okresach snu, oraz ponadto inne związki, występujące w spożywanych liściach morwy i w wydalinach gąsienic (błonnik, substancje wyciągowe azotowe i bezazotowe). Z głównych wyników, osiągniętych przez Kellnera, należy podkreślić ustalenie — dla wszystkich pięciu okresów wzrostu — stosunku wagowego między składnikami pokarmu rozłożonymi i przyswojonymi, stwierdzenie, że błonnik pobrany w pokarmie nie ulega w przewodzie pokarmowym gąsienicy strawieniu i wreszcie — przeprowadzenie dowodu doświadczalnego na to, iż część tłuszczów zapasowych, które gromadzą się w ciele gąsienic w ostatnim okresie ich wzrostu, powstaje na nowo.

W związku z badaniami poprzednich autorów należy wymienić prace Luciani'ego i Lo Monaco ('97), którzy oznaczali azot w rosnących gąsienicach jedwabnika w czasie całego rozwoju pozarodkowego oraz badali codzienny bilans azotowy tych gąsienic w ostatnim okresie ich wzrostu. Na szczególną uwagę zasługuje stwierdzenie przez tych autorów faktu, iż uzyskanie azotu z liści morwy jest znacznie mniejsze w pierwszym dniu

żerowania po czwartej wylince, niż w późniejszych momentach wzrostu, w czasie których przyswajanie związków azotowych z liści morwy staje się coraz bardziej doskonałe.

Badania wymienionych autorów były prowadzone na hodowlach masowych, składających się z wielkiej liczby gąsienic, które jednocześnie żerowały i jednocześnie przechodziły okresy snu larwalnego. Ten sposób prowadzenia doświadczeń, wystarczający być może dla scharakteryzowania ogólnego bilansu odżywiania, utrudnia jednak — wskutek nieuniknionych opóźnień w rozwoju — dokładne poznanie przebiegu zjawisk indywidualnych i ściśle wyodrębnienie procesów jakościowo różnych.

Ze względów powyższych poszukiwania obecne były prowadzone nie na hodowlach masowych, lecz na gąsienicach pojedynczych, których odżywianie i wzrost kontrolowano codziennie. Postępowanie to dawało możliwość eliminowania doświadczeń nieudanych, w których rozwój gąsienic odbiegał od normy, oraz — właściwej oceny przeciętnych wartości liczbowych, wyprowadzonych grupowo z doświadczeń indywidualnych.

Wyniki, podane poniżej, dotyczą w szczególności sprawy zapotrzebowania pokarmu przez gąsienice rosnące, zagadnienia wykorzystania jego części składowych w przewodzie pokarmowym oraz ogólnej charakterystyki procesów przemiany materji i energii w zjawiskach rozpadu, przebudowy i przyswajania strawionych i zresorbowanych składników pokarmu.

Metodyka.

Doświadczenia były prowadzone na gąsienicach jedwabnika (*Bombyx mori* L, francuska rasa „warska”) w piątym okresie wzrostu.

Punktem wyjściowym były gąsienice w momencie czwartej wylinki, końcowym zaś — gąsienice w chwili zakładania pierwszych przeseł jedwabiu pod budowę kokonu. Z gąsienic, znajdujących się w obu wspomnianych momentach rozwoju, przygotowywano substancję suchą, zabijając je w temperaturze 100° i następnie susząc początkowo na łaźni wodnej, potem zaś — po sproszkowaniu — w suszarce próżniowej w t. 45° do wagi stałej. W materiale tym oznaczano azot, węgiel, kwasy tłuszczowe, substancje niezmnydlające się i ciepło spalania.

Doświadczenia nad odżywianiem gąsienic prowadzono, jak już wspomniano powyżej, na pojedynczych osobnikach: znajdowały się one przez cały czas trwania obserwacji w szczelnie zamykanych kryształizatorach o pojemności 400—500 cm³, w powietrzu nasyconym parą wodną.

Doświadczenia te rozpoczynano zwykle w 2—3 godzin po zrzućeniu przez gąsienice skórkę. Po zważeniu zwierzę przenoszono do krystalizatora, kładąc na dno bibułę, zwilżoną kilkoma kroplami wody. Do karmienia używano tylko połówek liści morwy, przekrojonych podłużnie („liście podane”), pozostałe zaś połowki służyły jako kontrola podanego pokarmu („liście kontrolne”): obie porcje liści wazono, pierwszą umieszczano w krystalizatorze, drugą zaś — odkładano do późniejszych analiz. Następnego dnia wazono gąsienicę ponownie i oznaczano ciężar liści niezjedzonych („liście pozostałe”) oraz wydaliny, które odkładano do suszenia, poczem — zwierzę przenoszono z powrotem do krystalizatora i po zwilżeniu bibuły wodą podawano pokarm, postępując w ten sam sposób, co dnia poprzedniego. Manipulacje te powtarzano codziennie, aż do końca doświadczenia, t. j. do chwili rozpoczęcia przez gąsienicę snucia.

Zebrane z każdego okresu doświadczonego liście kontrolne, liście pozostałe i wydaliny suszono na łaźni wodnej oddzielnie i doprowadzano w sposób podany powyżej do wagi stałej. Masa sucha tych substancji służyła jako materiał do analiz, o których będzie mowa poniżej.

W ten sposób uzyskano dane bezpośrednie, dotyczące: 1°, zachowania się ciężaru ciała poszczególnych gąsienic w czasie całego okresu badanego; 2°, masy świeżej i suchej gąsienic na początku i w końcu okresu doświadczonego; 3°, masy świeżej i suchej liści podanych i pozostałych, zebranych w dziennych odstępach czasu; 4°, masy świeżej i suchej wydaliny, odpowiadającej tym okresom czasu. Ponadto dane te pozwoliły obliczyć zarówno dla odcinków dziennych, jak i dla całego okresu doświadczonego, ilości masy świeżej, wody i substancji stałych pokarmu pobranego i zresorbowanego (por. tab. XII i XIV).

Analizy chemiczne wykonywano, jak już wspomnieliśmy, na materiale wysuszonym. Ogólne ilości substancji suchej, zebranej w doświadczeniach na pojedynczych egzemplarzach, okazały się jednak niewystarczające dla przeprowadzenia wszystkich zamierzonych analiz. Z tego względu doświadczenia, wykonane na poszczególnych osobnikach, podzielono na dwie serje, z których pierwsza obejmowała cztery gąsienice samice (Nr. Nr. 1, 3, 4, 5 — serja A, por. tab. XII—XIV), druga zaś — pięć gąsienic samczych (Nr. Nr. 6, 7, 8, 9, 10 — serja C, por. tab. XV). W każdej serji odpowiedni materiał suchy, pochodzący z liści podanych („kontrolnych”) i pozostałych, wydaliny oraz gąsienic z okresu początkowego (gąsienice kontrolne) i końcowego, połączono z sobą razem, dokładnie zmieszano i starto na drobny proszek. Materiał ten służył do analiz, mających na celu oznaczenie w obu serjach azotu, węgla, popiołu i ciepła spalania, oraz w serji A ponadto: błonnika i „reszty węglowodanów” w liściach podanych, pozostałych i w wydalinach, oraz kwasów tłuszczowych i substancji niezmydlających się zarówno w wymienionym materiale, jak i w substancji suchej gąsienic. Glikogen gąsienic był oznaczany w materiale świeżym, niesuszonym (por. tab. XIII).

Ciepło spalania oraz węgiel oznaczano w bombie kalorymetrycznej, chwytając i ważąc po spalaniu substancji dwutlenek węgla,

zawarty w gazach spalinowych. W kilku doświadczeniach oznaczono jednocześnie popiół, pozostały w tygielku platynowym po spaleniu pastylki. Oznaczenia węgla i energii chemicznej przeprowadzano na tym samym materiale przynajmniej dwukrotnie.

W oznaczeniach azotu posługiwano się zwykłą metodą Kjeldahla, glikogenu zaś — metodą Pflügera z zastosowaniem metody Bertranda do oznaczeń glukozy po zhydrolizowaniu glikogenu.

Oznaczenie kwasów tłuszczowych i substancyjnie zmydlających się klasyczną metodą Kumagawa-Suto w liściach morwy i w wydalinach gąsienicy natrafia na znaczne trudności. Przyczyną ich jest obecność stosunkowo dużych ilości części nierozpuszczalnych w ługu, które zatrzymują substancje tłuszczowe. Wobec tego analizy wykonywano w sposób nieco odmienny. Mianowicie — wysuszoną i drobno sproszkowaną substancję (około 2 — 3 g) zalewano 1% roztworem KOH w alkoholu etylowym, utrzymując — po założeniu chłodnicy zwrotnej — ciecz we wrzeniu w ciągu trzech godzin. Po zdekantowaniu płynu, powtarzano to postępowanie jeszcze dwukrotnie, używając za każdym razem po 100 cm³ alkoholowego roztworu ługu. Połączone zlewki odparowywano następnie na łaźni wodnej do małej objętości, ciecz przenoszono ilościowo do rozdzielacza, zakwaszono kwasem solnym, wyklócano kilkakrotnie eterem etylowym, postępując w dalszym ciągu — celem oddzielenia kwasów tłuszczowych od związków niezmydlających się — w sposób podany w metodzie Kumagawa-Suto.

W oznaczeniach węglowodanów w liściach i w wydalinach stosowano zwykle metody analizy materiału roślinnego (por. Kiesel '34). Początkowo zamierzano ustalić w odżywianiu gąsienic udział w następującej kolejności oddzielanych frakcji węglowodanów, a mianowicie: 1^o, węglowodanów rozpuszczalnych w alkoholu etylowym (96^o potem 82^o) na gorąco (monozy wolne, maltoza, sacharoza); 2^o, węglowodany rozpuszczalne w wodzie, ogrzanej do 50^o (głównie dekstryny); 3^o, frakcji, przechodzącej do roztworu wodnego pod wpływem diastazy w temp. 40^o (głównie skrobia); 4^o, węglowodany, ulegające hydrolizie w obecności 2% HCl na łaźni wodnej w ciągu trzech godzin (ciała pektynowe), wreszcie 5^o, pozostałość, hydrolizująca się w obecności 80% H₂SO₄ w temperaturze pokojowej w ciągu 3 godzin (błonnik). Po wykonaniu kilku prób na liściach morwy i wydalinach gąsienic dalszych analiz zaniechano z powodu dosyć chwiejnych wyników w ilościowym oddzieleniu od siebie poszczególnych frakcji, wymagającym bardziej precyzyjnego ustalenia warunków frakcjonowania. Ponieważ jednak w trakcie tych prób stwierdziliśmy zadawalające wyniki w oznaczaniu frakcji błonnika, ograniczyliśmy się w dalszym ciągu do oznaczania tylko dwu frakcji: 1^o, obliczonej jako glukoza t. zw. frakcji „pozostałych” węglowodanów, otrzymanych jako substancje redukujące po trzech godzinach ogrzewania drobno sproszkowanego materiału (liści i wydaliny) w 2% HCl na łaźni wodnej i po następnym wytrąceniu octanem ołowiu innych ciał redukujących (szczegóły postępowania: por. Kiesel '34); 2^o, frakcji błonnika, również wyrażonej jako glukoza, oznaczonej po zhydrolizowaniu

nierozpuszczalnej po przedniej hydrolizie pozostałości z pomocą 80% H_2SO_4 w ciągu trzech godzin w temperaturze pokojowej. Stosując powyższy sposób rozdzielania, otrzymuje się nieuniknione straty siły redukującej z powodu rozkładu fruktozy we frakcji pierwszej: ilość jednak fruktozy w badanym przez nas materiale nigdy nie przekraczała 8% całkowitej ilości węglowodanów¹⁾. Pozatem — próbne analizy wykazały, że ogólna ilość węglowodanów, oznaczonych w hydrolizacie po działaniu 2% HCl zgadza się dosyć dobrze ($\pm 8\%$) z sumą czterech pierwszych frakcyj, oznaczonych osobno.

