

Opłata pocztowa ulszczona ryczałtem

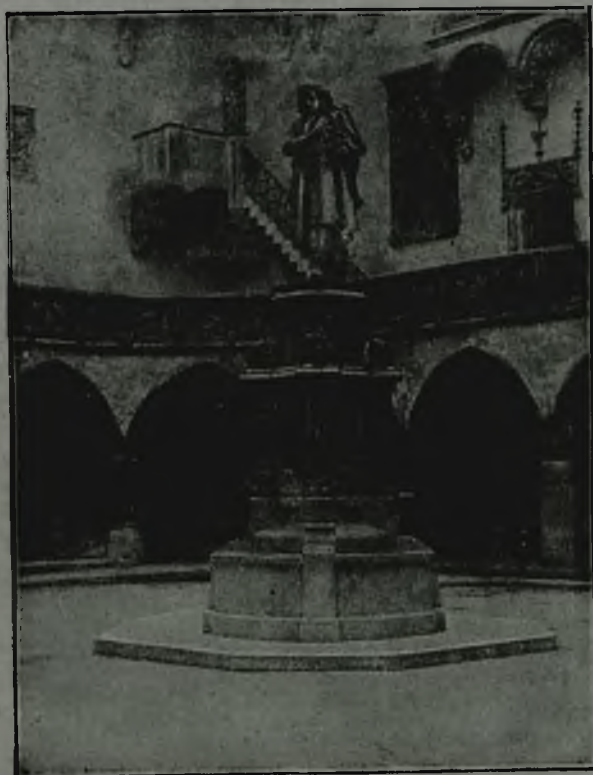
ZESZYT III-IV

1931

ROCZNIK LVI

# KOSMOS

Serja A. ROZPRAWY



WE LWOWIE

NAKLADEM POLSKIEGO TOW. PRZYRODNIKÓW IM. KOPERNIKA  
WYDANE Z ZASIEKIEM: MINISTERSTWA SPRAW ZAGRANICZNYCH, RADY WYDZIAŁU  
LEKARSKIEGO U. J. K., KASY IM. MIANOWSKIEGO I KOMITETU BUDOWY GMACHÓW  
WYDZIAŁU FARMACEUTYCZNEGO W WARSZAWIE

Skład główny: Księgarnia „Książnica-Atlas“ T. N. S. W. — Lwów, ul. Czarnieckiego 1. 12.  
Pierwsza Związkowa drukarnia we Lwowie, ul. Lindego 1. 4.

1932

# TREŚĆ ZESZYTU III—IV 1931, T. LVI.

(Sommaire du Nr. III—IV 1931, V. LVI.)

	Str.
1. John J. Abel. — O teorii jednorodnego a nie wielorakiego hormonu w produktach tylnego płata przysadki mózgowej ( <i>On the Unitary Versus the Multiple Hormone Theory of Posterior Pituitary Principles</i> )	225
2. M. Arthus. — O eksperymencie ( <i>L'expérience</i> ) . . . . .	257
3. Z. A. Biler i A. B. Luckhardt. — Wpływ doprowadzających włókien płucnego nerwu błędnego na szybkość oddechania ( <i>The rôle of afferent fibres in the pulmonary vagus on the rate of the respiration</i> )	260
4. P. Carnot i E. Libert. — Przyczynek do badań nad wpływem histaminy na wydzielanie soku żołądkowego i jej zastosowań klinicznych ( <i>Contribution à l'étude de l'action de l'histamine sur la sécrétion gastrique et de ses applications cliniques</i> ) . . . . .	265
5. F. Czubaleki. — Wpływ niedostatecznie dotąd uwzględnianych czynników fizjologicznych na charakter krzywej wydzielania trzustkowego ( <i>Influence des facteurs physiologiques jusqu'à présent peu considérés sur le caractère de courbe de la sécrétion du suc pancréatique</i> ) . . . . .	284
6. M. Gedroyó. — Wyciągi i rozciery z tkanek zwierzęcych i ich stosunek do wazodilatyny, peptonu, histaminy oraz do zmian grupowego charakteru elementów morfotycznych krwi ( <i>Extraits et émulsions des tissus animales, vasodilatine, peptone et l'histamine et le changement du caractère des groupes sanguins</i> ) . . . . .	291
7. E. M. K. Gelling i A. M. de Lawder. — Studja nad krystaliczną insuliną (Czy insulina powoduje początkową hyperglikemję?) [ <i>Studies on Crystalline Insulin. — Does Insulin Cause an Initial Hyperglycemia?</i> ] . . . . .	310
8. A. C. Ivy. — Obecny stan zagadnienia „gastryny“ ( <i>The present status of the „gastrin“ problem</i> ) . . . . .	380
9. W. Jakowlóki. — Kilka uwag w sprawie wpływu przewlekłego zatrucia morfiną na czynność rozrodczą i potomstwo ( <i>Quelques remarques sur l'influence de l'intoxication chronique par la morphine sur la fonction germinative et la progéniture</i> ) . . . . .	387
10. F. Kmetowloz (jun.) — Z farmakodynamji siarkowodoru (o wchłanianiu się siarkowodoru z przewodu pokarmowego) [ <i>Pharmacodynamie de l'hydrogène sulfuré — sur la resorption de l'hydrogène sulfuré dans le tractus digestif</i> ] . . . . .	846

# KOSMOS

CZASOPISMO

POLSKIEGO TOWARZYSTWA PRZYRODNIKÓW IM. KOPERNIKA

SERJA A. ROZPRAWY

(BULLETIN DE LA SOCIÉTÉ POLONAISE DES NATURALISTES „KOPERNIK“)

SÉRIE A. MÉMOIRES

RO CZNIK LVI

ZA ROK

1931

REDAKTOR

Prof. Dr. I. ZAKRZEWSKI

LWÓW

NAKŁADEM POLSKIEGO TOW. PRZYRODNIKÓW IM. KOPERNIKA

Pierwsza Związkowa Drukarnia we Lwowie, ulica Lindego 1. 4.

1931



# KOSMOS

CZASOPISMO

POLSKIEGO TOWARZYSTWA PRZYRODNIKÓW IM. KOPERNIKA

[SERJA A. ROZPRAWY]

R O C Z N I K   L V I

ZA ROK

1931

CZĘŚĆ II.

ZESZYT III—IV.

*POŚWIĘCONY PAMIĘCI PROFESORA  
POPIELSKIEGO*

*DEDIÉ À LA MEMOIRE DU PROFESSEUR  
POPIELSKI*

*DEVOTED TO THE MEMORY OF PROFESSOR  
POPIELSKI*

WYDANE Z ZASIŁKIEM: MINISTERSTWA SPRAW ZAGRANICZNYCH,  
RADY WYDZIAŁU LEKARSKIEGO U. J. K., KASY IM. MIANOWSKIEGO,  
KOMITETU BUDOWY GMACHÓW WYDZIAŁU FARMACEUTYCZNEGO  
W WARSZAWIE



# KOSMOS

CZASOPISMO

POLSKIEGO TOWARZYSTWA PRZYRODNIKÓW IM. KOPERNIKA

[SERJA A. ROZPRAWY]

R O C Z N I K L V I

ZA ROK

1931



WYDANE W CAŁOŚCI Z ZASIŁKU KOMITETU EKSPERTÓW  
DLA FOSFORYTÓW NIEZWISKICH

## SPIS RZECZY

	Str.
1. John J. Abel. — O teorii jednorodnego a nie wielorakiego hormonu w produktach tylnego płata przysadki mózgowej ( <i>On the Unitary Versus the Multiple Hormone Theory of Posterior Pituitary Principles</i> )	225
2. M. Arthus. — O eksperymencie ( <i>L'expérience</i> )	257
3. Z. A. Biler i A. B. Luckhardt. — Wpływ doprowadzających włókien płucnego nerwu błędnego na szybkość oddechania ( <i>The rôle of afferent fibres in the pulmonary vagus on the rate of the respiration</i> )	260
4. P. Carnot i E. Libert. — Przyczynek do badań nad wpływem histaminy na wydzielanie soku żołądkowego i jej zastosowań klinicznych ( <i>Contribution à l'étude de l'action de l'histamine sur la sécrétion gastrique et de ses applications cliniques</i> )	260
5. F. Czubalski. — Wpływ niedostatecznie dotąd uwzględnianych czynników fizjologicznych na charakter krzywej wydzielania trzustkowego ( <i>Influence des facteurs physiologiques jusqu'à présent peu considérés sur le caractère de courbe de la sécrétion du suc pancréatique</i> )	284
6. M. Gedroyé. — Wyciągi i rozciery z tkanek zwierzęcych i ich stosunek do wazodilatyny, peptonu, histaminy oraz do zmian grupowego charakteru elementów morfotycznych krwi ( <i>Extraits et émulsions des tissus animales, vasodilatine, peptone et l'histamine et le changement du caractère des groupes sanguins</i> )	291
7. E. M. K. Gelling i A. M. de Lawder. — Studja nad krystaliczną insuliną (Czy insulina powoduje początkową hyper [ <i>Studies on Crystalline Insulin. — Does Insulin Cause an Initial Hyperglycemia?</i> ])	310
8. A. C. Ivy. — Obecny stan zagadnienia „gastryny“ ( <i>The present status of the „gastrin“ problem</i> )	330
9. W. Jakowicki. — Kilka uwag w sprawie wpływu przewlekłego zatrucia morfiną na czynność rozrodczą i potomstwo ( <i>Quelques remarques sur l'influence de l'intoxication chronique par la morphine sur la fonction germinative et la progéniture</i> )	337
10. F. Kmiotowicz (jun.). — Z farmakodynamji siarkowodoru (o wchłanianiu się siarkowodoru z przewodu pokarmowego) [ <i>Pharmacodynamie de l'hydrogène sulfuré — sur la resorption de l'hydrogène sulfuré dans le tractus digestif</i> ]	346
11. W. Koskowski. — Z badań nad rolą fizjologiczną histaminy w ustroju i zjawisk z nią związanych ( <i>Expériences sur le rôle de l'histamine en rapport avec quelques phénomènes pharmacodynamiques</i> )	367
12. E. Malgre. — Oxydacje i redukcje biologiczne ( <i>Oxydations et réductions biologiques</i> )	388
13. J. Modrakowski. — Kwasy i zasady jako czynniki lecznicze ( <i>Acides et alcalins comme agents thérapeutiques</i> )	425
14. E. Pożerski. — O trawieniu skrobi surowej ( <i>Sur la digestion de l'amidon cru</i> )	445
15. Ch. Richet. — List	452
16. T. Sollmann, G. B. Ray i W. E. Hamburger. — Toksyczność mazi powstałej z nitrocelulozy przy destrukcji filmów radiograficznych wskutek gorąca ( <i>Film Tar — The Toxicity of the Tar Resulting from the Heat-Destruction of Cellulose Nitrate Radiographic Films</i> )	453
17. P. Stradin. — O ropniu Brodie'go ( <i>Brodie's Abscess</i> )	456
18. E. M. P. Widmark. — Alkohol a medycyna sądowa ( <i>L'alcool et la médecine légale</i> )	464
19. E. Zunz. — W sprawie zmian krzepliwości krwi pod wpływem leków ( <i>A propos des modifications de la coagulation du sang sous l'influence des médicaments</i> )	474

## WSTĘP

**P**olskie Towarzystwo Przyrodników im. Kopernika wyraziło zgodę na wydanie osobnego numeru „Kosmosu“ dla uczczenia pamięci Profesora LEONA POPIELSKIEGO, znakomitego fizjologa i farmakologa polskiego, zmarłego w roku 1920. Towarzystwo nie wahało się ponieść znacznych kosztów na rzecz nauki lekarskiej, za co inicjatorzy niniejszego wydawnictwa składają Zarządowi Towarzystwa i Redakcji „Kosmosu“, głębokie podziękowanie.