Wyniki wszystkich powyższych analiz zostały wyrażone w %/‰ substancji świeżej (por. tab. XIII).

Znając ogólne ilości masy świeżej zebranych w czasie doświadczeń substancyj (por. tab. XII), obliczamy następnie bezwzględną zawartość oznaczanych składników (wody, substancji suchej, azotu, węgla, glikogenu, błonnika, reszty węglowodanów, kwasów tłuszczowych, substancyj niezmydlających się) oraz energii chemicznej w zebranych w czasie odżywiania gąsienic substancjach (t. j. w pokarmie pobranym i pozostałym, w wydzielinach i w gąsienicach na początku i w końcu okresu doświadczalnego). Stąd obliczamy ostatecznie interesujące nas przedewszystkiem ilości składników oznaczanych (por. tab. XIV i XV): 1^o, w pokarmie pobranym (pokarm podany mniej pokarm pozostały); 2^o, w pokarmie zresorbowanym (pokarm pobrany mniej wydaliny); 3^o, w substancjach, przyswojonych przez gąsienice (gąsienice w końcu doświadczenia mniej gąsienice na początku) i 4^o, w substancjach przez gąsienice rozłożonych (pokarm zresorbowany mniej substancje przyswojone).

W ten sposób obliczono ostateczne wyniki serji A i C doświadczeń nad odżywianiem i przedstawiono je w tabelach protokularnych XIV i XV niniejszej pracy.

C z ę ś ć d o ś w i a d c z a l n a .

1. Zapotrzebowanie pokarmu.

Pierwszem pytaniem, które się nasuwa w badaniach nad żywieniem zwierząt rosnących, jest kwestja zapotrzebowania pokarmu. Sprawę tę starano się wyjaśnić, ustalając stosunek między spożytym w ciągu całego okresu wzrostu pokarmem a przyrostem ciężaru ciała gąsienic (tab. I).

Jak wynika z zestawienia, w którym wzięto pod uwagę pięć gąsienic samiczych (serja A) i taką samą liczbę gąsienic samiczych (serja C), przeciętne spożycie pokarmu w ciągu całego

¹⁾ Przekonano się o tem, oznaczając w liściach morwy różnego pochodzenia zawartość fruktozy we frakcji węglowodanów, rozpuszczalnych w alkoholu etylowym (96^o i 82^o) na gorąco (Kiesel '34).

Tabela I.

Spżożenie liści morwy, resorbacja pokarmu i jego wyzyskanie w jelicie gąsienicy.

Consummation des feuilles de mûrier, absorption de la nourriture et son utilisation dans le tube digestif de la chenille.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Nr. gąsienicy	Ciężar ciała w czasie IV wylinki	Maksymalny przyrost ciężaru ciała		Liście spożyte		Wydaliny		Pokarm zresorbowany		Wyzyskanie pokarmu w jelicie
		całkowity	w procentach ciężaru początkowego	ilość całkowita	na gram maksymalnego przyrostu ciała	ilość całkowita	liczba kawalków	ilość całkowita	na gram maksymalnego przyrostu ciała	
Nr. de la chenille	Poids de la chenille pendant la IV-mue	total	en pour-cent du poids initial	quantité totale	pour gramme d'accroissement maximum du corps	quantité totale	nombre de crotes	quantité totale	d'accroissement maximum du corps	%
Gąsienice samice (Serja A) — Chenilles femelles (Série A)										
3	0.619	2.326	373	8.555	3.678	3.763	209	4.792	2.030	56.0
1	0.517	2.593	601	10.409	4.015	5.130	269	5.279	2.036	50.7
4	0.546	3.207	687	11.497	3.583	5.966	299	5.531	1.725	48.1
5	0.774	3.316	444	11.011	3.320	4.971	278	6.040	1.852	54.8
12	0.759	4.116	642	16.875	4.100	7.658	273	9.217	2.241	54.6
			Przeciętnie:	11.669	3.739	5.498	266	6.172	1.983	52.4
			Moyenne:							
Gąsienice samcze (Serja C) — Chenilles mâles (Série C)										
8	0.552	2.473	448	9.737	3.937	4.171	258	5.566	2.251	55.1
9	0.518	2.662	514	10.191	3.828	5.029	242	5.162	1.939	50.7
6	0.718	2.664	371	9.878	3.707	4.691	224	5.187	1.947	52.5
7	0.526	2.824	537	10.598	3.754	5.158	269	5.440	1.926	51.3
10	0.634	2.936	393	10.947	3.730	5.274	292	5.673	1.932	51.8
			Przeciętnie:	10.266	3.791	4.865	257	5.406	1.998	52.4
			Moyenne:							

ostatniego okresu wzrostu wynosi 10.918 g świeżych liści morwy, wahając się w bardzo szerokich granicach od 8.555 do 16.875 g na jednego osobnika (kol. 5).

Różnice wybitne istnieją również w wielkości przyrostów ciężaru ciała gąsienic. Różnice te u egzemplarzy badanych występują w obrębie od 2.326 do 4.116 g u jednego osobnika (kol. 3), jeśli za przyrost istotny będzie się uważało nie przyrost, stwierdzony w chwili zakończenia doświadczenia, lecz przyrost maksymalny, ujawniony przez gąsienice w całym okresie wzrostu.

Ponieważ większemu zużyciu pokarmu odpowiadają naogół większe przyrosty ciężaru ciała, pobieżne nawet porównanie tych dwu szeregów liczb wskazuje dosyć bliską między nimi zależność.

Wyrazem tej zależności są obliczenia spożycia pokarmu, wyrażone w gramach masy świeżej liści, pobranych w całym okresie żywienia, w odniesieniu do jednego grama maksymalnego przyrostu ciężaru ciała, ujawnionego w tym okresie (kol. 6). Okazuje się, że w ten sposób wyrażone spożycie jest wielkością, zmieniającą się w granicach znacznie węższych (3.320—4.100 g), niż spożycie ustalone na jednego osobnika, i że poza tym — nie daje się stwierdzić wyraźniejszej pod tym względem różnicy między osobnikami samczymi (przeciętnie 3.739 g) i samiczymi (3.791 g).

Ogólnie więc można powiedzieć, że spożycie pokarmu w całym okresie wzrostu, o d n i e s i o n e d o j e d n o s t k i p o w s t ą j ą c e g o c i ęż a r u c i ą ł a , j e s t w a r t o ś c i ą s t ą ł ą , w y n o s z ą c ą p r z e c i ę t n i e 3.76 g ś w i ę ż y c h l i ś c i m o r w y n a g r a m p r z y r o s t u b r u t t o . W o d n i e s i e n i u n a t o m i a s t d o r z e c z y w i s t e g o p r z y r o s t u m a s y ż y w e j , r ó w n e g o r ó ż n i c y m i ę d z y m a k s y m a l n y m s t w i e r d z o n y m p r z y r o s t e m a c i ęż a r e m p o k a r m u n i e s t r a w i o n e g o , n i e w y d a l o n e g o z j e l i t ¹⁾ , s p o ż y c i e t o j e s t w i ę k s z e i b ę d z i e w y n o s i ł o 4.14 g . C z y l i , i n n e m i s ł o w y , z c a ł k o w i t e j i ł o ś c i p o k a r m u p o b r a n e g o g ą s i e n i c a z a t r z y m u j e w s w e m c i e l e z a l e d w i e 24% : p o z o s t a ł a c z ę ś ć s t a n o w i p o k a r m n i e w y z y s k a n y i w y d a l i n y o r a z t e c z ę ś c i z r e s o r b o w a n e g o p o k a r m u , k t օ r e z o s t a j ą z u ż y t e n a p r o c e s y o d d y c h a n i a i p e r s p i r a c j i w o d n e j .

¹⁾ Zawartość wydaliny w ciele gąsienicy w momencie największego przyrostu wynosi 9.2%. — Porównaj tab. II.

Stwierdzenie powyższej zależności, mające swą wagę jedynie w odniesieniu do całego okresu wzrostu, nie wyłącza możliwości istnienia zmian w zapotrzebowaniu pokarmu w kolejnych momentach wzrostu.

Sprawa ta w ujęciu doświadczalnym o tyle nastęrcza trudności, że nie wiemy, jaka ilość wydaliny, nieusuniętych z jelita, znajduje się w zwierzęciu w jego kolejnych stadjach wzrostu, stąd też nie jest znany ciężar gąsienicy „netto”. Gdyby ilość ta ulegała zmianie w czasie wzrostu, wtedy obliczanie przyrostu rzeczywistego z różnicy ciężarów brutto byłoby niedokładne.

Trudność tę starano się usunąć, oznaczając zawartość nieusuniętych z jelit wydaliny w sposób następujący:

Tabela II.

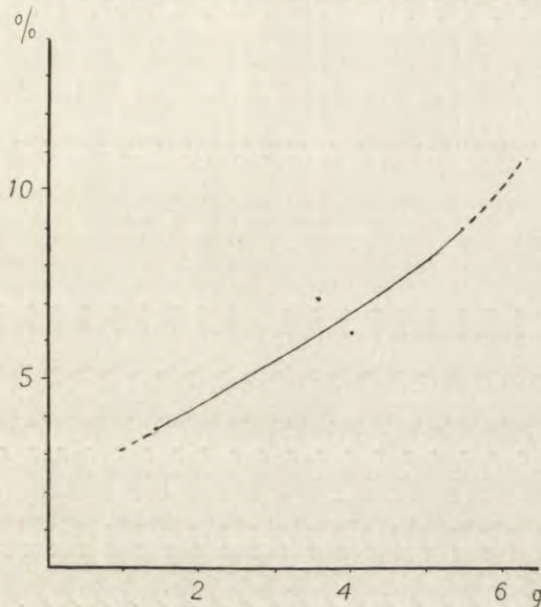
Zawartość wydaliny w ciele gąsienicy w różnych momentach wzrostu.

Quantité d'excréments dans le corps des chenilles à différents moments de leur croissance.

Nr. obserwacji Nr. de l'observation	Czas od początku żywienia Temps écoulé depuis le commencement de l'alimentation dni — jours	Liczba gąsienicy Nombre des chenilles	Ciężar ciała brutto Poids brut du corps		Ciężar wydaliny usuniętych z jelita w czasie 24 godz. głodu Poids des excréments éliminés de l'intestin pendant 24 heures de jeûne	
			wszystkich gąsienicy de toutes les chenilles	jednej gąsienicy d'une chenille	ilość bezwzględna quantité absolue	w stosunku do ciężaru gąsienicy brutto par rapport au poids brut du corps
			g	g	g	%
1	0	5	4.924	0.985	0	0
2	0.87	5	6.935	1.387	0.254	3.65
3	1.87	4	8.796	2.199	0.405	4.60
4	2.78	3	10.880	3.626	0.783	7.20
5	3.67	2	8.010	4.005	0.503	6.28
6	4.67	2	10.135	5.067	0.865	9.54
7	5.63	2	10.770	5.385	0.987	9.16
8	6.58	2	10.010	5.005	1.355	13.42
9	7.79	3	10.673	3.557	0	0

Z normalnie odżywianej hodowli gąsienicy, prowadzonej w stałych warunkach temperatury (25°) i wilgotności (75% nasycenia) oddzielano codziennie po kilka osobników do próżnego, nasyconego parą wodną, naczynia na przeciąg jednej doby, zbierając wydaliny i ważąc je. W ciągu tego czasu — jak wynika z sekcji zwierząt — wydalały one prawie całkowitą ilość liści, zawartych w jelicie. Ilość wydaliny, uzyskaną w ten sposób, obliczono w procentach ciężaru ciała „brutto”.

Jak wynika z przytoczonej tabeli II, zawierającej dane z jednego tego rodzaju doświadczenia, procentowa zawartość wydaliny, zatrzymywanych w ciele gąsienic, nie jest stała: zwiększa się ona początkowo prawie wprost proporcjonalnie do ciężaru ciała, w końcowych zaś okresach żywienia — znacznie szybciej, dochodząc w pewnym czasie po osiągnięciu przez gąsienice ciężaru największego — do 13.4%. Rys. 1 wyjaśnia bliżej powyższą zależność i pozwala każdorazowo ustalić drogą interpolacji właściwy ciężar ciała gąsienicy.



Rys. 1. Zależność między ciężarem gąsienicy brutto (oś odciętych) a zawartością procentową w ich ciele wydaliny (oś rzędnych).

Rys. 1. Relation entre le poids total de la chenille (axe des abscisses) et le pourcentage des excréments contenus dans son corps (axe des ordonnées).

Wprowadzając powyższą poprawkę do innego specjalnie w tym celu przeprowadzonego doświadczenia, w którym codziennie ważono zwierzęta i pokarm spożyty, obliczono ciężar ciała „netto” na początku i w końcu każdego okresu obserwacyjnego oraz właściwe przyrosty masy żywej gąsienic. Odnosząc do nich ilości spożytego pokarmu, przypadającego na te okresy, otrzymujemy liczby, wyrażające wydajność wzrostową pokarmu.

Tabela III.

Zapotrzebowanie pokarmu przez gąsienice w różnych momentach wzrostu.
Besoin de nourriture chez les chenilles à différents moments de leur croissance.

Nr. obserwacji Nr. de l'observation	Czas średni od początku odżywiania Temps moyen depuis le commencement de l'alimentation	Czas trwania obserwacji Durée de l'observation	Ciężar ciała brutto Poids brut du corps		Ciężar ciała netto Poids net du corps		Zmiany ciężaru ciała netto Variations du poids net du corps	Pokarm pobrany w czasie obserwacji Nourriture consommée pendant les observations	
			początkowy initial	końcowy terminal	początkowy initial	końcowy terminal		ilość bezwzględna quantités absolues	na gram przyrostu ciała netto pour 1g d'accroissement net du corps
dni - jours	dni - jours	dni - jours	g	g	g	g	g	g	g
1	0.43	0.87	1.221	2.035	1.221	1.948	+0.727	0.958	1.32
2	1.33	0.88	2.035	3.113	1.948	2.939	+0.991	2.053	2.14
3	2.31	0.99	3.113	4.253	2.939	3.955	+1.016	2.578	2.53
4	3.28	0.95	4.253	5.435	3.955	4.940	+0.985	2.760	2.80
5	4.15	0.94	5.435	6.502	4.940	5.735	+0.795	4.505	5.66
6	5.39	0.53	6.648	6.915	5.864	6.099	+0.235	1.528	6.50
7	6.02	0.44	6.915	6.807	6.099	6.004	-0.095	0.458	—
8	6.52	0.55	6.807	6.538	6.004	5.767	-0.237	0.829	—

Jak należało się spodziewać, gąsienice na wytworzenie jednostki masy żywej zużywają bezpośrednio po wylince znacznie mniejsze ilości pokarmu, niż w okresach końcowych wzrostu; gdy mianowicie na początku żywienia na cele wzrostowe ulega zużyciu $(1 : 1.32) 100 = 76\%$ pokarmu spożytego, to w późniejszych okresach ilość ta osiąga przed zakończeniem wzrostu wartość zaledwie $(1:6.50) 100 = 15\%$, zmniejszając się stopniowo w miarę wzrostu gąsienic.

Większa wydajność wzrostowa pokarmu w stadkach wczesnych pozostaje bez wątplenia w związku ze zdolnością większego wyzyskania pokarmu, a głównie wody, w przewodzie pokarmowym.

2. Wyzyskanie pokarmu w jelicie.

Wyzyskanie pokarmu określamy jako wyrażony w procentach stosunek ilości pokarmu zresorbowanego w jelicie do ilości pokarmu spożytego. Z powodu niemożności oddzielenia moczu od kału u owadów za pokarm zresorbowany uważamy różnicę między ciężarem pokarmu spożytego a ciężarem wydalin: popełniamy przy tem świadomie błąd, który zmniejsza rzeczywistą

ilość pokarmu zresorbowanego o ilość wytworzonego moczu i odpowiednio zmniejsza wartość obliczonego wyzyskania.

Będziemy w dalszym ciągu rozróżniali wyzyskanie ryczałtowe pokarmu, starając się stwierdzić, czy zmienia się ono w miarę rozwoju gąsienic i jaka jest jego wartość przeciętna dla całego okresu wzrostu, i następnie — wyzyskanie poszczególnych składników pokarmu, dążąc do ustalenia ich udziału w przemianie materji gąsienic.

Tabela IV.

Wyzyskanie pokarmu w jelicie w różnych momentach wzrostu gąsienicy.

Gąsienica Nr. A — 1♀. Początek obserwacji dn. 19.VI.1934.

Utilisation intestinale de la nourriture à différents moments de la croissance de la chenille
Nr. A — 1♀. Début de l'alimentation le 19.IV.1934.

Nr. obserwacji Nr. de l'observation	Czas średni od początku odżywiania <i>Temps moyen écoulé depuis le commencement de l'alimentation</i> dni — jours	Czastrwania obserwacji <i>Durée de l'observation</i> dni — jours	Ciężar średni gąsienicy <i>Poids moyen d'une chenille</i> g	Pokarm spożyty <i>Nourriture consommée</i> g	Wydaliny <i>Excréments</i> g	Pokarm zresorbowany <i>Nourriture résorbée</i> g	Wyzyskanie pokarmu w jelicie <i>Utilisation intestinale de la nourriture</i> %
1	0.49	0.98	0.596	0.385	0.115	0.270	70.1
2	2.32	1.02	1.058	0.980	0.306	0.674	68.7
3	3.33	1.07	1.452	1.284	0.519	0.770	60.0
4	5.35	1.17	2.215	1.482	0.758	0.724	48.8
5	6.44	1.02	2.512	1.470	0.776	0.694	47.2
6	7.53	1.13	2.888	1.449	0.824	0.625	43.1
7	9.57	2.97	2.594	1.480	1.124	0.356	24.1

W tabeli IV przytoczono doświadczenie, w którym nie uwzględniono w obliczeniach wyzyskania jelitowej ilości wydaliny stagnujących, pozostających w przewodzie pokarmowym. Nie uczyniono tego zarówno ze względu na trudność teoretyczną zaliczenia treści jelita bądź do wydaliny właściwych, bądź do pokarmu niestrawionego, jak też ze względu na niewielką różnicę w obliczonej wartości wyzyskania, wynikającej z uwzględnienia treści jelita.

Stwierdzamy, że nie tylko wydajność asymilacyjna — jak to ustaliliśmy w poprzednim rozdziale — ale również i ryczałtowe wyzyskanie pokarmu w jelicie ulega zmianom ciągłym i jednokierunkowym w czasie wzrostu gąsienic: większej wydajności

wzrostowej pokarmu na początku żerowania odpowiada większe wyzyskanie w jelicie i odwrotnie — mniejsza jego wydajność asymilacyjna w końcowych fazach wzrostu jest ściśle związana z mniej intensywnym chłonięciem pokarmu w jelicie. W omawianem doświadczeniu wyzyskanie pokarmu zmienia się w granicach od 70% w okresie początkowym wzrostu do 24% — w okresie końcowym.

Jaka jest średnia wartość wyzyskania jelitowego w całym okresie żerowania? Odpowiedź na to pytanie daje tab. I, w której zestawiono obliczenia tej wartości dla pięciu osobników samczych i pięciu samczych (kol. 11). Konstatujemy, że wartość ta u wszystkich badanych gąsienic waha się nieznacznie (48.1 — 56.0%) i wynosi średnio 52.4%, nie wykazując różnic u osobników różnej płci: innymi słowy możemy przyjąć, że z ogólnej ilości pokarmu, spożytego przez gąsienicę jedwabnika w ostatnim okresie wzrostu, nieco więcej niż połowa zostaje w jelicie wessana i zużytkowana na cele przemiany materji. Resztę stanowią substancje niestrawione i niezresorbowane oraz pewna ilość substancyj zmetabolizowanych, zawierających azot.

Tabela V.

Wyzyskanie w jelicie wody, substancji suchej, węgla, energii chemicznej i azotu. Dane, zaczerpnięte z doświadczenia nad 9 gąsienicami w ostatnim okresie wzrostu (serja A i C, gąsienice Nr Nr 1, 3 — 10, por. tab. XIV i XV).

Utilisation intestinale de l'eau, de la substance sèche, du carbone, de l'énergie chimique et de l'azote. Données fournies par les expériences effectuées sur 9 chenilles pendant la dernière période de leur croissance (série A et B, chenilles Nr. Nr. 1, 3 — 10, comp. les tabl. XIV et XV).