Komitet zawdzięcza przede wszystkim wiele Ministerstwu Spraw Zagranicznych, które w zrozumieniu znaczenia propagandy tego rodzaju imprezy, zasiliło znaczną kwotą niniejsze wydawnictwo. Rada Wydziału Lekarskiego U. J. K. pragnąc uczcić świetną pamięć jednego ze swych dawnych członków, hojnie poparła zamierzenia Komitetu.

Kasa im. Mianowskiego i Komitet budowy gmachów Wydziału farmaceutycznego w Warszawie, mimo trudnych warunków finansowych w granicach swych możliwości z niezwykłą gotowością przyczyniły się do wydania niniejszego tomu. Wszystkim zatem ofiarodawcom dziękujemy jak najgoręcej.

Udział współpracowników polskich w niniejszem wydawnictwie byliśmy zmuszeni ograniczyć do najbliższych współpracowników i uczniów zmarłego Profesora. Pragnęliśmy bardzo zamieścić wśród prac drukowanych w niniejszym tomie jubileuszowym również artykuły wielu polskich



badaczy, których współdział podniósłby jeszcze bardziej wartość naukową wydawnictwa. Niestety konieczności ekonomiczne zmusiły nas do znacznych a przykrych nam ograniczeń.

Ze szczerą wdzięcznością wspominamy tutaj, iż od wielu wybitnych uczonych z poza granic Polski otrzymaliśmy cenne prace z przeznaczeniem do naszego wydawnictwa. Otrzymaliśmy poza tem listy serdeczne, stwierdzające, że Popielski jest dla nauki wszechświatowej dzisiaj jeszcze postacią aktualną i że Jego dorobek naukowy stał się własnością ogółu.

Wysiłek myśli i skromnych starań w niniejszem wydawnictwie ze strony najbliższych uczniów i współpracowników Profesora Popielskiego niechaj będzie wrazem naszego hołdu i niezmiennej pamięci.





\* 1866

LEON POPIELSKI

† 1920

## **Profesor Leon Popielski.**

*Leon Popielski zmarł we Lwowie dnia 8 października 1920, w 54 roku życia. Był profesorem farmakologii doświadczalnej Uniwersytetu Jana Kazimierza.*

*Popielski był początkowo fizykiem i matematykiem, następnie kształcił się w Akademji wojskowo-lekarskiej w Petersburgu i ukończył ją w roku 1894, cum eximia laude, jako pierwszy z Polaków, którego nazwisko wpisano złotem zgłoskami na marmurowej tablicy w sali aktowej Akademji. W niedługim czasie otrzymał stopień doktora medycyny po ogłoszeniu drukiem rozprawy „O wydzielniczych i hamujących nerwach trzustki“. W roku 1899 został Popielski docentem fizjologii, zaś w roku 1904 otrzymał katedrę farmakologii doświadczalnej we Lwowie, opróżnioną przez śmierć profesora Sobierańskiego. Katedrę zajmował od roku 1905 do chwili śmierci.*

*Efekt pracy badawczej Popielskiego jest bardzo duży. Wyniki badań ogłaszane w różnych językach odznaczają się krytycznym sposobem ujmowania zagadnień fizjologicznych i to głównie z punktu widzenia praw fizyki i chemji.*

*Praca Popielskiego jako młodego badacza, pod kierunkiem fizjologa rosyjskiego Pawłowa, i wpływ jego szkoły, znalazły i potem swój wyraz w opracowywanych tematach. Wielka jednak indywidualność naukowa Popielskiego stwarza mu szybko niezależną pozycję naukową i budzi coraz to rozleglejsze zainteresowania naukowe.*

*Badania Popielskiego odnoszą się do fizjologii przewodu pokarmowego, szczególnie zaś do czynności wydzielniczych gruczołów trawiennych, dalej do fizjologii zwojów nerwowych obwodowych i wyciągów z narządów oraz tkanek, i stosunku ciał*



czynnych w nich zawartych do znanych substancyj chemicznych. Temat ten łączy się ściśle z zagadnieniem t. zw. wydzielania wewnętrznego.

Doświadczenia nad wydzielaniem soku trzustkowego i wpływem nerwów pobudzających i hamujących tę czynność wywołują żywą dyskusję. Spostrzeżenie, że kwas solny wprowadzony do dwunastnicy daje wydzielanie soku trzustkowego mimo zniszczenia dróg nerwowych i zwojów nerwowych obwodowych oraz części rdzenia kręgowego, daje Popielskiemu podstawę do wyrażenia zapatrywania o istnieniu krótkiego łuku odruchowego w wydzielaniu trzustki, oraz daje impuls do doświadczeń głównie autorów francuskich i angielskich, których wynikiem jest wreszcie teoria humoralna wydzielania soku trzustkowego i stworzenie pojęcia sekretyny jelitowej.

Dalsze badania Popielskiego doprowadziły do ważnych fizjologicznie wniosków o roli kwasów dostających się do dwunastnicy. Kwasy mineralne i organiczne wywierają wpływ na wydzielanie soku trzustkowego zależnie od ilości wolnych jonów wodorowych w nich zawartych. Wszelkie procesy czy substancje zmniejszające ilość wolnych jonów wodorowych zmniejszają tem samem i efekty sekretoryczne kwasów. To samo odnosi się i do wpływu na inne gruczoły a przedewszystkiem gruczoły ślinowe.

Bodźce gruczołów trawiennych nie ograniczają się jednak — według Popielskiego — do wpływów nerwowych czy fizykochemicznych, lecz mają również swe źródło i w zmianach zachodzących w samej krwi i w krwiobiegu a przedewszystkiem charakteryzujących się obniżeniem ciśnienia i niekrzepiwością krwi.

Badania nad rolą fizjologiczną zwojów nerwowych obwodowych, brzusznych i piersiowych, doprowadziły Popielskiego do ważnych odkryć o ważnem znaczeniu w patologji ludzkiej. Ośrodki nerwowe mieszczące się w zwoju trzewnym mają wpływ na stan łożyska naczyń krwionośnych. Usunięcie lub zniszczenie zwoju trzewnego powoduje zmiany w naczyniach, których następstwem są przesięki krwawe, wybroczyny i owrzodzenia. Prawdopodobnie niektóre choroby zakaźne (dur brzuszny, cholera) dając intoksykację ustroju wywierają i na zwoj trzewny wpływ toksyczny i w rezultacie dają zależne od tego objawy. Oparzenia skóry i objawy, jakie przytem powstają w przewodzie pokarmowym świadczą też o zmianach w zwoju trzewnym. Potwierdzają

zresztą te spostrzeżenia badania eksperymentalne i histologiczne badaczy rosyjskich. Zwój trzewny jako regulator bodźców czuciowych z odpowiednich odcinków przewodu pokarmowego i otrzewnej ważną gra rolę szczególnie przy zjawianiu się bodźców patologicznych. Układ współczulny wraz ze swemi zwojami (szczególnie badany zwój trzewny i gwiaździsty) stanowią aparat „czuciowy“ narządów wewnętrznych, ześrodkowujący w sobie szereg bodźców przy prawidłowym stanie narządów i przetwarzający je na odpowiednie odruchy, lub też powodujący wrażenia bólu wtedy, gdy bodźce te przyjmują charakter patologiczny.

Wreszcie wiele trudu poświęca Popielski badaniom działania farmakodynamicznego peptonu i wyciągów z narządów. Zaznaczyć należy, że zagadnienia tej dziedziny do dnia dzisiejszego tworzą zawite problemy związane z poszukiwaniem ciał czynnych w narządach, oczyszczaniem z produktów ubocznych, niekiedy aktywnych, i przez to maskujących działanie składnika istotnego. Wiążą się te zagadnienia z nauką o wydzielaniu wewnętrznym, anafilaksją, odpornością i farmakodynamją ciał chemicznie określonych a powstających w ustroju zwierzęcym czy ludzkim.

Popielski podjął doświadczenia dawne autorów niemieckich i polskich i opisywane zasadnicze objawy wstrząsu, które powstają po dożylnem wprowadzeniu peptonu lub wyciągów z tkanek, sprowadził do podstawowych zjawisk, jakimi, według niego, ma być spadek ciśnienia krwi i jej niekrzepliwość. Objawy inne występujące po wśródżylnem wprowadzeniu wyciągów z tkanek czy peptonów są wynikiem anemji ośrodków. Substancję, która miała powodować zjawiska zasadnicze nazwał Popielski wasodilatyną, i jej przypisywał ważne znaczenie fizjologiczne, jako składowej części komórek ustroju. I aczkolwiek pojęcie wasodilatyny podlega już dzisiaj rewizji w świetle nowszych doświadczeń, niemniej jednak pogląd Popielskiego o jej istnieniu i właściwościach stał się punktem wyjścia szeregu badań i wieloletniej dyskusji naukowej, dającej podstawy wielu ważnych odkryć.

W związku z pojęciem wasodilatyny stoi nauka o t. zw. wydzielaniu wewnętrznym. Popielski przeciwnik teorii humoralnej wydzielania soku trzustkowego, przeciwnik poglądu o adrenalinemji fizjologicznej, odrębny miał pogląd na rolę gruczołów dokrewnych. Podkreślał ich czynność desintoksykacyjną. I acz-



kolwiek nauka o wydzielaniu wewnętrznem zdobyła w ostatnim dziesięcioleciu wiele odkryć zasadniczych, niemniej jednak i teoria desintoksykacyjna gruczołów dokrewnych zyskała nowe fakty chociażby w odniesieniu do gruczołów przytarczycznych i nadnerczy.

Badania Popielskiego i jego uczniów nad wpływem wyciągów z tkanek i wasodilatyny na ustrój doprowadziły do odkrycia właściwości sekretorycznych histaminy dla soku żołądkowego i innych soków trawiennych. Substancję tę autorowie angielscy uważali za identyczną z wasodilatyną, tymczasem ten właśnie odczyn biologiczny dał możność Popielskiemu odróżnić stanowczo działanie peptonu od działania histaminy. Chociaż histamina znajduje się prawie we wszystkich wyciągach z narządów ustrojów dojrziałych, niemniej jednak nie tworzy tam najprawdopodobniej swoistego czynnego składnika lecz jest domieszką, niejednokrotnie maskującą w sposób wybitny działanie właściwej czynnej substancji. Rola histaminy samej jako substancji wywołującej obfite wydzielanie soku żołądkowego i działającej na same komórki gruczołowe jest już dzisiaj ustalona w klinice, a próba histaminowa przynosi duże korzyści w ocenie czynności wydzielniczej żołądka.