Substancje oznaczane <i>Substances dosées</i>	Pokarm spożyty <i>Nourriture consommée</i>	Wydaliny <i>Excréments</i>	Pokarm zresorbowany <i>Nourriture absorbée</i>	Wyzyskanie w jelicie <i>Utilisation intestinale</i>
	g	g	g	%
Ciężar świeży <i>Poids frais</i>	95.812	44.153	51.659	53.9
Woda <i>Eau</i>	63.814	25.393	38.421	60.2
Substancja sucha <i>Substance sèche</i>	31.9985	18.7602	13.2383	41.4
Węgiel <i>Carbone</i>	13.7737	7.8674	5.9063	42.9
Energja chemiczna <i>Énergie chimique</i> (kcal)	133.713	76.394	57.319	42.9
Azot <i>Azote</i>	1.0544	0.4835	(0.5709)	(54.2)

Co się tyczy stopnia wyzyskania w jelicie poszczególnych składników pokarmu, to odnośne wyniki znajdujemy w tab. V, która zawiera dane, dotyczące wody, substancji suchej, węgla, ciepła spalania i azotu. Dane te zostały otrzymane z sumarycznych przeliczeń wyników wszystkich doświadczeń, przeprowadzonych na dziewięciu gąsienicach.

Z tabeli tej wynika, że woda zawarta w pokarmie jest resorbowana w stopniu znacznie większym (60.2%) niż substancje stałe (41.4%), których znaczna część nie ulega strawieniu w przewodzie pokarmowym. Natomiast węgiel związków organicznych pokarmu i ich wartość energetyczna są wyzyskiwane w stopniu mniej więcej tym samym (42.9%), co substancja sucha (41.4%) z pewną jednak przewagą chłonięcia związków bogatszych w węgiel i bardziej wartościowych pod względem energetycznym.

Wreszcie, co się tyczy związków azotowych, to wartość rzeczywista współczynnika ich wyzyskania jelitowego jest bez wątpienia większa od obliczonego przez nas (54.2%), który z kolei znacznie przewyższa stopień wyzyskania części stałych pokarmu (41.4%). Rzeczywista wartość tego współczynnika będzie większa o nieznaną nam ilość związków azotowych pokarmu, które ulegają strawieniu i wessaniu i jako produkty przemiany materji dostają się z powrotem przez naczynia Malpighiego do jelita i wraz z kałem są usuwane z organizmu.

W każdym bądź razie można mieć pewność, że związki azotowe ulegają wyzyskaniu w przewodzie pokarmowym w stopniu znacznie większym, niż pozostałe niezawierające azotu związki organiczne.

3. Pokarm zresorbowany.

Substancje, ulegające w przewodzie pokarmowym strawieniu i wessaniu, stanowią materjał, będący punktem wyjścia procesów biologicznego rozkładu i syntezy. Dlatego też rozpatrzenie wyników, odnoszących się do bilansu odżywiania gąsienic, poprzedzamy krótką charakterystyką tych substancyj.

Skład chemiczny substancyj resorbowanych i ich wartość energetyczną ustalamy na podstawie ilości pokarmu spożytego

i wydaliny oraz ich składu chemicznego i ciepła spalania. Wyniki tego rodzaju obliczeń, przeprowadzonych na podstawie danych serji doświadczalnej A (por. tab. XII—XIV) i przedstawiających skład procentowy części stałych spożytego pokarmu i zresorbowanych jego składników, zawiera tabela VI.

Tabela VI.

Porównanie pokarmu spożytego i zresorbowanego pod względem składu chemicznego i ciepła spalania. Serja A, gąsienice Nr. Nr. 1, 3—5; por. tab. XIV.

Comparaison de la nourriture consommée et absorbée au point de vue de la composition chimique et de la chaleur de combustion. Serie A, chenilles Nr. Nr. 1, 3 — 5, comp. le tabl. XIV

Składniki oznaczone <i>Composants dosés</i>	Spożyte liście morwy <i>Feuilles de mûrier consommées</i>		Pokarm zresorbowany <i>Nourriture absorbée</i>	
	ciężar świeży <i>poids frais</i> g	w % substancji suchej <i>en % de substance sèche</i> %	ciężar świeży <i>poids frais</i> g	w % substancji suchej <i>en % de substance sèche</i> %
Ciężar świeży <i>Poids frais</i>	41.472	—	21.642	—
Substancja sucha <i>Substance sèche</i>	12.9874 (= 31.32% masy świeżej)	100.00	4.4673 (= 20.6% masy świeżej)	100.00
Błonnik (glukoza) <i>Cellulose (glucose)</i>	1.1134	8.57	0.0862	1.93
Pozostałe węglowodany (glukoza) <i>Autres glucides (glucose)</i>	1.9190	14.77	0.9989	22.37
Kwasy tłuszczowe <i>Acides gras</i>	0.3396	2.62	0.1863	4.17
Subst. niezmydlające się <i>Substances non-saponifiables</i>	0.1544	1.19	0.0309	0.69
Białko (N x 6.25) <i>Protides</i>	2.8069	21.61	?	?
Reszta nieoznaczona <i>Restant indéterminé</i>	6.6541	51.24	—	—
Węgiel <i>Carboné</i>	5.7213	44.06	2.2927	51.33
Energia chemiczna <i>Energie chimique</i>	55.480 kcal	4.272 kcal/1g	22.186 kcal	5.191 kcal/1g

Z tabeli tej wynika przede wszystkim ciekawy fakt, że ciecz, ulegająca resorpcji w jelicie gąsienicy, stanowi stężony roztwór części stałych (20,6%), wśród których obok elektrolitów mineralnych przeważają produkty hydrolizy trawiennej w postaci cukrów prostych (glukoza) i aminokwasów. Nasuwa się tutaj ciekawe zagadnienie chłonięcia tego zgęszczonego roztworu krystaloidów w jelicie, roli soków trawiennych w rozcieńczeniu tego roztworu

oraz mechanizmu regulowania ciśnienia osmotycznego w hemolimfie gąsienicy żerującej.

Z porównania składu chemicznego części stałych roztworu resorbowanego ze składem substancji suchej spożytych liści morwy, wypływa następnie, że ulegająca resorbcji mieszanina produktów trawiennych jest bogatsza we frakcję węglowodanów (22.37 w porównaniu z 14.77%), hydrolizujących się na gorąco w 2% HCl (por. „pozostałe” węglowodany), w kwasy tłuszczowe (4.17 i 2.62%) i węgiel (51.33 i 44.06%). W związku z powyższym pozostaje większa — w porównaniu z pokarmem — wartość energetyczna części stałych resorbowanego roztworu (5.191 i 4.272 kcal).

Oprócz wymienionych w tabeli substancji organicznych, stanowiących w sumie zaledwie 29.2% substancji suchej pokarmu resorbowanego, oraz — nie dających się oznaczyć związków azotowych, organizm gąsienicy otrzymuje tą drogą duże ilości innych nieznanych substancji pokarmowych.

4. Procesy dysymilacji.

Brak wyczerpujących danych o składzie chemicznym pokarmu, resorbowanego w jelicie, pozwoli nam tylko w najogólniejszych zarysach scharakteryzować procesy rozkładu i syntezy, odbywające się w organizmie rosnącej gąsienicy.

Ilość składników pokarmu, ulegających dysymilacji, ustalamy z różnicy między ich ilością, zawartą w cieczy resorbowanej, a ilością, zatrzymaną i przyswojoną przez organizm zwierzęcia. Tę ostatnią obliczamy skolei jako różnicę między zawartością tych składników w gąsienicy w końcu i na początku okresu obserwacyjnego (tab. VII).

Z pośród badanych składników pokarmu największy udział w metabolizmie zwierzęcia bierze woda, zawarta w ilości około 80% w cieczy resorbowanej. Z ogólnej ilości wody, pobranej w całym okresie obserwacyjnym, t. j. od początku żerowania do momentu rozpoczęcia snucia jedwabiu, gąsienice tracą drogą perspiracji przeciętnie 62.2% (63.6 i 60.9%), zatrzymując resztę jako wodę konstytucyjną organizmu. W tej ilości wody znajduje się również woda, którą gąsienice eliminują po ukoń-

TABELA VII.

Stosunek ilościowy substancyj rozłożonych i przyswojonych
do substancyj zresorbowanych.

Rapport quantitatif des substances dégradées et assimilées aux substances absorbées.

Substancje oznaczane <i>Substances dosées</i>	Substancje zresorbowane <i>Substances absorbées</i>	Substancje rozłożone <i>Substances décomposées</i>		Substancje przyswojone <i>Substances assimilées</i>	
		w ilościach bezwzględnych <i>quantités absolues</i>	w % ilości zresorbowanej <i>en % de la quantité des substances absorbées</i>	w ilościach bezwzględnych <i>quantités absolues</i>	w % ilości zresorbowanej <i>en % de la quantité des substances absorbées</i>
Serja A: 4 gąsienice samicze — Série A: 4 chenilles femelles					
Woda <i>Eau</i>	17.175	10.928	63.6	6.247	36.4
Substancja sucha <i>Substance sèche</i>	4.4673	2.3551	52.7	2.1122	47.3
Węgiel <i>Carbone</i>	2.2927	1.2093	51.7	1.0834	48.3
Azot <i>Azote</i>	0.2480	0.0066	2.7	0.2414	97.3
Energia chemiczna <i>Énergie chimique</i>	22.186 kcal	10.501 kcal	49.7	11.685 kcal	50.3
Serja C: 5 gąsienic samczych — Série C: 5 chenilles mâles					
Woda <i>Eau</i>	21.243	12.929	60.9	8.314	39.1
Substancja sucha <i>Substance sèche</i>	8.7844	6.0814	69.2	2.7030	30.8
Węgiel <i>Carbone</i>	3.6136	2.1884	60.6	1.4252	39.4
Azot <i>Azote</i>	0.3229	0.0252	7.8	0.2977	92.2
Energia chemiczna <i>Énergie chimique</i>	35.133 kcal	19.899 kcal	56.6	15.234 kcal	43.4

czeniu wzrostu w postaci bądź pary wodnej, bądź też cieczy, którą wyrzucają z przewodu pokarmowego przed rozpoczęciem snucia. Całkowitą ilość tą drogą utraconej wody charakteryzuje do pewnego stopnia strata ciężaru ciała, jaką gąsienice ujawniają od momentu ukończenia wzrostu do końca okresu doświadczalnego (tab. VIII). Strata ta, wahająca się u poszczególnych osobników w dosyć obszernych granicach, wynosi przeciętnie 18.7%. Wprowadzając poprawkę na stratę wody po zakończeniu wzrostu, otrzymamy dla wody wyeliminowanej w okresie właściwego wzrostu, liczbą 53.4%, odpowiadającą prawie połowie wody, pobranej z pokarmu. Wskazuje to na intensywny udział wody perspiracyjnej w ogólnej wymianie materji gąsienic.

Przechodząc do składników stałych, widzimy (tab. VII), że substancja sucha pokarmu zresorbowanego i zawarty w niej węgiel ulegają zużyciu i znikają z produktów przemiany materji w stopniu zbliżonym do siebie (52.7 i 51.7 u ♀ i 69.2 i 60.6% u ♂), wynoszącym przeciętnie więcej, niż połowę materiału wyjściowego.

Tabela VIII.

Strata ciężaru ciała gąsienic w okresie powzrostowym.

Perte de poids du corps des chenilles pendant la période consécutive à la croissance.

Nr. gąsienicy Nr. de la chenille	Ciężar gąsienicy w okresie IV wylinki <i>Poids de la chenille pendant la IV mue</i>	Ciężar ciała największy <i>Poids maximum</i>		Ciężar ciała w chwili rozpoczęcia snucia <i>Poids au début du filage</i>	
		w gramach <i>en grammes</i>	w % ciężaru początkowego <i>en % du poids initial</i>	w gramach <i>en grammes</i>	w % ciężaru największego <i>en % du poids maximum</i>
			g		%
1	0.517	3.110	602	2.080	66.8
3	0.619	2.945	476	2.595	88.1
4	0.546	3.753	687	2.585	67.8
5	0.774	4.190	541	3.553	84.8
6	0.718	3.382	471	3.190	94.3
7	0.526	3.350	637	2.997	89.5
8	0.552	3.025	548	2.734	90.4
9	0.518	3.180	614	2.362	74.8
10	0.634	3.570	563	2.682	75.1
Przeciętnie: <i>Moyenne:</i>			571		81.3

Również bilans ujemny, lecz w rozmiarze znacznie mniejszym, stwierdzamy dla azotu: straty tego pierwiastka wynoszą w doświadczeniach nad gąsienicami serji A zaledwie 2.7, w serji B więcej, mianowicie — 7.8% całkowitej ilości zresorbowanych związków azotowych. Wobec jednak nieznacznej wielkości tych strat (zwłaszcza w serji A), opierając się ponadto na wynikach badań, innych autorów (Peligot '67, Kelner '84, Krogh '06, Pilewiczówna '26) nad przemianą azotową u owadów i nad udziałem w niej azotu cząsteczkowego, możemy stwierdzone przez nas straty uważać za leżące w granicach dokładności techniki doświadczeń i przyjąć wraz z wymienionymi autorami, że gąsienice jedwabników nie tracą azotu ani pod postacią gazową, ani też pod postacią lotnych związków azotowych. Z tego względu uważamy serję C naszych doświadczeń, wykazującą

7.8% straty azotu, za mniej dokładną i przypisujemy wynikiem w niej otrzymanym mniejszą wagę.

Przechodząc następnie do sprawy przemiany cieplnej u gąsienic, stwierdzamy — na podstawie danych omawianej tabeli — dosyć prawidłową zależność między stratą węgla a zużyciem energii chemicznej (tab. VII): gdy mianowicie w serji A na 51.7% straconego węgla przypada zużycie energii, równe 49.7% ciepła spalania pokarmu zresorbowanego, to w serji C odpowiednie wartości mają się do siebie, jak 60.6 do 56.6%.

Tabela IX.

Współczynnik kaloryczny dwutlenku węgla w czasie rozwoju gąsienic od czwartej wylinki do początku snucia.

Quotient calorique du CO₂ pendant le développement des chenilles de la quatrième mue jusqu'au début du filage.

Serja <i>Série</i>	Liczba gąsienic w serji <i>Nombre de chenilles dans la série</i>	Straty węgla <i>Pertes de carbone</i> g	Deficyt energii chemicznej w bilansie odżywiania <i>Déficit de l'énergie chimique dans le bilan de l'alimentation</i> kcal	Produkcja ciepła przypadająca <i>Production de la chaleur correspondant</i>		
				na gram węgla utlenionego <i>à 1 gr. de carbone oxydé</i> kcal	na gram CO ₂ <i>à 1 gr. de CO₂</i> kcal	na litr CO ₂ <i>à 1 litre de CO₂</i> kcal
A	4	1.2093	10.501	8.685	2.262	4.663
C	5	2.1884	19.899	9.095	2.480	4.882
			Przeciętnie: <i>Moyenne:</i>	8.890	2.371	4.772

Zależność ta pozwala wyznaczyć ważną fizjologicznie wartość współczynnika kalorycznego węgla, znikającego w procesach perspiracyjnych lub — zjawiającego się w procesach wymiany gazowej dwutlenku węgla. W obliczeniach tych ustalamy, na podstawie bezwzględnych strat węgla i energii chemicznej, ilość ciepła produkowanego przez zwierzęta, która przypada na gram węgla, wzgl. na gram lub na litr powstającego w procesach oddechowych dwutlenku węgla.

Obliczenie to daje przeciętną dla obu seryj wartość współczynnika kalorycznego (tab. IX), równą 8.89 kcal w obliczeniu na gram węgla zmetabolizowanego, wzgl. 2.37 i 4.77 kcal w odniesieniu do grama lub litra dwutlenku węgla.

Ponieważ w doświadczeniach naszych ustaliliśmy oddzielnie dla każdego osobnika bilans substancji suchej, możemy za-

tem dla każdej gąsienicy obliczyć — na podstawie strat węgla i jego współczynnika kalorycznego — produkcję ciepłą w okresie badanym.

Obliczenia te, przeprowadzone dla gąsienic obu seryj, przedstawiono w tab. X, z której wynika, że u gąsienic serji A średnia produkcja ciepła wynosi 2.698 kcal, u gąsienic zaś z serji C — więcej, mianowicie 3.189 kcal, wahając się u osobników

Tabela X.

Produkcja ciepła gąsienic w okresie od IV wylinki do początku snucia.

Production de la chaleur par les chenilles pendant la période allant de la IV mue jusqu'au début du filage.

Nr. gąsienicy Nr. de la chenille	Ciężar gąsienicy w czasie IV wylinki <i>Poids de la chenille pendant la IV mue</i>	Przyrost maksymalny ciężaru gąsienicy <i>Accroissement maximum du poids de la chenille</i>	Czas trwania wzrostu <i>Durée de la croissance</i>	Deficyt węgla <i>Déficit du carbone</i>	Produkcja ciepła <i>Production de la chaleur</i>	
					w okresie badanym <i>pendant la période examinée</i>	na gram przyrostu netto ciężaru ciała <i>pour 1 gr. d'accroissement brut du poids du corps</i>
	g	g	dni-jours	g	kcal	kcal
Serja A: 4 gąsienice ♀ — <i>Série A: 4 chenilles ♀</i>						
1	0.517	2.593	8.24	0.2975	2.645	1.015
3	0.619	2.326	7.29	0.3086	2.741	1.180
4	0.545	3.208	8.04	0.2466	2.233	0.696
5	0.774	3.416	9.12	0.3566	3.170	0.928
Przeciętnie — <i>Moyenne:</i>					2.698	0.955
Serja C: 5 gąsienice ♂ — <i>Série C: 5 chenilles ♂</i>						
6	0.718	2.644	10.12	0.3399	3.022	1.134
7	0.523	2.824	9.12	0.4012	3.566	1.263
8	0.552	2.473	9.08	0.3617	3.215	1.300
9	0.518	2.662	9.12	0.3386	3.010	1.130
10	0.634	2.936	9.12	0.3573	3.176	1.081
Przeciętnie — <i>Moyenne:</i>					3.189	1.182

każdej serji w granicach dosyć wąskich. Różnica ta, która świadczyłaby o mniejszym zapotrzebowaniu energii u gąsienic samicych, zachowuje się nawet wtedy, jeżeli ciepło wyprodukowane odniesiemy do jednostki przyrostu brutto ciężaru ciała: w tym przypadku otrzymamy dla samic wartość 0.955 kcal, dla samców zaś — 1.182 kcal. Biorąc zaś pod uwagę wszystkie gąsienice, będziemy mieli średnią produkcję ciepłą, wynoszącą 1.09 kcal na jeden gram przyrostu brutto.

Należy pamiętać, że chcąc ustalić rzeczywistą produkcję ciepła, odpowiadającą przyrostowi jednostki masy żywej, należałoby do tej liczby wprowadzić poprawkę, uwzględniającą zarówno ciężar wydaliny w momencie osiągnięcia maksymalnego ciężaru ciała, jak i ciepło, produkowane przez gąsienice w okresie powzrostowym.

5. Procesy asymilacyjne.

Wydajność energetyczną wzrostu wyrażamy jako stosunek procentowy energii chemicznej przyswojonych składników ciała do wartości energetycznej zresorbowanego pokarmu, lub też — w razie nieznamości tej ostatniej wielkości — do sumy energii chemicznej związków przyswojonych i produkcji ciepłej, ujawnionej przez organizm w czasie przyswajania tych związków. Z naszych poszukiwań znamy wartości następujące: 1) ciepło spalania pokarmu zresorbowanego, obliczone z różnicą między wartością energetyczną pokarmu i wydaliny; 2) produkcję ciepłą gąsienic, ustaloną na podstawie znajomości strat węgla i wartości bio-kalorycznej tego pierwiastka, i 3) wartość kaloryczną przyrostu masy żywej, którą obliczamy jako różnicę między ciepłem spalania zwierzęcia na początku i w końcu wzrostu.

Obliczenia, wykonane w powyższy sposób, doprowadzają do stwierdzenia, że w r o s t g ą s i e n i c o d b y w a s i ę p o d w z g l ę d e m e n e r g e t y c z n y m w s p o s ó b b a r d z o e k o n o m i c z n y. Obliczając wydajność z ciepła spalania substancji przyswojonych i zresorbowanych, otrzymujemy (tab. VII) dla samic wartość 50,3, dla samców—43,4%. Biorąc zaś pod uwagę ciepło spalania substancji, przyswojonych przez gąsienicę, oraz przeciętną produkcję ciepłą jednego osobnika, dochodzimy do odpowiednich wartości wydajności energetycznej dla samic i dla samców, równych $[2.921:(2.931+2.698)] 100=52.0\%$ i $[3.046:(3.046+3.189)] 100=48.9\%$.

Stwierdzamy więc, że z o g ó l n e j i l o ś c i k a l o r y j, d o s t a r c z o n y c h w p o s t a c i s t r a w i o n e g o i z r e s o r b o w a n e g o p o k a r m u, o k o ł o p o ł o w y u l e g a a s y m i l a c j i i z o s t a j e z a t r z y m a n a w o r g a n i z m i e. W rzeczywistości wydajność energetyczna

będzie większa, jeśli produkcję ciepłą, ustaloną dla całego okresu badanego, zmniejszymy o ciepło, wytworzone w odcinku powzrostowym naszych doświadczeń. Do sprawy tej powrócimy w jednej z następnych części naszych poszukiwań, która będzie dotyczyła procesów oddechowych u gąsienic rosnących. W każdym bądź razie należy podkreślić, że organizm rosnący gąsienic pracuje ze stosunkowo małym wydatkiem pobranej w pokarmie energii.

Byłoby zadaniem bez wątpienia ważnym zbadanie przebiegu zmian wydajności energetycznej asymilacji w całym badanym okresie wzrostu oraz wyjaśnienia stosunku tych zmian do zapotrzebowania pokarmu i jego wyzyskania w przewodzie pokarmowym gąsienicy.

Przechodząc obecnie do procesów chemicznych, związanych z przyswajaniem pokarmu, musimy narazie — ze względu na omawianą w poprzednich rozdziałach trudność ustalenia całkowitego bilansu azotowego — ograniczyć się do związków bazazotowych.