Zasługi naukowe Popielskiego są olbrzymie. W niniejszym krótkim przeglądzie wymieniono jedynie najważniejsze kierunki prac Profesora i Jego lwowskiej szkoły<sup>1)</sup>.

Żywotnym swym umysłem potrafił Popielski nadać zagadnieniom poruszonym odpowiednią wagę, a oświetlając je zawsze z punktu widzenia dynamicznego i to w związku z całokształtem procesów biologicznych ustroju, budził zainteresowanie szerokie. Miarą wartości Jego odkryć jest ich dzisiejsza aktualność i nie wygasła pamięć Jego postaci nie tylko wśród najbliższych, ale również pośród badaczy wszystkich cywilizowanych krajów, którzy uważają Popielskiego, za wybitnego członka najbliższej rodziny naukowej i którzy w najbardziej szlachetny i trwały sposób oddają cześć badaczowi polskiemu.

**W. Koskowski.**

<sup>1)</sup> Prof. F. Czubalski w Gazecie Lekarskiej (Nr. 44—52, 1920), napisał wyczerpujący życiorys Prof. Popielskiego.



## **Spis prac Profesora Leona Popielskiego.**

*Liste chronologique des travaux et écrits scientifiques.*

*Titles of papers by Leon Popielski.*

### **1896.**

1. Ob odtielitielno-zadierżywajuszczich nierwach podżeludocznoj żeliezy.
2. O sekretorno-zadierżywajuszczich nierwach podżeludocznoj żeliezy.
3. Po powodu statji N. N. Morozowa „K'woprosu o normalnoj rozkładje“.
4. Rol pieczeni w prewraszczenjach krowi.
5. O sudbie sachara u sobak s Ekkowskim świszczom.

### **1897.**

6. K fizjologii czrewnogo spletienja (plexus coeliacus). (Experimentalnoje izsledowanje).

### **1899.**

7. Istoriceskij oczerk katedry fizjologii w imperatorskoj wojenno-medicejskoj Akademji za 100 liet. (1798—1898).
8. Selezionka i fermenty podżeludocznoj żeliezy.
9. Fizjologiczeskija osnovanija racjonalnoj rozkładki pischzewogo dowolstwija.
10. Ueber die Zweckmässigkeit in der Arbeit der Verdauungsdrüsen.

### **1901.**

11. O perifericeskom otrażennom centre żeludocznych żeloz.
12. Wraczebnaja czast. O sravnitielnych kaczestwach biskwit i galet.
13. Znaczenje akta jedy w pischzewarenji.
14. Reflektornaja djejatelnost' perifericeskich nierwnych klietok w podżeludocznoj żeljezie.
15. O mechanizmie djejtswija pilokarpina na żelozy.
16. Selezienka i bielkowoje brodiło podżeludocznoj żeljezy.

17. Ueber das peripherische reflektorische Nervenzentrum des Pankreas.
18. Sposób działania pilokarpiny na gruczoły.
19. Ueber die Grundeigenschaften des Pankreassaftes.
20. Ueber sekretorische Hemmungsnerven des Pankreas.
21. Ueber den Charakter der Funktion des Pankreas unter dem Einflusse der Einführung von Salzsäure in das Duodenum.
22. Ueber die reflektorische Tätigkeit des Pankreas.
23. Ueber das peripherische reflektorische Zentrum der Magendrüsen.
24. Ueber Veränderungen der Leitungsfähigkeit und Erregbarkeit der Nerven unter dem Einflusse von Cocain.
25. O podstawowych własnościach soku trzustkowego.

### 1902.

26. O sposobie djejtwijsa kisłoty (*HCl*) i solanokisłych nastojew rozlicznych czastkiej slizistoj oboloczki piszczewariteljnogo kanała na otdjelitielnuju rabotu podżełudocznoj żeljezy.
27. Pricziny raznoobrazja swojstw podżełudocznojo soka w otnoszenii bjełkowago brodila.
28. Wlijanie miasnych konserwow Azibera i Müllera na organizm.
29. O celesoobraznosti w rabotje podżełudocznoj i żełudocznoj żelez.
30. O celesoobraznosti w rabotje piszczewariteljnych żelez.

### 1903.

31. Wkus i potrebnosti organizma.
32. Ob osnovnych swojstwijach podżełudocznojo soka.

### 1904.

33. Przyczynek do farmakologii pilokarpiny.

### 1905.

34. Fyzyka i chemja w biologji. (Przegląd Lekarski Nr. 9 i 10).
35. Über die physiologische Wirkung und chemische Natur des Sekretins. (Zentralblatt f. Physiologie, Bd. XIX, Nr. 22).

### 1907.

36. Die Sekretionstätigkeit der Bauchspeicheldrüse unter dem Einflusse von Salzsäure und Darmextrakt (des sogenannten Sekretins). (Archiv für die gesamte Physiologie, Bd. 120).
37. Adrenalina i środki podnoszące ciśnienie krwi. (Lwowski Tygodnik Lekarski Nr. 15).
38. O wpływie peptonów na czynność serca. (Lwowski Tygodnik Lekarski Nr. 29).
39. O fizjologicznem działaniu i chemicznych własnościach wyciągów z treści i ścianek jelit. (Lwowski Tygodnik Lekarski Nr. 43).

1908.

40. Kiszeczna ja wytyażka i sodierzymoje kiszek w fizjologiczeskom i chemiczeskom odnoszenijach. (Russkij Wracz 45).
41. Über den Charakter der Sekretionstätigkeit des Pankreas unter dem Einfluss von Salzsäure und Darmextrakt. (Archiv für die ges. Physiologie Bd. 121).
42. Über die Wirkungsweise des Chlorbaryum, Adrenalin und Pepton Witte auf den peripherischen vasomotorischen Apparat. (Archiv für Exp. Pathologie und Pharmakologie — Supplement-Band „Schmiedeberg Festschrift“).
43. O działaniu alkoholu na organizm w świetle obcych i własnych badań. (Przegląd higieniczny).

1909.

44. Über die physiologischen und chemischen Eigenschaften des Peptons Witte. (Archiv für die ges. Physiologie Bd. 126).
45. Über die Gesetze der Speicheldrüsentätigkeit. (Archiv für die ges. Physiologie Bd. 127).
46. Über die physiologische Wirkung von Extrakten aus sämtlichen Teilen des Verdauungskanales (Magen, Dick und Dünndarm), sowie des Gehirns, Pankreas und Blutes und über die chemischen Eigenschaften des darin wirkenden Körpers. (Archiv für die ges. Physiologie Bd. 128).
47. Chemische Untersuchung über das Vasodilatin, den wirksamen Körper der Extrakte aus sämtlichen Teilen des Verdauungskanales, dem Gehirn, Pankreas und Pepton Witte. (Wspólnie z Dr. Pankiem) (Archiv für die ges. Physiologie Bd. 128).
48. Über den Einfluss der Durchleitung von wechselnden Mengen Ernährungsflüssigkeit durch die Kranzarterien auf die Tätigkeit des isolierten Säugetierherzens, nebst Bemerkungen über die dynamischen und hemmenden Nerven. (Archiv für die ges. Physiologie Bd. 130).
49. Über den Einfluss des Peptons Witte auf die Tätigkeit des isolierten Säugetierherzens. (Archiv für die ges. Physiologie Bd. 130).
50. O fizjologicznych i chemicznych własnościach wazodilatyny, czynnego ciała narządów prawidłowego ustroju. (Wspólnie z Dr. Pankiem) (Przegląd Lekarski Nr. 2).
51. Nowe ciało w ustroju, podnoszące ciśnienie krwi. Na podstawie badań wyciągów z grasicy, mózgu, gruczołu tarczowego, trzustki i ślinianek. (Przegląd Lekarski Nr. 19, Zentrbl. f. Physiol. Bd. XXIII, Nr. 5).
52. Czynność gruczołów ślinowych pod wpływem ciał wprowadzanych do jamy ustnej. (Przegląd higieniczny rocznik VII).



1910.

53. O własnościach moczu obniżania ciśnienia krwi. (Gazeta Lekarska).
54. O wpływie wyciągów z narządów na wydzielanie soku żołądkowego, trzustkowego, kiszkiowego i na perystaltykę kiszki. (Gazeta Lekarska).
55. O fizjologicznych i chemicznych własnościach wasodilatyny. (Kosmos z. 5—6).
56. Über die Blutdruckwirkung des Cholins. (Zentralblatt für Physiologie Bd. XXIV, Nr. 20).
57. Dtto. (Zeitschrift für physiologische Chemie). (Bd. 70, Hf. 2 i 3).
58. O wpływie zaciskania tętnicy głównej piersiowej na ciśnienie krwi po usunięciu zaciskania. (Księga Jubileuszowa Lwowskiego Tygodnika Lekarskiego).
59. Erscheinungen bei direkter Einführung von chemischen Körpern in die Blutbahn. (Zentralblatt f. Physiologie Bd. XXIV, Nr. 24).

1911.

60. Über die innere Sekretion der Nebenniere. (Archiv f. die ges. Physiologie Bd. 139).
61. O zasadniczych zjawiskach w czynności wydzielniczej gruczołów trawiennych. (Rozprawy Wydziału matem.-przyrodn. Akademji Umiejętności w Krakowie, T. LI Ser. B).
62. Blutdruck und Ungerinnbarkeit des Blutes bei der Tätigkeit der Verdauungsdrüsen. (Biuletyn Akad. Umiejętn. w Krakowie, Wydział matem.-przyrodn. Ser. B).
63. Weitere Untersuchungen über die Bedeutung der Aufhebung der Blutgerinnungsfähigkeit für die Tätigkeit der Verdauungsdrüsen. (Biuletyn Akad. Um. w Krakowie, Wydz. matem.-przyrodn. Ser. B.).
64. Teorja hormonów w oświetleniu faktów. (Lwowski Tygodnik Lekarski Nr. 28).
65. Bemerkungen über die Bedeutung der temporären Isolierungsmethode bei Untersuchungen über die Verdauungsprozesse. (Zeitschrift für physiologische Chemie Bd. 71, Hf. 2).
66. Tytoń i jego wpływ na ustrój. (Rodzina i szkoła).
67. O rozpowszechnieniu wasodilatyny w świecie zwierzęcym. (Księga Pamiątkowa Uniwersytetu Lwowskiego).

1912.

68. Teorja hormonów i wyciągi z narządów (Lwowski Tygodnik Lekarski Nr. 1).
69. Die Wirkung der Organextrakte und die Theorie der Hormone. (Münchener med. Wochenschrift Nr. 10).
70. Blutdruck und Ungerinnbarkeit des Blutes bei der Tätigkeit der Verdauungsdrüsen. (Archiv f. die ges. Physiologie Bd. 144).

71. Dalsze badania nad znaczeniem niekrzepliwości krwi dla gruczołów trawiennych. (Rozprawy Wydz. mat.-przyr. Krak. Ak. Um., Ser. B, T. LI).
72. O wewnętrznym wydzielaniu nadnerczy. (Lwowski Tygodnik Lekarski Nr. 22).
73. Wasodilatyna, cholina,  $\beta$ -imidazolyl-etylamina ( $\beta$ -i) i ich wzajemny stosunek. (Gazeta lekarska Nr. 21).
74. Die Ungerinnbarkeit des Blutes bei der reflektorischen Tätigkeit der Speicheldrüsen und der Bauchspeicheldrüse. Das allgemeine Sekretionsgesetz der Verdauungssäfte. (Biul. Krak. Ak. Um., Wydz. mat.-przyr., Ser. B, Przyroda).
75. Teorja hormonów i wydzielanie wewnętrzne. (Przegląd Lekarski Nr. 47—50).
76. Badania doświadczalne nad czynnością gruczołów o wewnętrznym wydzielaniu. (Gazeta Lekarska Nr. 51—52).

#### 1914.

77. O mechanizmie wydzielania soku trzustkowego pod wpływem kwasów. (Rozprawy Akad. Umiej. w Krakowie, T. LIV cz. 2, Ser. B).
78. O wydzielaniu mleka pod wpływem wyciągów z narządów. (Rozprawy Akad. Umiej. w Krakowie, T. LIV cz. 2, Ser. B).
79. Alkohol jako środek odżywczy (Wyzwolenie).

#### 1916.

80. Adrenalin und Nebennieren. T. I. (Archiv für die ges. Physiologie Bd. 165).
81. Dtto. T. II. (Archiv für die ges. Physiologie Bd. 165).
82. Jony wodorowe i czynność wydzielnicza trzustki. (Rozprawy Krak. Akad. Umiej. T. LVI, Ser. B).
83. O fizjologicznych własnościach imidazolyetylaminy. (Rozprawy Krak. Akad. Umiej. T. LVI, Ser. B)

#### 1917.

84. Imidazolyetylamina i wyciągi z narządów. (Rozprawy Krak. Akad. Umiej. T. LVII, Ser. B).

#### 1918.

85. Über die sekretorische Innervation der Nebennieren. (Archiv für die ges. Physiologie Bd. 170).

#### 1919.

86. Organoterapja w świetle faktów. (Nowe Czasopismo Aptekarskie).
87. Sporysz pod względem chemicznym i fizjologicznym. (Nowe Czasopismo Aptekarskie Zesz. 1, 2, 3).

88. Die Wasserstoffionen und die sekretorische Tätigkeit der Bauchspeicheldrüse. (Pflügers Archiv Bd. 174. I/3).

1920.

89. Histamina i wyciągi z narządów. (Księga Pamiątkowa Wydziału Lekarskiego).

90. Imidazolyläthylamin und die Organextrakte. (Pflügers Archiv Bd. 178).

91. Alkohol a szkoła. (Czasopismo pedagogiczne R. VII).



1914



JOHN J. ABEL

## O teorii jednorodnego a nie wielorakiego hormonu w produktach tylnego płata przysadki mózgowej

(On the Unitary Versus the Multiple Hormone Theory of Posterior Pituitary Principles)

Z doświadczeń autora wynika, że jest rzeczą możliwą otrzymać jednolity produkt z tylnego płata przysadki, w postaci bezbarwnego suchego proszku, który rozpuszcza się w 0.25% kwasie octowym, w temperaturze pokojowej. Produkt ten posiada wszystkie znane właściwości fizjologiczne międzynarodowego proszku wzorcowego otrzymanego z przysadki mózgowej. Właściwości fizjologiczne znajdują się tutaj w tej samej proporcji jak w proszku wzorcowym, jednak o sile 50 do 60 razy większej i to w odniesieniu do trzech właściwości, na które preparat badano t. zn. na ciśnienie krwi, wpływ na macię i melanofory.

Produkt otrzymany przez autora posiada jeszcze zanieczyszczenia w ilości około 50% nieczynnem białkiem z grupy albumoz i zawiera małą ilość nieczynnej zasady, pięknie krystalizującej, która jednak dotychczas nie została zidentyfikowana.

W miarę dokładnego oczyszczania vasopressyny, oxytocyny i innych można uzyskać odpowiednio wyższe miano w porównaniu z proszkiem wzorcowym, substancje te bowiem zawierają zanieczyszczenia. Szanse otrzymania ciał czynnych powstających w czasie oczyszczania są coraz większe i to tem bardziej im bardziej czynnik jednolity zyskuje na swej indywidualności.

# On the Unitary Versus the Multiple Hormone Theory of Posterior Pituitary Principles<sup>1)</sup>

by

JOHN J. ABEL

Department of Pharmacology, Johns Hopkins Medical School Baltimore, Maryland.

In 1923 with my associates, Rouiller and Geiling I (1) published our last paper on the active principles of the infundibular portion of the pituitary gland and gave it as our opinion that, „all the evidence at hand is greatly in favor of the belief that the oxytocic, pressor, diuretic and respiratory activities of posterior pituitary extracts are properties of one and the same substance“. This is known as the unitary theory as distinguished from the belief that three or more separate principles exist as such in the posterior pituitary and are carried as separate entities in the blood stream. It will be admitted that it is a matter of importance to establish the validity of one or the other of these opposed theories. Does the posterior lobe, leaving out of consideration here its relation to the pars intermedia, send out into the blood stream a single, large, more or less unstable, molecule, with multiple physiological activities, or does it yield three or more separate chemical compounds? This, it may be repeated, is the question at issue.

Since Oliver and Schafer (2) in 1895 first demonstrated the action of posterior pituitary extracts upon the vascular system physiologists and chemists have in general adopted the theory of a multiplicity of principles as most naturally accounting for the manifold activities of such extracts. The multiple theory has recently received great support in the work of Kamm, Aldrich, Grote, Rowe and Bugbee (3) who have improved on the methods employed by their predecessors and have succeeded, they believe, in obtaining „the substantially pure pressor principle in the form of a white, stable,

---

<sup>1)</sup> An investigation carried out under a grant from the Carnegie Corporation of New York.

watersoluble powder 80 times as potent as the International Standard Powdered Pituitary" (and which also „has been shown to be responsible for the diuretic-antidiuretic action of pituitary extracts"); and „the separated oxytocic principle in the form of a white, stable, watersoluble powder which is more than 150 times as potent as the International Standard Powdered Pituitary“.

In the past two years I have again occupied myself with these questions. In case we are dealing with a unitary substance, chemically unstable though it may be, methods may possibly be devised that will enable us to separate such a substance in a state of high purity from gland extracts. In case this cannot be achieved, and only a more or less complete differentiation or separation of three or more active principles is all that we can hope to offer, there would be little justification for maintaining the unitary hypothesis.

The following preliminary account of my work shows, however, that all of the known physiological activities of posterior lobe extracts, as far as assays have been made, are retained by my final „unitary“ product<sup>1</sup>. Very naturally it will not be possible to give here more than the briefest outline of the methods employed.

## METHODS.

### F i r s t   S t e p.

**Ammonium Sulphate Method.** The fresh posterior lobes are ground up finely at the slaughter house with an excess of solid ammonium sulphate, after which a certain amount of saturated solution of the same salt is added, and the grinding is continued until a homogeneous semiliquid paste is obtained. This paste is collected on a Büchner funnel and the residue is pressed as dry as possible and is then stirred up three times with appropriate quantities of a saturated solution of ammo-

---

<sup>1</sup>) No assay of the antidiuretic property has yet been made, but it may be assumed to be a function of the unitary product, in view of the excellent therapeutic results that were obtained in 1928 by administration of one of my preparations of that time in several cases of diabetes insipidus. (See Abel and Geiling: *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 1928, XXII, 317).



mium sulphate, filtered after each stirring, and again pressed as dry as possible. The residue is now extracted three times with 60 per cent alcohol. The combined alcoholic extracts are filtered and to the clear filtrate absolute alcohol is added in small quantities at a time, to the extent of three volumes of absolute alcohol to one volume of the 60 per cent alcohol extract. The resulting voluminous precipitate is collected on Büchner funnels with gentle suction and finally kneaded and pressed on the funnel as dry as possible and set aside to dry in a current of air or in a desiccator.

When dry the precipitate is ground up with an appropriate volume of 90 per cent phenol and the resulting thick syrup or jelly is stirred with cold water until no further precipitate falls out. The precipitate adheres to the bottom and sides of the beaker as a gummy mass. After standing for some days the supernatant liquid, which is devoid of physiological activity, can be poured off and the precipitate dries to a brittle resinous mass which can be pried off from the bottom of the beaker with a sharp spatula and ground up to a fine powder. From 1500 grams of fresh posterior lobes one obtains in this way 50 grams of a dry powder which assays at about five times the standard pituitary powder. Naturally, a very much more active product, equal to about **10x the standard powder**, is obtained when only the first extract with 60 per cent alcohol is utilized. The glandular residue left after the three extractions with 60 per cent alcohol is entirely devoid of physiological activity.

#### Alternative First Step.

After having employed the foregoing method for more than a year as the first step of my procedures I have now discarded it in favor of the following process, which involves less labor as it can be applied to the finely ground and dried posterior lobe preparation of commerce. A dry preparation of this kind, when of good quality, will assay 85 for pressor and oxytocic values as compared with 100 for the international standard powder; less carefully prepared powders may assay at not more than 50 per cent in terms of pressor and oxytocic action.

Twenty-five grams of the dried and finely powdered posterior lobes are ground up to a fine paste in a mortar, imbedded in ice, with a saturated solution of copper acetate in 4 per cent acetic acid (80 gms.  $Cu(C_2H_3O_2)_2 \cdot H_2O$  in 800 cc. of 4 per cent acetic acid). The cooled copper solution is added in small quantities at a time during the grinding process until 165—170 cc. have been added. The process is facilitated by the removal, from time to time, of the finely ground material from the upper part of the mortar. An equal volume of cold water is added to the ground-up mass and the mixture is then coagulated by the addition of 165 cc. of a saturated solution of sodium chloride. After allowing the mass to stand on ice for half an hour or more until flocculation is well advanced the heavy precipitate is collected on a suitable Büchner funnel at the suction pump and pressed as dry as possible. The compact cake is then ground up in a cooled mortar with 165 cc. of cold water, and the mixture, which is kept cold by means of ice, is treated with  $H_2S$  until it is permanently saturated with the gas. Before the  $H_2S$  is introduced, a few small droplets of caprylic alcohol are added in order to prevent foaming. Excess of  $H_2S$  is then removed by means of an air current. Cold absolute alcohol is added to the cold degassed mixture in small quantities at a time until the alcoholic content of the mixture amounts to 65—70 per cent. Even then the copper sulphide remains in colloidal solution, but is readily coagulated on the addition of a small amount of a saturated aqueous solution of sodium chloride. After allowing the flocculating  $CuS$  to subside, the 65—70 per cent alcoholic suspension of sulphide and insoluble proteins is filtered cold and washed with 65—70 per cent alcohol, and  $2\frac{1}{2}$  volumes of absolute alcohol are added to the filtrate plus washings, in small portions at a time, followed by the addition of  $1-1\frac{1}{2}$  volumes of ether. The resulting white, physiologically active precipitate is collected, washed thoroughly with acetone, forthwith ground up and dried in an air current. Assayed against a standard powder, this precipitate will be found to have a pressor and oxytocic value equal to from 6 to  $9x$  that of the standard powder, the variations in titre depending upon the relative excellence of the desiccated gland powder



used in the process and the relative completeness of extraction. The operation described above is easily carried out and this first alcohol-ether precipitate, as a rule, contains 70 per cent or more of the active constituents present in the starting material. The dry precipitate obtained in this way from 25 grams of dried posterior glands varies from 1.95 to 2.05 grams.