T a b e l a X I.

Porównanie ilości niektórych składników organicznych, zawartych w pokarmie zresorbowanym, z ilością tych składników, przyswojonych przez gąsienicę — na podstawie serii doświadczałnej A, przeprowadzonej na 4-ch gąsienicach ♀.

Comparaison de la quantité de certains constituants contenus dans la nourriture absorbée avec la quantité de ces constituants assimilés par les chenilles — résultats de la série A des expériences, effectuées sur 4 chenilles.

Substancje oznaczane <i>Substances dosées</i>	Substancje zresorbowane <i>Substances absorbées</i> g	Substancje przyswojone <i>Substances assimilées</i> g
Substancja sucha <i>Substance sèche</i>	4.4673	2.1122
Glikogen <i>Glycogène</i>	—	0.0850
Błonnik (glukoza) <i>Cellulose (glucose)</i>	0.0862	—
Pozostałe węglowodany (glukoza) <i>Autres glucides (glucose)</i>	0.9989	?
Kwasy tłuszczowe <i>Acides gras</i>	0.1863	0.3421
Substancje niezmydlające się <i>Substances non-saponifiables</i>	0.0309	0.0084
Białka <i>Protides</i>	?	1.5089

Z tabeli XI, w której zestawiono obliczenie zawartości węglowodanów, tłuszczów i białek w pokarmie zresorbowanym

i w wytworzonej w czasie wzrostu masie żywej gąsienic, wynika przede wszystkim, że część kwasów tłuszczowych (około połowy), gromadząca się w czasie ostatniego okresu wzrostu w ciele gąsienic, powstaje na nowo, drogą przeróbki innych związków organicznych pokarmu. Fakt ten całkowicie potwierdza obserwację Kellnera ('84), który w ostatnim okresie wzrostu jedwabnika stwierdził syntezę kwasów tłuszczowych.

Jako drugi fakt, wypływający z danych tabeli XI, stwierdzamy, że udział węglowodanów zarówno w przemianie dysymilacyjnej, jak i asymilacyjnej rosnących gąsienic jest stosunkowo niewielki. W rozpatrywanym doświadczeniu gąsienice pobrały w cieczy resorbcyjnej zaledwie 1.0851 g węglowodanów (w przeliczeniu na glukozę), jeśli w tę sumę wliczymy nawet błonnik (0.0862 g), którego strawialność w przewodzie pokarmowym jedwabnika nasuwa poważne wątpliwości (Kellner '84). Z tej ilości na cele asymilacyjne zostaje zużyte przede wszystkim 0.085 g, t. j. 7.8%, na wytworzenie gromadzącego się w ciele gąsienic glikogenu i prócz tego — jeśli staniemy na stanowisku powstawania kwasów tłuszczowych z węglowodanów — przynajmniej 0.2701 g (24.9%) na przekształcenie glukozy w tworzące się na nowo kwasy tłuszczowe (0.1558 g), nie biorąc nawet zupełnie pod uwagę tej frakcji węglowodanów, która zostaje zużyta w procesie syntezy chityny.

Na cele procesów utleniania pozostaje zatem najwyżej 67.3% glukozy, pobranej z pokarmu, czyli — 0.730 g. Ulegając całkowitej oksydacji, ta ilość glukozy mogłaby dostarczyć zaledwie 2.883 kcal. Ponieważ gąsienice nasze, jak to wynika z różnicy ciepła spalania, wyzwoliły w czasie wzrostu 10.501 kcal (por. tab. VII, serja A), udział węglowodanów w przemianie energii wynosiłby zaledwie 27.5%.

Fakty te jeszcze raz wskazują na dużą rolę związków azotowych, a przede wszystkim — białek pokarmowych, w procesach przemiany wzrostowej gąsienic. Rola ta u jedwabników jest o tyle większa, że ostatni okres wzrostu tych zwierząt jest ściśle związany z przeróbką aminokwasów, z których składa się fibroi-

na i sercy na jedwabiu. Nie należy zapominać, że u gąsienicy gotowej do snucia azot tych związków stanowi 52.6% (♀) — 63.8% (♂) całkowitego azotu zwierzęcie (Farkas '03).

Streszczenie wyników.

1^o. Spożycie liści morwy w ostatnim okresie wzrostu gąsienic jedwabnika jest — w odniesieniu do jednostki przyrostu masy żywej — wartością stałą, niezależną od płci zwierzęcia i czasu trwania wzrostu. Wynosi ono przeciętnie 4.14 g świeżego pokarmu na gram przyrostu netto ciężaru ciała. W czasie trwania rozwoju wydajność asymilacyjna pokarmu jest największa na początku okresu wzrostowego, zmniejszając się następnie prawidłowo do wartości zerowej przed końcem żerowania.

2^o. Z pokarmu pobranego w całym piątym okresie wzrostu ulega resorbcji w przewodzie pokarmowym około 52%. To rycałtowe wyzyskanie jelitowe pokarmu wykazuje największą wartość w pierwszych chwilach po wylince gąsienic, zmniejszając się następnie stopniowo w miarę postępującego wzrostu.

3^o. Woda, zawarta w liściach morwy, jest chłoniąca w stopniu większym (60.2%), niż części stałe pokarmu (41.4%), których znaczna część nie ulega strawieniu w przewodzie pokarmowym gąsienicy.

4^o. Ciecz, resorbowana w jelicie gąsienicy, stanowi stężony (ok. 21%) roztwór produktów hydrolizy trawiennej, które w porównaniu z substancją suchą liści są bogatsze w węglowodany, rozpuszczalne w wodzie, w węgiel i energję chemiczną.

5^o. Z roztworu tego ulega zużyciu w procesach katabolicznych lub w perspiracji około połowy wody (63.6%), części stałych (52.7%) i zawartego w nich węgla (51.7%) i energii chemicznej (49.7%).

6^o. Ze strat węgla, utlenionego aż do dwutlenku węgla, i energii chemicznej pokarmu, przekształconej na ciepło, oceniamy wartość współczynnika kalorycznego dwutlenku węgla na 4.77 kcal w odniesieniu do litra tego gazu. Produkcja cieplna gąsienic, obliczona dla poszczególnych osobników na podstawie tego współczynnika i strat węgla, wynosi około 3 kcal za cały okres badany.

7°. Wydajność energetyczna procesów asymilacyjnych w czasie wzrostu, wyrażona jako stosunek energii chemicznej substancyj przyswojonych do ciepła spalania substancyj zresorbowanych, jest bardzo znaczna, wynosi bowiem około 0.5 (0.497 u ♀ i 0.485 u ♂).

8°. Z ogólnej ilości kwasów tłuszczowych, asymilowanych przez gąsienice rosnące, tylko część bezpośrednio może pochodzić z liści morwy, reszta natomiast, wynosząca przynajmniej połowę ilości przyswojonej, powstaje na nowo drogą przeróbki innych substancyj pokarmowych.

9°. Ogólna ilość węglowodanów, którą gąsienice czerpią z pokarmu w czasie wzrostu, wystarczałyby jako materiał do syntezy kwasów tłuszczowych, glikogenu i chityny, byłaby jednak niewystarczająca do jednoczesnego zaspokojenia potrzeb energetycznych rosnącego organizmu.

10°. Fakty te pozwalają wyrazić przypuszczenie, że bardzo ważnym materiałem zarówno pędym, jak i budulcowym procesów przemiany wzrostowej jedwabników, są azotowe związki organiczne pokarmu, które częściowo utleniają się, częściowo zaś ulegają głębokim przemianom strukturalnym w związku z wytwarzaniem jedwabiu.

Tabela XII.

Substancje w stanie świeżym, zebrane w doświadczeniach nad odżywianiem pojedynczych gąsienic ♀. Serja A. Temperatura, w której były prowadzone doświadczenia: 21 – 23°.

Substances fraîches recueillies pendant les expériences sur l'alimentation des chenilles (♀) individuelles. Température à laquelle les expériences ont été effectuées: 21 – 23°.

Substancje zebrane <i>Substances recueillies</i>	Czas trwania doświadczeń (dni) <i>Durée des expériences (en jours)</i>				W sumie <i>En somme</i> g
	11.10	10.21	9.20	10.2	
	Gąsienice — ♀ — <i>Chenilles</i>				
	Nr. 1 g	Nr. 3 g	Nr. 4 g	Nr. 5 g	
Liście podane <i>Feuilles offertes</i>	16.323	15.381	17.656	18.382	67.742
Liście pozostałe <i>Feuilles laissées</i>	5.914	6.826	6.159	7.371	26.270
Wydaliny gąsienic <i>Excréments des chenilles</i>	5.130	3.763	5.966	4.971	19.830
Gąsienice przed snuciem <i>Chenilles avant le filage</i>	2.080	2.595	2.585	3.553	10.814
Gąsienice w IV wylince <i>Chenilles pendant la IV mue</i>	0.517	0.619	0.545	0.774	2.455

Tabela XIII.

Ciepło spalania i zawartość procentowa składników w substancjach świeżych, zebranych w doświadczeniach nad odżywianiem gąsienic, Serja A. Por. tab. XII.

Chaleur de combustion et le pourcentage des constituants dans les substances fraîches recueillies dans les expériences sur l'alimentation des chenilles. Série A. Comp. le tabl. XII.

Substancje analizowane <i>Substances analysées</i>	Substancja sucha <i>Substance sèche</i>	Popiół <i>Cendres</i>	Azot <i>Azote</i>	Węgiel <i>Carbone</i>	Węglowodany jako glukoza <i>Glucides en le glucose</i>				Tłuszcze <i>Grasses</i>		Energja chemiczna <i>Energie chimique</i>		
					Glikogen <i>Glycogène</i>	Błonnik <i>Cellulose</i>	Pozostałe węglowodany <i>Autres glucides</i>	Kwasy tłuszczowe <i>Acides gras</i>	Substancje niezmydlające się <i>Substances non-saponifiables</i>	%		%	kcal
Liście podane <i>Feuilles offertes</i>	32.01	2.63	1.19	14.03	—	2.73	4.64	0.819	0.368	136.7			
Liście pozostale <i>Feuilles laissées</i>	33.10	2.72	1.35	14.40	—	2.80	4.66	0.820	0.360	141.3			
Wydaliny gąsienic <i>Excréments des chenilles</i>	42.96	4.79	1.01	17.29	—	5.18	4.64	0.773	0.620	167.9			
Gąsienice przed snuciem <i>Chenilles avant le filage</i>	20.25	0.64	2.33	10.24	0.808*	—	—	3.290	0.111	110.3			
Gąsienice w IV wylince <i>Chenilles pendant la IV mue</i>	14.26	1.24	1.73	6.56	0.099*	—	—	0.568	0.151	70.2			

* Oznaczenia wykonano w substancji świeżej na innych gąsienicach.
Les dosages ont été effectués sur la substance fraîche des autres chenilles.

Tabela XIV.

Obliczenie bilansu odżywiania na podstawie ilości substancji, zebranych w doświadczeniach nad gąsienicami (tab. XII) oraz — procentowej zawartości składników i ciepła spalania (tab. XIII), Serja A — 4 gąsienice ♀.

Calcul du bilan de l'alimentation effectué sur la base de la quantité des substances recueillies pendant les expériences sur les chenilles (tab. XII) et le calcul du pourcentage des composants, ainsi que de la chaleur de combustion, Série A — 4 chenilles ♀.

Nr.	Substancje <i>Substances</i>	Woda <i>Eau</i>	Substancja sucha <i>Substance sèche</i>	Popiół <i>Cendres</i>	Azot <i>Azote</i>	Węgiel <i>Carbone</i>	Węglowodany (jako glukoza) <i>Glucides (en glucose)</i>				Tłuszcze <i>Graisses</i>		Energija chemiczna <i>kcal</i>
							Glikogen <i>Glycogène</i>	Błonnik <i>Cellulose</i>	Pozostałe węglowodany <i>Autres glucides</i>	Kwasy tłuszczowe <i>Acides gras</i>	Substancje nieemydlające się <i>Substances non-saponifiables</i>		
I	Liście podane <i>Feuilles offertes</i>	46.058	21.6842	1.782	0.8048	9.5041	—	1.8490	3.1430	0.5550	0.2490	92.599	
II	Liście pozostałe <i>Feuilles laissées</i>	17.573	8.6968	0.714	0.3557	3.7828	—	0.7356	1.2240	0.2154	0.0946	37.119	
III	Wydaliny gąsienic <i>Excréments des chenilles</i>	11.310	8.5201	0.950	0.2011	3.4286	—	1.0272	0.9201	0.1533	0.1235	33.294	
IV	Gąsienice przed snuciem <i>Chenilles avant le filage</i>	8.352	2.4621	0.069	0.2839	1.2445	0.0874	—	—	0.3557	0.0120	13.407	
V	Gąsienice w IV wylince <i>Chenilles pendant la IV mue</i>	2.105	0.3499	0.031	0.0425	0.1611	0.0024	—	—	0.0136	0.0036	1.722	
VI	Pokarm spożyty <i>Nourriture consommée (I—II)</i>	28.485	12.9874	1.068	0.4491	5.7213	—	1.1134	1.9190	0.3396	0.1544	55.480	
VII	Pokarm zresorbowany <i>Nourriture absorbée (VI—III)</i>	17.175	4.4673	0.118	0.2480	2.2927	—	0.0862	0.9989	0.1863	0.0309	22.186	
VIII	Subst. przyswojone <i>Substances assimilées (IV—V)</i>	6.247	2.1122	0.038	0.2414	1.0834	0.0850	—	—	0.3421	0.0084	11.685	
IX	Subst. rozłożone <i>Substances dégradées (VII—VIII)</i>	10.928	2.3551	0.080	0.0066	1.2093	—	—	—	—	0.0225	10.501	

Tabela XV.

Obliczenie bilansu odżywiania gąsienic z serji doświadczeń C (5 gąsienic samczych).
Calcul du bilan de l'alimentation Série C des expériences (5 chenilles mâles).

№	Substancje <i>Substances</i>	Ciężar świeży <i>Poids frais</i>	Woda <i>Eau</i>	Substancja sucha <i>Substance sèche</i>	Azot <i>Azote</i>	Węgiel <i>Carbone</i>	Energia chemiczna <i>Énergie chimique</i>
		F	g	g	g	g	kcal
I	Liście podane <i>Feuilles offertes</i>	90.865	61.247	29.6176	1.1085	13.4200	130.740
II	Liście pozostate <i>Feuilles laissées</i>	36.514	25.921	10.5931	0.5032	5.3676	52.507
III	Wydaliny gąsienic <i>Excréments des chenilles</i>	24.323	14.083	10.2401	0.2824	4.4388	43.100
IV	Gąsienice przed snuciem <i>Chenilles avant le filage</i>	13.965	10.842	3.1234	0.3487	1.6186	17.303
V	Gąsienice w IV wylince <i>Chenilles pendant la IV mue</i>	2.948	2.528	0.4204	0.0510	0.1924	2.069
VI	Pokarm spożyty <i>Nourriture consommée</i>	54.351	35.326	19.0245	0.6053	8.0524	78.233
VII	Pokarm zresorbowany VI—III <i>Nourriture absorbée</i>	30.028	21.243	8.7844	0.3229	3.6136	35.133
VIII	Substancje przyswojone <i>Substances assimilées</i>	11.017	8.314	2.7030	0.2977	1.4252	15.234
IX	Substancje rozłożone <i>Substances dégradées</i>	19.011	12.929	6.0814	0.0252	2.1884	19.899

P i ś m i e n n i c t w o .

Bal zam N. 1933. Badania nad przemianą materji i energii w rozwoju owadów. II. Stosunek produkcji cieplnej do procesów oddechowych w czasie rozwoju pozarodkowego owadów (*Lymantria dispar*. L. i *Bombyx mori* L.). Acta Biol. Exper. 8 (59). — Bal zam N. 1933. Recherches sur le métabolisme chimique et énergétique au cours du développement des Insectes. II. Relation entre la chaleur dégagée et les échanges respiratoires au cours développement postembryonnaire des Insectes. Arch. intern. de Physiol. 37 (317). — Białaszewicz K. 1933. Badania nad przemianą materji i energii w rozwoju owadów. I. Produkcja ciepła w okresie wzrostu larwalnego i metamorfozy *Lymantria dispar*. L. „Kosmos”. 58 (21). — Białaszewicz K. 1933. Recherches sur le métabolisme chimique et énergétique au cours du développement des Insectes. I. Thermogenèse pendant la période de croissance larvaire et pendant la métamorphose de *Lymantria dispar*. Arch. intern. de Physiol. 37 (1). — Farkas K. 1903. Beiträge zur Energetik der Ontogenese. III. Über den Energieumsatz des Seidenspinners während der Entwicklung im Ei und während der Metamorphose. Arch. f. d. ges. Physiol. 98 (490). — Jucci C. 1922. Sulla curva di sviluppo del baco di seta. Istituto Bacol. della Scuola Super. d'Agricol. in Portici (59—136). — Kellner O. 1884. Chemische Untersuchungen über die Entwicklung und Ernährung des Seidenspinners (*Bombyx mori*). Landw. Versuchst. 30 (59). — Kiesel A. R. 1934. Praktyczeskoje rukowodstwo po biochimii rastienij. Moskwa — Leningrad. — Krogh A. 1906. Experimentelle Untersuchungen über die Ausatmung des freien Stickstoffs aus dem Körper. Sitzb. d. Akad. d. Wiss. Wien. Math.-naturw. Klasse. 115. Abt. 3. — Luciani L. et Lo Monaco D. 1897. L'accroissement progressif en poids et en azote de la larve du ver à soie, par rapport à l'alimentation nécessaire dans les âges successifs. Arch. ital. de Biol. 27 (340). — Peligot E. 1867. Études chimiques et physiologiques sur les vers à soie. Ann. de Chimie et de Physique. Sér. IV, 12 (445). — Pilewiczówna M. 1925. Przyczynek do badań nad wymianą gazową u owadów w stanie głodu i odżywiania. (Influence du jeune et d'alimentation sur le métabolisme respiratoire des Insectes). Trav. de l'Institut Nencki. 2 (1—30). — Pilewiczówna M. 1926. O przemianie azotowej u owadów. (Sur le métabolisme azoté des Insectes). Trav. de l'Institut Nencki. 4 (1—25). — Tangl F. 1909. Embryonale Entwicklung und Metamorphose vom energetischen Standpunkte aus betrachtet. Arch. f. d. ges. Physiol. 130 (55). — Urech F. 1890. Chemisch-analytische Untersuchungen an lebenden Raupen, Puppen und Schmetterlingen und ihren Secreten. Zool. Anzeiger. 13 (254, 272, 309, 334).

[Zakład Patologii Ogólnej i Doświadczalnej Uniwersytetu Józefa Piłsudskiego
w Warszawie].

Kierownik: Prof. Dr. Franciszek Venulet.

St. Zb. Bartosiewicz.

**Skrócenie metody mikro - Kjeldahla w aparacie Parnasa -
Wagnera.**

*Abkürzung der Bestimmungszeit der Mikromethode von Kjeldahl
im Apparat nach Parnas-Wagner.*

Manuskrypt nadesłany w dniu 18.VI.1936 r.

Wenn wir im Apparat von P a r n a s - W a g n e r nach beendigter Destillation den Destillationsapparat entleeren wollen, stellen wir den Brenner unter der Kolbe weg und nach einer gewissen Zeit wird infolge Senkung des Druckes im Kolben und Sammelgefäß die Flüssigkeit aus dem Destillationsapparat in das Sammelgefäß gesaugt, aus dem wir es dann wegschütten. Bei der darauf folgenden zweimaligen Spülung des Destillationsapparates gehen wir auf dieselbe Weise vor, indem wir auf die Senkung des Druckes warten. Manchmal sind wir zur neuerlichen Erwärmung des Kolbens gezwungen, wenn die vorhandene Druckdifferenz nicht im Stande ist den Destillationsapparat zu entleeren. Auf diese Weise dauert eine Bestimmung im Apparat von P a r n a s - W a g n e r ungefähr 20 Minuten (zusammen mit Reinigung des Destillationsapparates). Meine Modifikation beruht auf der Anwendung einer Wasserstrahlpumpe zur Entleerung des Destillationsapparates, welche wir mit dem Sammelgefäß verbinden als auch eines Zweivegehahnes (10), welchen wir zwischen Kolben und Sammelgefäß einfügen.

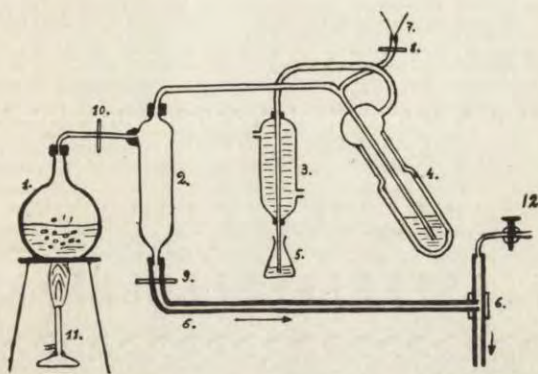
Position I des Zweivegehahnes: die Stellung des Hahnes gestattet das Durchströmen des Wasserdampfes aus Kolben in den Destillationsapparat ohne Verflüchtigung nach aussen, natürlich bei geschlossener Klemme (9). Position II des Zweive-

gehahnes: der Hahn ist so gestellt, dass der Wasserdampf nach aussen strömen kann und der Kolben gleichzeitig von der übrigen Apparatur getrennt ist. Infolge verminderten Druckes im Sammelgefäss geht die Flüssigkeit sofort aus dem Destillationsapparat in das Sammelgefäss und von dort weiter nach aussen. Sobald die Flüssigkeit zur Gänze aus dem Destillationsapparat entfernt worden ist, schalten wir die Pumpe aus, entweder durch Schliessung der Klemme (9) oder des Wasserkranes und füllen den Destillationsapparat durch den Trichter mit destilliertem Wasser zur Spülung nach. Darauf schliessen wir Klemme (8) und betätigten wieder die Wasserstrahlpumpe, welche abermals den Destillationsapparat entleert. Bei der darauf folgenden zweiten Spülung gehen wir auf dieselbe Weise vor. Während eine Bestimmung im Apparat von P a r n a s - W a g n e r zusammen mit Reinigung des Destillationsapparates ungefähr 20 Minuten dauert, verkürzt sich die Zeit bei Anwendung der Wasserstrahlpumpe auf 7 — 8 Minuten. Den Vorgang der Entleerung und Spülung des Destillationsapparates verkürzen wir auf 1—2 Minuten durch Anwendung einer Wasserstrahlpumpe.