The considerable mass of tissue residues plus the *CuS* that has been extracted once with 65 to 70 per cent alcohol, as described above, retains the missing 30 per cent of activity. If it is thought desirable, this precipitate can be ground up with 160 cc. of 65 per cent alcohol, filtered under pressure, the insoluble residue washed with alcohol of the same strength, and pressed dry as possible. The filtrate is precipitated as before with absolute alcohol and ether, washed with acetone and ground up in an air current until dry. This second extraction of the *CuS* precipitate yields an additional 16—20 per cent of active material. A third extraction yields only a relatively small amount of physiologically active material. The three extractions as described give a total yield of active material assaying at 95—97 per cent of that present in the desiccated product employed. For the time being, my associate, Dr. Joseph B. Koepfli, and I are limiting ourselves to the first extraction.

The above copper method has been described in sufficient detail to enable others to carry it out. By means of a single extraction, properly carried out, one is enabled to reduce 25 grams of a desiccated posterior lobe powder to 2 grams or thereabouts of a product whose assay value is 13 to 15 times greater than that of an equal weight of the original material if this be of good quality.

#### Further Procedure.

Newer methods which have been elaborated for the further purification of the active unitary precipitate, as obtained by the use of the copper acetate method, are now being tested in my laboratory and will be described elsewhere in due season. I should like, however, to describe in the barest outline some results that were obtained a year or more ago by methods that were then applied to the further purification of an active



powder, with an oxytocic and pressor value equal to **5—6 $\times$  that of the standard powder**, which had been obtained from the fresh pars posterior by the now discarded ammonium sulphate method.

The reagents employed to carry this unitary substance with a value of, say, **5 $\times$  the standard powder** for both oxytocic and pressor activity to the high level of **50 $\times$  the standard powder** for oxytocic, pressor and melanophore activities were: 90 per cent phenol (i. e., 90 parts of crystalline carbolic acid melted by gentle heat and then mixed with 10 parts of water); syrupy lactic acid (85 per cent lactic acid), acetic acid, alcohol, ether, acetone, phenyl acetate, petroleum ether, saturated aqueous solution of  $NaH_2PO_4$ ,  $NaCl$ . Some of these reagents were employed either as solvents or precipitants in accordance with the requirements of the situation, others, as  $NaH_2PO_4$  or  $NaCl$  as precipitating agents only. At every step of the various manoeuvres, the temperature, degree of acidity, time of exposure to this or that solvent, were found to be of significance. Two dangers had to be avoided, both of which are connected with acidity. Too long an exposure to an acid medium at a certain  $pH$  (which was not accurately determined at the time) caused a partial hydrolysis of the unitary substance so that the final product did not contain the active principles in the same ratio in which they exist in the standard powder, that is to say, a differentiation had taken place. Exposure to too low an acidity, as when a solution of a highly active unitary product was evaporated in an alcoholic solution in an air current at room temperature at  $pH$  that was only slightly on the acid side of neutrality, resulted in the complete, or almost complete, loss of both pressor and oxytocic activity.

Avoiding the dangers referred to, I was able, with the assistance of Dr. Rouiller, to carry the purification of the ammonium sulphate product from **5 $\times$  standard powder** to **40 and 60 $\times$  standard powder**, in five different trials in the year 1929. The following table gives the results of the trials. As a rule we started out with only relatively small quantities of the crude product, say, 5—6 grams, in order not to be delayed too long at any stage of the process. These earlier methods of purification have the disadvantage of giving only a low

yield (10 per cent  $\pm$ ) of the final amorphous unitary product with a value of 50—60  $\times$  standard powder. To give an example: 5 grams of the crude ammonium sulphate powder yielded only 0.0464 of an end product evaluated at 50  $\times$  standard powder, for three activities, oxytocic, pressor and melanophore. In other experiments the final yield was somewhat better so that it is safe to state that a 10 per cent yield of highly active unitary substance can be obtained by the methods referred to. The missing active product is retained by several protein precipitates. These methods are now being replaced by others which will, it is hoped, lead to a higher yield of a still more powerful unitary product.

Unitary Product Assayed against the Standard Powder			
	Blood Pressure $\times$ St. Powder	Oxytocic Action $\times$ St. Powder	Melanophore Activity $\times$ St. Powder
Product from Exp. I	40—50	40—50	—
Product from Exp. II	45	50	—
Product from Exp. III	—	50	—
Product from Exp. IV	50	45—50	50
Product from Exp. V	55—60	75	50

Similar tables could be given of numerous assays illustrative of the gradual rise in activity as purification of the crude product proceeded, as, for example, at stages when both pressor and oxytocic activities assayed at 20, 25, or 30, with the variations permissible in biological tests. A similar table could be constructed illustrative of the fact that certain chemical processes more drastic in character cause a marked differentiation of the activities of the final product, such that its unitary character is lost. In at least two instances the assay values of the final product for pressor and oxytocic activities lay so far apart that the divergence could not be laid to errors in the methods of assay. Thus, in one of these, the oxytocic activity was estimated at 100, while the pressor activity varied from 30—45 times that of the standard powder; in a second instance, the oxytocic activity was evaluated as varying from 120—140, while the pressor activity was lower than 50 and was finally estimated to be „about 25“.



In this connection I may say that my experience leads me to believe that whenever the assay values for the pressor and oxytocic activities of a given precipitate are in close agreement, the precipitate will be found to exhibit all of the other physiological activities of the standard powder in the same ratio. It looks very much as though the weakest link in the unitary molecule is that by which the oxytocic principle is joined to its associates.

In respect to the above assays, it may be stated that both cats and dogs were used in the blood pressure tests. Two of the products, IV and V, were tested on cats by three observers, Dr. K. K. Chen, who made use of the spinal cat, and Messrs. George E. Farrar, Jr. and S. J. Weinberg, whose studies were made with cats that had been anaesthetized with phanodorn. The melanophore tests were carried out by Professor E. M. K. Geiling, who made use of frogs that had been bleached by exposure to sunlight, as also of the so-called silvery tadpoles, whose pituitary glands had been removed. The oxytocic tests were made by Dr. C. A. Rouiller.

What Impurities Still Remain in the  
Unitary Product Whose Activities Are  
Given in the Above Table?

The chief impurities, that is to say, the main physiologically inert constituents that contaminate the product, are proteins of albumose-like character. These, as I estimate, make up 50 per cent, at least, of the weight of the product. This conclusion was arrived at incidentally in the course of many experiments the purpose of which was not primarily the quantitative determination of inert proteins but rather the elaboration of profitable methods for their removal without alteration of the associated unitary principle. The methods employed in dealing with small quantities, as say 60 milligrams, more or less, of a unitary product with a titre of 40-60 times that of the standard powder, may not improperly be called micro-methods. Various inorganic precipitating agents as sodium chloride, sodium dihydrogen phosphate, silver acetate and mercuric chloride, and numerous organic compounds were



utilized in one way or another in these methods. Precipitates and also filtrates had always to be assayed in order to keep track of the unitary substance in its wanderings and to detect the first signs of its hydrolysis. It was often noted that the employment of one procedure or another yielded precipitates of protein character that had an assay value of only 10 to 20 per cent of that shown by the unitary product with which the experiments were started. The rest of the active material was traceable to other precipitates and filtrates, which very often had also retained more or less inert material of peptide nature.

The methods referred to have been given in barest outline, and, while they have not set me very far forward in the way of the further purification of the unitary principle, they have nevertheless served the purpose of showing that, taken at its best, it is still contaminated by inactive proteins to the extent of at least 50 per cent. The accuracy of this estimate will be checked later by comparison with the results obtained by methods of analysis that are destructive of the activities of the unitary principle but not of the chemical integrity of proteins.

#### A Crystalline Compound Present in the Unitary Compound and in Pitressin.

Aside from inert proteins and possibly a little ash, the unitary product appears to contain at least one other foreign substance in appreciable amount. This is a beautifully crystalline organic compound containing nitrogen and occurring in colourless, glittering prisms, with a melting point of  $179^{\circ} \pm$ . Dr. J. B. Koepfli has found that it is best recrystallized by dissolving it in the least quantity of absolute methyl alcohol, adding three volumes of acetone, and allowing the solution to stand in a closed flask. The base is soluble in water, in ethyl alcohol, in acids, in solutions of  $Na_2CO_3$  and  $NaHCO_3$  and does not evolve ammonia even on exposure of several days to ten per cent sodium hydroxide; it does not give the biuret, ninhydrin, Pauly, or Millon reactions. It is devoid of pressor, oxytocic, melaphore or antidiuretic activity. I have known of the presence of this base in my final products for more

than two years and would here report that it is also present in appreciable amount in pitressin solutions, from which it is easily separated in crystalline form. The compound will be more fully described at a later date when its physiological properties shall have been more fully studied and when it shall have been determined whether it is a new constituent of the pituitary gland or only one of the previously isolated constituents of the animal organism.

Some Other Ideas in Respect to the Unitary Substance Versus the Present Conception that the Posterior Pituitary Contains Three or More Separate Hormones.

I.

I would here point out that, although the unitary substance described above is still contaminated to the extent of 50 per cent with an inactive protein, not to speak of the very much smaller amounts of the crystalline base just described, there is no reason to believe that, given enough material, it will be impossible to remove these impurities so that a final unitary product will be obtained which comes close to being a chemical individual. My associate, Dr. Joseph B. Koepfli, and I are now engaged in this problem of the further purification of the crude unitary substance as obtained by the new copper method. Recently we have worked out a second step which involves the use of ethanolamine picrate as a precipitant. This agent was added to an alcoholic solution of the unitary principle and the picrates thrown out by it were decomposed in alcohol by addition of an alcoholic solution of free ethanolamines<sup>1</sup>). This second step removes inactive crystalloids but does not greatly raise the activity of the product. A third step involves the use of mercuric chloride in an alcoholic medium for the partial removal of inactive proteins

---

<sup>1</sup>) I am under obligation to Dr. Ralph B. Trusler, Industrial fellow at the Mellon Institute for kindly supplying me with some of his „Triethanolamine“, a mixture containing approximately 75–80 per cent of triethanolamine, 20–25 per cent of diethanolamine, and 0,5 per cent of monethanolamine.



and, by this method, which calls for great attention to acidity, temperature, etc. in order to prevent inactivation or differentiation, we were able to carry the value of the unitary substance from 8 or 9 to from 30—35 times that of the standard powder and with a much better final yield than was obtained by fractional precipitations with various organic precipitants as described in the earlier sections of this paper. It is our intention to carry on the purification of the unitary substance along these lines.

## II.

The unitary substance, contaminated as it still is to the extent of 50 per cent or more by inert proteins, is readily decomposed into several active components. A small quantity of the unitary preparation V, whose assay value for pressor, oxytocic and melanophore activities is given in the above table, was dissolved in a few cubic centimetres of 0,25 per cent acetic acid and refluxed in a small apparatus for 1 $\frac{1}{4}$  hours at boiling temperature. The solution was then transferred to a small, shallow bowl and evaporated to dryness in an air current. The residue contained some radiating fern-shaped crystals but was otherwise of amorphous character. It was exhausted with minimal quantities of water. About one quarter, more or less, of the residue remained undissolved as a gum-like mass which gives an intense biuret reaction and retains but little physiological activity. The few cubic centimetres of aqueous extract were precipitated cold and as rapidly as possible with a saturated solution of  $NaH_2PO_4$ . The precipitate thus obtained was exhausted with 90 per cent phenol and the phenolic extract precipitated cold in the usual manner with acetone. When the resulting white powder was assayed against the standard powder it was found that a differentiation of activities had occurred. The values for vasopressor, oxytocic and melanophore activities were found to be respectively 75, 12 and 5. The melanophore activity was not determined on numerous frogs as it was apparently much lower than the oxytocic activity. Injection of 0,5 c. c. of a 1:2000 dilution into the lymph sac of a bleached frog of average size caused



no decided darkening of the skin in the course of an hour. Infection of one twentieth c. c. of the stock solution, containing 0,1 milligram of the acetone precipitate per c. c., however, caused intense darkening of the bleached frog. The melanophore activity of the precipitate was, therefore, relatively small as compared with its vasopressor activity and could not have been more than 5 x standard powder. Expressed in terms of a ratio the relative activities of the acetone powder obtained after boiling the unitary substance with an acid are as 100:16:7, the first number representing the vasopressor, the second the oxytocic and the third the melanophore activity of the powder.

Now product V had also been subjected in the final stage of its preparation to a single precipitation with  $NaH_2PO_4$ , as had other specimens of the unitary substance, and this without differentiation of its physiological activities. It will be noted that preparation V, as is shown in the above table, had an assay value of 55—60 for vasopressor, of 75 for oxytocic, and of 50 for melanophore activity. These values, taking into consideration the instability of our unitary substance, as also the experimental errors inherent in our biological assay methods, approach much more nearly to equality than is the case after the unitary substance has been hydrolysed.

Preparation IV, with a vasopressor value of 50, an oxytocic value of 45—50, and a melanophore value of 50, which values it will be seen stand in the relation to each other as 100:100:100, was also subjected to boiling with 0,25 per cent acetic acid for one hour and twenty-five minutes, but the aqueous extract of the dry residue after boiling was precipitated with saturated  $NaCl$  and the filtrate saturated with finely powdered  $NaH_2PO_4$ . The  $NaH_2PO_4$  precipitate thus obtained received a somewhat different treatment from that given to the analogous precipitate of product V, with the result that the final acetone product showed a higher protein content and a relatively lower content of active principles. Nevertheless, the differentiation in activity was fully as great in this case as in the experiment with preparation V. The vasopressor activity was assayed at 35, the uterine activity at 5, while the melanophore activity was not determined.

The results of the above experiments, it would appear to the writer, can only be explained on the supposition that when the unitary product is boiled with an acid of appropriate strength, it is split up into three or more physiologically active components. The methods utilized above are of value only in establishing this point and have now been discarded in part.  $NaH_2PO_4$  can be used only in a limited way because of its high acidity, not to mention other disadvantages. I have come to the conclusion that this reagent will not precipitate any of the physiologically active cleavage products of the entire absence of proteins; in the presence of proteins, however, it always precipitates vasopressin to a much greater extent than the other active split products.

### III.

At this point it may be in place to say a word in relation to the antidiuretic action of the unitary substance, described above. I assume that this action is a property of this unitary substance just as it was shown definitely in 1923 to have been a property of two of the unitary products described by myself and my co-workers that had not been partially hydrolysed by repeated treatment with tartaric acid. This was proved in two hospitals<sup>1)</sup> by the efficacy of the products in reducing the output of urine in human diabetes insipidus.

The mouse-method for determining the antidiuretic value of a pituitary preparation which has been recently worked out by Professor O. S. Gibbs in this laboratory places at our disposal a means of deciding between two possible alternatives regarding this important action: (1) Is this action a property solely of the intact unitary substance? (2) Or is it a property that remains quite unaltered after hydrolysing, i. e. boiling the unitary substance for an hour or more with 0.25 per cent acetic acid? In the event that experiment should prove that only alternative (2) is tenable, we should then have four known physiologically active split products of our unitary hormone, namely, (1) a vasopressor, (2) an oxytocic, (3) a melanophore

---

<sup>1)</sup> Abel and Geiling, *J. of Pharm. & Exp. Th.*, 1923, vol. XXII, p. 317.



and (4) an antidiuretic substance. This question of a fourth active cleavage product will presently be put to the test of experiment in this laboratory.

#### IV.

I can best summarize my present views on the question of posterior pituitary active principles by expressing them in the form of an equation. Let  $U$  represent the unitary molecule composed of three or four active principles united to each other in some form of union which yields as readily to hydrolysis as does the „peptide linkage“ of numerous biochemical compounds.

Let  $V$  = the pressor cleavage product,  
 Let  $O$  = the oxytocic cleavage product,  
 Let  $M$  = the melanophore cleavage product,  
 Let  $Ad$  = the antidiuretic cleavage product,  
           with the reservations made above,  
 then,

$$U + H' = V + O + M + Ad.$$

On this view we should be dealing with a unitary product which may provisionally be compared to a peptide though we can not be certain that it will give the biuret reaction when it shall have been isolated as a chemical individual, nor that the four (?) active cleavage products postulated above, constitute the entire molecule.

Opinions in Respect to the Probable Physiological Activity of  $U$ -the Unitary Product-and Its Cleavage Products, Expressed in Terms of the Standard Powder.

#### I.

##### The unitary product.

It has been shown that the specimens of  $U$  described in this paper have an activity which, at its best, now varies from 50 to 60 times that of the international standard for  $V$ ,  $O$ , and  $M$  (the three activities for which they were assayed), and that these activities are retained by separate cleavage



products after *U* has been subjected to hydrolysis. Whether *Ad*, the antidiuretic property of *U*, can also be retained as a property of a fourth cleavage product remains to be demonstrated.

It was also shown that *U*, as above described, is still contaminated, as nearly as can be determined at the moment, with inactive proteins to the extent of 50 per cent. Let us assume that this 50 per cent of protein and also the crystalline contaminant referred to above are removable without alteration of the relative assay values of the vasopressor, oxytocic, melanophore and antidiuretic activities of *U*, an assumption that I have every reason to believe is well founded. In this case *U* would show an activity equal to **100 × standard powder** for each of its activities. After hydrolysis, however, each of its three known cleavage products, in case their respective molecular weights do not differ greatly from each other, would have a value of 300 times the standard powder. In case of the existence of a fourth active cleavage product — an antidiuretic substance — this value would be proportionately enhanced and might reach the value of 400 times the standard powder for each of the assumed four cleavage products. The views outlined above receive strong support from the following considerations.

Seven years ago, as was stated at the beginning of this paper, there appeared from this laboratory a paper which showed that my pituitary tartrate of that time had an oxytocic action 1250 times stronger than that of the acid phosphate of histamine. Translating this value in terms of the international standard powder, which was not yet in use at that time, we find that the pituitary tartrate in question had an oxytocic value equal to 166 times that of the standard powder. In passing it may be remarked that the oxytocin (pitocin) of Kamm and his associates is stated to be „more than 150 times as potent as the international standard powdered pituitary“. Certainly, then, this earlier product of this laboratory was fully as potent, if not more so, than the preparation called oxytocin. It was not claimed that my highly active tartrate was a pure substance. The work of the past two years has convinced me that it must still have contained an unknown

amount of inactive proteins, as also more or less of the crystalline base of unknown character referred to above. It also barred pressor and melanophore activities, though, as may now be admitted, not in proportion to its oxytocic activity. It is probably fair to assume that the inert protein plus the unknown base plus the fractions of pressor and melanophore cleavage products present in that highly active tartrate amounted to about 50 per cent of its weight. In that case a perfectly pure oxytocin cleavage product of *U* would have a potency of at least  $166 \times 2 = 332 \times$  the standard powder, a value which is approximately of the same order of magnitude ( $300-400 \times$  standard powder) as that which is presently to be provisionally attributed to each of the other cleavage products of *U*.

## II.

### Pitocin.

These calculations find support from a preliminary analysis of the oxytocin (pitocin) solutions of Kamm and his associates. It is admitted that this product contains only small amounts of the other active cleavage products of *U*, or rather perhaps a small amount of unhydrolysed and still intact *U*. It still, however, contains a very considerable amount of inert albumose-like substances which have not been quantitatively determined. The inert residue found when 210 cc of pitocin were evaporated to dryness without injury was much less than that present in an equal volume of pitressin solution. It is of interest to know that the water-soluble part of the residue throws down only a negligible amount of oxytocin on saturation or near saturation with  $NaH_2PO_4$ . Pitressin always falls out in greater proportion in presence of protein than does pitocin when subjected to this precipitating agent, as was stated above.

The pitocin at my disposal was stated to have been „adjusted to contain in each cubic centimetre 10 international units“ and „less than  $\frac{1}{2}$  unit of pressor activity“. The dry residue of 5 cc. of the product weighed 1.4 milligrams on the micro-balance. This amount of residue, by definition, would have an oxytocic value equivalent to that of 25 milligrams



of the standard powder. In other words, the pitocin residue is, weight for weight, only 18 times more powerful than the standard and contains, according to my estimates, only about 6 and certainly less than 10 per cent, of oxytocin regarded as a chemical individual. It is safe to predict that when this principle shall have been isolated as a pure product from the above mixture, it will fall in line with the above estimates in respect to its assay value which should be from 300—400 times that of the standard powder.

### III.

#### Pitressin.

Secondly, my estimates receive strong support from the results of some preliminary analyses of the vasopressin (pitressin) solutions of Kamm and his associates which were made in the autumn of 1928. Considerable quantities of this material which were stated „to contain less than one unit of oxytocic activity in each cubic centimetre“ and which had been „adjusted to contain 20 pressor units in each cubic centimetre, one pressor unit being equal to 0.5 milligrams of standard powder“, were purchased in Baltimore at that time. It will be recalled that vasopressin was believed to be „the substantially pure pressor principle ( $\beta$ -hypophamine) 80 times as potent as the international standard powdered pituitary“, and that it was thought to be „responsible also for the diuretic-anti-diuretic action of pituitary extracts“.