Schliesslich möchte ich noch angeben, dass der Zweiweghahn (10) nicht unbedingt notwendig ist. Es genügt, wenn wir an seiner Stelle, an der sich sonst der Zweiweghahn befindet, also zwischen Kolbe und Sammelgefäss den Gummischlauch mit einer Pinzette zusammendrücken, solange die Wasserstrahlpumpe in Betrieb ist und nach deren Ausschaltung wieder den Gummischlauch frei lassen. Dadurch verhindern wir Sieden des Wassers in der Kolbe, durch Verminderung des Druckes in derselben infolge Luftansaugung durch die Wasserstrahlpumpe, ein Umstand der dann die Entleerung des Destillationsapparates um einige Sekunden verzögert.

Modyfikacja polega na zastosowaniu pompy ssącej do opróżniania aparatu destylacyjnego (4), co w wyniku skraca trzykrotnie czas jednego oznaczenia. Podczas gdy jedno oznaczenie w aparacie P a r n a s a - W a g n e r a trwa około 20 minut (wraz z oczyszczaniem aparatu, destylacyjnego), to przy zasto-

sowaniu pompy ssącej czas ten skraca się do 7—8 minut. W aparacie P a r n a s a - W a g n e r a po skończonej destylacji właściwej, chcąc opróżnić aparat destylacyjny (4), odstawiamy palnik (11) z pod kolby (1) i po pewnym czasie wskutek obniżenia ciśnienia w kolbie (1) i zbiorniku (2) płyn z aparatu destylacyjnego (4) zostaje wyciągnięty do zbiornika (2), skąd następnie odlewamy go. Płóczęc potem dwukrotnie aparat destylacyjny (4) postępujemy w ten sam sposób, czekając na obniżenie ciśnienia. Czasami narażeni jesteśmy na ponowne



1. Kolba do wytwarzania pary wodnej. 2. Zbiornik. 3. Chłodnica.
4. Aparat destylacyjny. 5. Odbieralnik. 6. Pompa ssąca załączona do kranu. 7. Lejek, przez który wprowadzamy badaną substancję do aparatu destylacyjnego. 8. Zaciskacz. 9. Kurek dwudrożny.
10. Kurek dwudrożny. 11. Palnik. 12. Kran.

podgrzewanie kolby (4), gdyż istniejąca różnica ciśnień nie jest w stanie opróżnić aparatu destylacyjnego. Całą manipulację z opróżnianiem i płócaniem aparatu destylacyjnego (4) skracamy do 1—2 minut przez zastosowanie pompy ssącej (którą załączamy do zbiornika (2)).

Podczas destylacji właściwej, kiedy przepuszczamy parę wodną przez aparat destylacyjny (4), pompa jest nieczynna, a zaciskacz (9) zamknięty (kurek dwudrożny w pozycji 1*). Chcąc opróżnić aparat destylacyjny (4) odstawiamy palnik (11)

*) Pozycja I kurka dwudrożnego: kurek ustawiony w ten sposób, że pozwala na swobodne przechodzenie pary wodnej z kolby (1) do aparatu destylacyjnego (4) bez ułatniania się nazewnątrz (oczywiście przy zaciskaczu (9) zamkniętym).

z pod kolby (1), otwieramy zaciskacz (9), kurek dwudrożny ustawiamy w pozycji 2*) i uruchamiamy pompę ssącą.

Wskutek zmniejszonego ciśnienia w zbiorniku (2) płyn z aparatu destylacyjnego (4) natychmiast przechodzi do niego a stąd nazewnątrz. Następnie, gdy już całkowicie usunęliśmy płyn z aparatu destylacyjnego (4), wyłączamy pompę, albo przez zamknięcie zaciskacza (9) albo zamykając kran (12), i napełniamy wodą destylowaną aparat destylacyjny (4) przez lejek (7) w celu przepłókania aparatu. Gdy to uczynimy, zamykamy zaciskacz (8) i uruchamiamy ponownie pompę ssącą, która powtórnie opróżnia aparat destylacyjny (4). Tę samą manipulację stosujemy przy powtórnej płókanii aparatu. Zastosowanie pompy ssącej jest bardzo wygodne jeszcze i z tego względu, że uniezależnia nas zupełnie od temperatury kolby (1) i różnicy ciśnień między kolbą (1) i zbiornikiem (2) a aparatem destylacyjnym (4).

Opróżniać i oczyszczać aparat destylacyjny (4) możemy też i wtedy, gdy kolba 1) nie była uprzednio wcale nagrzana co oczywiście bez zastosowania pompy było niemożliwe.

Nakoniec dodam, że kurek dwudrożny (10) nie jest konieczny do sprawnego działania modyfikacji. Połączenie między kolbą a zbiornikiem może być utrzymane bez żadnych zmian, tak jak jest to dotychczas w każdym aparacie P a r n a s a - W a g n e r a. Kurek dwudrożny jest tylko poto, aby przy uruchamianiu pompy ssącej część płynu z kolby nie została wciągnięta do zbiornika. Możemy więc kurka dwudrożnego nie wstawiać, pamiętając jednak o tem, aby kolba nie była wypełniona wodą więcej jak w trzech czwartych swojej objętości. Gdy niema kurka dwudrożnego, to uruchamiając pompę ssącą powodujemy burzenia się wody w kolbie, która wrze przy zmniejszonym ciśnieniu, co opóźnia nam opróżnianie aparatu destylacyjnego o kilkanaście sekund; chcąc tego uniknąć ściskamy pensetką gumkę łączącą kolbę ze zbiornikiem (aż do zupełnego zamknięcia światła) podczas uruchamiania pompy ssącej.

*) Pozycja 2 kurka dwudrożnego: kurek ustawiony w ten sposób, że pozwala uchodzić parze wodnej swobodnie nazewnątrz odgradzając równocześnie kolbę (1) od dalszych części aparatu.

Acta Biologiae Experimentalis.

Wskazówki dla autorów:

Do druku są przyjmowane nieogłoszone dotychczas w obcych czasopismach naukowych prace, wykonane w polskich lub zagranicznych zakładach badawczych. Rękopisy (pisane po polsku, ze streszczeniem w jednym z czterech języków kongresowych, nie przekraczającym 10% tekstu polskiego, lub też pisane w języku obcym, z odpowiednim streszczeniem po polsku) nie powinny w zasadzie przekraczać objętości **jednego arkusza** druku. Rękopisy winny być pisane możliwie zwięźle, zupełnie czytelnie (lepiej — maszynowo na interlinji, zaś tekst obcojęzyczny obowiązkowo na maszynie), z marginesem, na jednej stronie kartek (jednakowej wielkości), z określeniem ustępów mniej ważnych (historja zagadnienia, kwestje metodyczne i techniczne, protokoły doświadczeń, spis piśmiennictwa), które będą drukowane *petitem*.

Autorowie są proszeni o nadsyłanie rękopisów w redakcji ostatecznej, wyłączającej zmiany lub uzupełnienia tekstu w czasie korekty.

Uprasza się o przestrzeganie w układzie rękopisu następującej kolejności: 1^o nazwa zakładu, w którym praca została wykonana; 2^o, imię (lub lepiej — tylko inicjały) i nazwisko autora; 3^o tytuł pracy możliwie krótki i ściśle odpowiadający treści w języku polskim i poniżej — w języku obcym; 4^o, streszczenie w jednym z języków kongresowych (jako wzór — komunikaty w C. R. Soc. de Biol.); 5^o, tekst polski; 6^o, polskie streszczenie głównych wyników, o charakterze obiektywnym i w formie, dającej się bezpośrednio użytkować w czasopismach bibliograficznych, 7^o, piśmiennictwo; 8^o, objaśnienie rysunków w tablicach pozatekstowych (w dwu językach).

Podkreślenia: 1^o, rozdziały pracy — trzema linjami ciąglemi; 2^o, nazwiska autorów w tekście — linją przerywaną; 3^o, ustępy tekstu o charakterze wniosków — linją przerywaną; 4^o, nazwy łacińskie w tekście (rodzaje i gatunki zwierząt i roślin, nazwy anatomiczne) oraz tekst obcojęzyczny w tabelach liczbowych, w objaśnieniach rysunków w tekście i do tablic pozatekstowych — jedną linją falistą.

Cytaty: po nazwisku autora, cytowanego w tekście, należy umieścić w nawiasach dwie ostatnie cyfry roku wydania pracy, poprzedzone przecinkiem u góry; np.: Godlewski ('91).

Tabele liczbowe: na oddzielnych kartkach (tego samego formatu, co rękopis), z nagłówkami ogólnymi i kolumnowymi w dwu językach, ułożone oszczędnie (należy unikać kolumn mało wypełnionych), numeracja rzymska.

Rysunki: reprodukcja wyłącznie cynkofotograficzna (kreskowa lub siatkowa), jednobarwna; liczba rysunków możliwie ograniczona; wielkość nieprzekraczająca — po zmniejszeniu (najlepiej do $\frac{2}{3}$) — 50 cm². Objaśnienia do rysunków w tekście (dwujęzyczne) na oddzielnych kartkach — wklejonych w odpowiednie miejsca rękopisu.

Piśmiennictwo, ułożone w porządku alfabetycznym, nazwisk autorów, w formie, przyjętej w bibliografji: 1^o, nazwisko i inicjały imion autora (linją przerywana); 2^o, rok wydania pracy lub książki (cyfra pełna); 3^o, pełny tytuł publikacji; 4^o, skrócony tytuł czasopisma; 5^o, tom (cyfry arabskie, linją falistą); 6^o, pierwsza strona pracy (w nawiasie). Np.: Nencki M. und J. Zaleski. 1901. Über die Bestimmung des Ammoniaks in tierischen Flüssigkeiten und Geweben. Zeitschr. physiol. Chem. 33 (193), Opera Omnia. 2 (806).

Autorowie otrzymują 60 odbitek pracy gratis. Odbitki nadliczbowe można nabyć w cenie kosztu (arkusz druku — ok. 45 gr., okładka — 10 gr.) za uprzednim zamówieniem, które należy nadesłać wraz z pierwszym arkuszem korekty.

Drukarnia:
PIOTR PYZ i S-ka
w Warszawie
Miodowa 8