The product was analyzed with the purpose of obtaining an approximate idea of the amount of inert material present in it. I regret to say that my records of the amount of dry residue present in each cubic centimetre of the commercial solution employed by me in 1928 have been lost and that I cannot here give its assay value per milligram of dry matter. I have, however, again determined the dry residue of a commercial pitressin solution which was purchased a few months ago 8. On concentrating 5 c. c. in a tightly closed, dustless hood to about one quarter c. c. at room temperature and then drying in *vacuo* over  $CaCl_2$ , and weighing on a micro-balance, it was found that the residue weighed 3.16 milligrams. Anhydrous ether removed from it only 0.03 per cent of what appeared



to be lipoidal matter, part of which was no doubt derived from the ether itself.

Inasmuch as the 5 c. c. of pitressin had been adjusted to contain 20 pressor units in each c. c. and since one pressor unit has a blood pressure raising power equivalent to that exhibited by 0.5 milligram of the international standard powder, it follows that the 5 c. c. contained 100 pressor units equivalent to 50 milligrams of the standard powder in pressor value, and, since no physiologically active volatile agent was present, it again follows that the 3.16 milligrams of dry residue contained 100 pressor units and 1 milligram 32 pressor units. Expressed in terms of equivalent weights of standard powder, as is the custom in this laboratory, rather than in terms of an arbitrary unit such as the „pressor unit“ of Kamm, the dry residue of pitressin has a pressor value which is only 16 times greater than that of the standard powder. It may not be out of place here to call attention to the fact that my still impure unitary product has a pressor activity which, at its best, is more than 300 per cent greater than that of commercial pitressin while still retaining its full equivalent of oxytocic activity.

Two hundred cubic centimetres of pitressin and more, the total acidity of which had been determined previously, were almost neutralized in the cold with  $N/10 NaOH$ , 50 milligrams of ammonium acetate were added, and with this as buffer material, the solution was evaporated in very large shallow petri dishes or watch glasses in a strong current of air. Preliminary experiments had shown that this manoeuvre could be carried out without injury to the vasopressor principle. When the residue was dry or very nearly so, it was taken up by repeated extraction with very small amounts of water and filtered. One is surprised to see how relatively large an amount of a denatured protein or proteins remains undissolved, though considerable amounts of protein are also taken up by the water. This protein residue retains very little pressor activity.

To the aqueous extract finely powdered  $NaH_2PO_4$  was added in the cold until no further increase of a stringy albumose-like precipitate was obtainable. The inactive proteins present in this precipitate, as also every trace of vasopressin,

can be extracted from it with 90 per cent phenol. From the phenolic extract they are recovered as dry products by precipitation in the cold with organic solvents such as dry ether or acetone. The physiologically active dry powder gives the biuret reaction with great intensity, and while it has a very considerable pressor action it must nevertheless be assumed to contain a large amount of inert proteins in view of the well known power of saturated solutions of  $NaH_2PO_4$  to precipitate substances of that character, as is well illustrated in the behavior of my unitary products toward this reagent. The further treatment of the products here described — a treatment involving what I may call micro-methods of precipitation, filtration and extraction — need not be given here. It may be remarked, however, that in the further course of purification of this and other lots of vasopressin, by means of these methods, still more inert protein than that first deposited could be removed.

The beautifully crystalline base already mentioned as contaminating my own unitary product was also found to be present in weighable amounts in the pitressin solutions and to constitute an appreciable fraction of the total dry residue.

In accordance with my experience with my own products I do not hesitate to say that the  $NaH_2PO_4$  precipitate described above did not consist solely, or even mainly, of active constituents, but was composed to a large extent of inactive proteoses or peptides, as was the case with the analogous  $NaH_2PO_4$  precipitate of my best unitary products, the pressor value of which varies from 50—60 times the standard powder. We have then to subtract from vasopressin several inactive residues, all of which give the biuret reaction and which, as far as can be judged by their relative mass and without having been weighed, make up a very considerable proportion, surely not less than 50 per cent of the dry weight of the pitressin solutions. We have also to bear in mind, as will be more fully considered later, that pitressin solutions exhibit several distinct activities, each of which is no doubt confinable to a separate chemical entity by hydrolysis.

By the use of various solvents and precipitants as acetic acid, 90 per cent phenol, phenyl acetate, acetone, alcohol and



ether, a little of a much more highly active vasopressin than has hitherto been described was obtained. This product was not tested for melanophore and antidiuretic activities as no effort was made to keep all of the activities of pitressin together, nor was I particularly concerned at the time with the problem of obtaining the vasopressin as a chemical individual. The small quantities of material at my disposal at the time would have militated against the successful outcome of the effort. Nevertheless, it is of interest to note that one of two still impure vasopressin preparations, when injected intravenously in the minute dose of 0.0001 milligram into two cats, anaesthetized with phanodorn, and weighing respectively 2.30 and 2.35 kilos, raised the arterial pressure of each cat to the extent of 30 millimetres of *Hg*. The second preparation caused an elevation of the arterial pressure of 26 *mm*, on being injected in a dose of 0.0001 milligram, thirty minutes after the injection of the first preparation. This considerable rise of pressure was in every particular similar to that induced by a good pituitary preparation. Unfortunately, in the course of the four hours and more during which the experiments were carried on, only an approximate standardization could be achieved as we had not early enough injected comparable pressor doses of the standard powder. However, it was conservatively estimated that the two vasopressor products injected in doses of 0.0001 milligram had an assay value of 240 and 210 respectively. As opposed to this high value, which is certainly far below the real value, it may be recalled that Kamm and his collaborators state that their „substantially pure pressor principle is 80 times as potent as the standard pituitary powder“. I repeat that this active product was not a pure chemical individual.

The pitressin of Kamm and his co-workers possesses three physiological activities, two of which, at least, cannot, according to my own studies, belong to the vasopressor cleavage product itself. I have shown above that, after hydrolysis of the unitary principle, U, its pressor cleavage product can be obtained by a single precipitation and without further purification so that it is contaminated by only about 16 per cent of the oxytocic, and by much less of the melanophore cleavage product. Pitressin differs from my unitary product as regards its physiological



activities (leaving out of consideration here the matter of inert by-products) in this respect: Pitressin is relatively free from oxytocic activity, but this activity is a function of my unitary product, where its value, relative to the other pituitary activities, is exactly equal to that of the standard powder. In a word, pitressin has vasopressor, antidiuretic and melanophore activities, which three activities stand in the relation to each other of approximately 1:1:1, as will be shown later, while my unitary substance carries four activities, vasopressor, antidiuretic, melanophore and oxytocic, whose relation to each other may be represented by the ratio 1:1:1:1. Three of these activities then are common to both pitressin and the unitary substance.

Here I may interrupt my argument to state that in my opinion the reason that Kamm and his co-workers have always found a certain per cent of oxytocin in their vasopressin and contrariwise, a certain though smaller proportion of vasopressin in their oxytocin is best explained on the theory of an incomplete hydrolysis of the original unitary substance by their treatment with acetic acid and ether, so that a small amount of unaltered unitary substance remains undecomposed. In support of this conjecture I would call attention to the fact that pitocin solutions exhibit a melanophore activity which is often very marked when small or medium sized frogs are injected with 0.5 c. c. of a 1:50 dilution. This amount represents no inconsiderable fraction of the melanophore principle present in 0.5 c. c. of a 1:4000 or 1:5000 dilution of pitressin—at which dilutions pitressin is effective in expanding melanophores, but hardly more so, than a 1:50 dilution of pitocin. No study of the antidiuretic activity of pitocin has yet been made with sufficiently large doses to exclude its presence.

#### The Antidiuretic Action of Pitressin.

As we have seen, Kamm and his associates claim that the pressor principle is responsible for the antidiuretic action of pituitary extracts, and their words can only be interpreted as meaning that both the pressor and antidiuretic activities are properties of a single chemical entity. In accordance with this view physicians have been advised „that pitressin is indicated

especially in diabetes insipidus". That pitressin solutions have an antidiuretic action cannot be questioned, I believe, in view of the corroborative results recently obtained in this laboratory by Professor O. S. Gibbs (4) in tests that were made by his new mouse method. He makes the following statements in respect to his findings: „I have roughly tested the activity of oxytocin, and of vasopressin kindly supplied me by Dr. Kamm. As will be seen, oxytocin contains little if any antidiuretic activity while the vasopressin is active. A sufficient amount of date is not available to determine accurately whether the antidiuretic property is strictly in relation to the pressor property; so far no striking distinction has appeared in the few tests I have conducted“.

It is admitted then that pitressin solutions carry antidiuretic activity in practically the same proportion as vasopressor activity, as was first shown by Bugbee (3) in 1928.

The belief of Kamm and his associates that both antidiuretic and vasopressor activities are properties of one and the same preformed hormone find, however, no support in the studies of Bijlsma, Burn and Gaddum (5) who have „shown that the antidiuretic effect is not due either to the pressor or the oxytocic principle“, and who suggest that the antidiuretic effect is due to a third principle. From my point of view this third principle would be merely a third cleavage product of the unitary principle and not a preformed constituent of the pituitary gland. I hope in due season to put this theory to a practical test by hydrolysing the unitary principle and searching for a separate antidiuretic cleavage product.

#### The Melanophore Activity of Pitressin

I have already given it as my opinion that this activity can be confined by hydrolysis of U to a separate cleavage product. Rowe (6) has given an account of the contradictory opinions of previous investigators as to whether the melanophore activity is a property of the oxytocic or of the vasopressor „principle“. The work of this author seems to me to prove, and our studies in this laboratory corroborate his conclusions, that oxytocin (pitocin) solutions do not stimulate frog melanophores except when injected in dilutions of 1-50.



Vasopressin (pitressin) solutions, however, stimulate frog melanophores very decidedly in dilutions of 1:4000 and on this point, also, I am in entire agreement with Rowe (6) as also with his suggestion „that the melanophore constituent may be a separate principle“ with the reservation, however, that it is to be designated a cleavage product of the unitary principle and not a preformed principle.

Rowe (6) finds that the melanophore stimulating action of vasopressin solutions „is apparently to an appreciable degree less than that of a pituitary extract of the same potency“, and states further, „that the difference in favor of the pituitary extract seems to be about 20 to 25 per cent“. His discussion in respect to the difficulties inherent in the methods of testing melanophore activity, from the point of view of quantitative measurements, is eminently fair and unprejudiced. I cannot help regretting, however, that he did not also make use of hypophysectomized tadpoles in addition to bleached frogs and thus have two standards for comparison. In view of the very high melanophore activity of vasopressin solutions I am not yet prepared to accept his conclusion that such solutions are actually less powerful to the extent of 20 or 25 per cent than pituitary extracts of equal pressor activity. The results obtained with bleached frogs should be checked against those obtained with „silvery tadpoles“ before we can be quite sure that the assumed divergence in melanophore and vasopressor potency of pitressin solutions is not due to the quantitative inadequacy of our present methods for testing these activities.

It has been shown that vasopressin (pitressin) solutions are not solutions of a „substantially pure pressor principle“ as Kamm and his associates (3) believed them to be. On the contrary such solutions represent only a more or less refined pituitary extract from which the oxytocic principle has been largely or almost entirely removed as the case may be. In view of the preliminary studies outlined above I infer that the oxytocin has been removed by the hydrolytic action of the acetic acid employed by Kamm. What is left in the pitressin solutions still contains the antidiuretic and melanophore activities in addition to the vasopressor activity as has already been pointed out. These three activities of pitressin stand in



a relation to each other that certainly varies little from the ratio 1:1:1. That these three physiological activities, two of which can be confined to separate chemical entities after hydrolysis, (and the third of which is likely also to be a function of a third cleavage product), should all be found in this singular ratio in the same ether precipitate, if they originally existed as three separate principles, is rather surprising.

My work of the past two years convinces me that a complete or even partial differentiation of separate principles can only be effected by organic solvents when the unitary principle has first undergone a more or less complete hydrolysis. I suspect therefore that pitressin solutions do not contain two or three separate, preformed principles, but that their physiologically active constituent is in reality a larger molecule with multiple activities and represents what is left of the unitary principle U as the result of a partial hydrolysis leading to the removal of the most easily separable cleavage product — oxytocin. From this point of view pitressin differs from my unitary principle in that it is the carrier of three activities, vasopressor, antidiuretic and melanophore, while the unitary principle carries four activities: vasopressor, antidiuretic, melanophore and oxytocic, standing in the relation to each other as 1:1:1:1. Inasmuch as the three activities of pitressin solutions stand in relation to each other in about the ratio of 1:1:1, it is assumed that these solutions originally contained an undecomposed molecular-complex which differs physiologically from my unitary principle only in having lost its attached oxytocin as the result of a partial hydrolysis. During sterilization of pitressin with application of heat (if this procedure was employed) the assumed unstable active molecule would naturally fall apart, more or less completely, with the appearance of three active fragments. This hypothesis, as to the unitary, or largely unitary, character of pitressin as originally precipitated by Kamm and his associates, can readily be put to the test of an experiment in which, however, all further hydrolysis must be carefully avoided.

However this may be, it remains a fact that the vasopressin solutions of Kamm and his associates contain a very high percentage of inert material, as was shown above, in

addition to the carrier or carriers of its physiological activities. In consequence, there can be little doubt that if a single physiologically active cleavage product, as say pure vasopressin, were to be isolated from this mixture, it would be found to have an activity of 300—400  $\times$  standard powder, in agreement with the estimate that has already been made in preceding pages from other points of view.

The facts adduced in the preceding pages and the concepts that have been formulated relative to them may best be recapitulated in the form of equations whose symbols have already been defined. The  $\square$  on the right hand side of equations 1 and 2 is meant to designate the unitary character of the enclosed product.

$$1. U, \text{ the unitary principle in a pure state} = \square V-O-M-Ad$$

$$2. \text{ „Pitressin“ as first precipitated, probably} = \square V-M-Ad$$

$$3. U + H' = V + O + M + Ad?$$

$$4. \text{ „Pitressin} + H' = V + M + Ad?$$

#### Remarks in Relation to the „Pituitary Tartrate“ of 1923.

In the autumn of 1926 and the winter months of 1926—27 Dr. M. L. Tainter very kindly repeated my earlier work of 1920—23. It was found that the mercuric chloride method as applied to the fresh posterior pituitary was serviceable only when 100 grams of fresh material were worked up at a time and much less so with larger quantities. Tainter's work, which was not published, showed conclusively that while the active product obtained by this method was at first unitary in character it later became differentiated when it was treated with strong acids. One of his products, a tannate containing much  $NaCl$  was repeatedly exhausted with a saturated solution of tartaric acid in 93 per cent alcohol and precipitated with ether, the precipitate being again taken up in the tartaric acid solution and again precipitated with ether, the process being repeated five times. The final precipitate had now become so far differentiated as to be purely pressor in character. On the other hand it was found that the filtrates, on proper treatment, yielded an oxytocin that was devoid of pressor action. These preparations were, however, still contaminated by inert proteins and crystalloids. These unpublished findings of Dr. Tainter



were obtained before the appearance of Kamm's paper in February 1928, and they taught me to be more careful in future efforts to raise the unitary product to a higher level without differentiation of its activities.

It may be thought that Tainter's prolonged treatment of his tannate with tartaric acid, alcohol and ether, served only to facilitate the separation of two preexistent chemical individuals from each other and that there is little justification for the belief that a unitary product was hydrolysed by that treatment. Against this view it may be urged that acids are not required for the separation of cleavage products once these have been liberated from the unitary product on boiling it with 0.25 per cent acetic acid. It is also hard to understand why a unitary product can be precipitated out of an alcoholic solution by means of a mixture of ethanolamines, if the various „active principles“ exist as preformed individuals, especially in view of their ready solubility in alcohol. Lastly, various acids, under proper safeguards, are repeatedly used in the preparation of my unitary product without differentiating it—a result that could not be attained, it appears to me, if the various activities of post-pituitary extracts are originally confined to several individuals, which inevitably undergo a separation when they are subjected to the mere solvent action of acids and organic fluids.

References to the papers of those investigators who have criticised the work of myself and my associates that appeared in 1923 will be found in the paper of Kamm and his coworkers. The criticisms of our work there summarized are justified only in so far as they concern the final tartrate with an oxytocic titre of 1250 times that of the acid phosphate of histamine or expressed in terms of the standard powder, which was not then available, with an oxytocic value 166 times greater than that of the present standard powder. The criticisms do not hold for the tartrates of lower assay values which were still completely unitary in character. On page 311 of my paper with Geiling and Rouiller will be found the results of experiments, in which a tartrate with an oxytocic titre of 160 times that of histamine acid phosphate was matched against an aqueous extract of the posterior lobe, for oxytocic, pressor



and diuretic values. I do not recall the concentration of the aqueous infundibular extract used in the experiments, if indeed it was thought worth while to determine it, but that there was a singular correspondence between three physiological activities of the tartrate and corresponding volumes of the aqueous extract employed can not be doubted. These early results which were obtained with the tartrate referred to above are fully confirmed by the facts presented in this paper. I can only regret that these experiments of 1923 were not given in the form of a table with data as to the concentration of the aqueous infundibular extract employed in place of the present extract of the standard powder.

In conclusion I would observe that I have not hitherto taken into consideration either the hyperglycemic action on the lipid altering agency of posterior pituitary extracts and the connection of these activities with the unitary principle and its cleavage products.

#### General Summary and Conclusions.

1. I have endeavored to show in this paper that it is possible to prepare a unitary pituitary product in the form of a colorless dry powder readily soluble at room temperature in 0.25 per cent acetic acid which retains all of the known physiological activities of the international standard pituitary powder and in the same relative proportions in which they exist in the standard powder, but with such an increase in potency that the product is from 50 to 60 times as powerful as the standard for the three activities for which it has thus far been assayed.

2. The unitary product as described is still contaminated to the extent of about 50 per cent with inert albumose-like proteins and also contains a small amount of a beautifully crystalline physiologically inactive base which has not as yet been identified. This base is also present as a constituent of that mixture of inert and active ingredients known as vasopressin, or pitressin, which, while carrying less than 10 per cent of oxytocic activity, has a vasopressor activity that is about one third that of my admittedly still impure unitary product at its best.

3. The unitary product can be hydrolysed by boiling for an hour or more with a solution of an acid whose *pH* is equal to that of a 0.25 per cent acetic acid, with the result that several physiologically active but chemically different cleavage products can be roughly separated by a few simple operations.

4. Taking into consideration the amount of inert components still present in the unitary substance with a value of 50—60 times the standard powder for each of its activities, and the ease with which it can be converted by hydrolysis into a number of physiologically active and dissimilar cleavage products, it seemed worth while to venture a probable estimate of the ultimate or maximum assay value of the cleavage products considered as chemical individuals. The calculations made receive support from a critical analysis of vasopressin (pitressin) and oxytocin (pitocin) to be given presently. It is estimated that, considered as pure cleavage products, the pressor principle, oxytocin, and the rest, will have an assay value of 300—400  $\times$  **the standard powder**, on the assumption that these cleavage products have molecular weights which do not differ too widely from each other. This estimate receives strong support also from an earlier paper from this laboratory in 1923 in which a pituitary tartrate was described which at the lowest assay was equal in oxytocic potency to 1250 times its weight of the acid phosphate of histamine, or, translated into modern terms, equal to 166 times its weight of the present standard powder. The work of the past two years shows that my pituitary tartrate of 1923 could well have been contaminated by non-oxytocic, physiologically active constituents to the extent of 50 per cent, more or less. On this assumption we may set down the probable assay value of pure oxytocin to be in the neighborhood of  $166 \times 2 = 332 \times$  **that of the standard powder**.

5. Incidentally, a critical analysis based partly on preliminary studies of my own, and in part on the cited work of others, was made of the pitressin solutions of Kamm, Aldrich, Grote, Rowe and Bugbee from which the following conclusions were drawn: These solutions do not contain a single physiologically active principle of vasopressin, but carry three different activities in about equal proportion, namely, (1) vasopressor, (2) melanophore, (3) antidiuretic. Two at least of these



activities, the vasopressor and the melanophore, can be confined to dissimilar split products by hydrolysis, and this may be found to be true also of the antidiuretic property. It is suggested that the three activities are confined, at the time when pitressin is precipitated by ether, to a single molecule representing the larger part of the unitary substance after a partial hydrolysis in which oxytocin alone was for the main part removed. It was also shown that pitressin is contaminated, to a very large extent, with albumose-like, inactive proteins, and to a smaller extent with a crystalline base of at present unknown character. While the amount of these impurities was not quantitatively determined, it is, nevertheless, estimated to constitute at least 50 per cent of the dry weight of pitressin solutions.

Summing up these points it may be said that, while Kamm and his associates are to be credited with having separated oxytocin as a cleavage product of the unitary principle, the conclusion is nevertheless unavoidable that their pitressin, as at present constituted, is a heterogeneous mixture of inert and active products and therefore far removed from being a solution of „the substantially pure pressor principle“ as they supposed it to be. It constitutes in reality only a more or less refined pituitary extract which has been deprived of its oxytocic activity while retaining the three other activities characteristic of such extracts, together with a small amount of the undecomposed unitary substance.

Since pitressin contains so large an amount of inert material it becomes at once apparent that its several active constituents, once they have been isolated, will each approach more or less closely in assay value to the probable estimate given above, namely, 300–400 times that of the standard powder. I am fortified in this belief by the results of a preliminary analysis of the product, in the course of which I obtained a pressor principle which, while it was still far from being a chemical individual, nevertheless had a pressor value that was certainly not less than 240 times that of the standard powder. Kamm and his associates state that pitressin has a pressor value equal to 80 times that of the standard powder. I estimate that the pitressin solutions at my disposal in 1928



could not have contained even as much as 10 per cent of pure vasopressin.

The commercial oxytocin of Kamm and his associates has also been shown above to be far removed from being a chemical individual and is estimated to contain less than 10 per cent of the pure principle.

6. As time and material at my disposal permit, I hope to carry on my work on the further purification of the unitary product described in this paper. Very naturally, its physiologically active cleavage products will also be studied. I can see no reason for believing, given sufficient material, that the remaining 50 per cent of inert material can not be removed from it, without at the same time disturbing the relation of its several physiological activities to each other, that is to say, without injuring its unitary character. Preliminary trials indeed have recently yielded small quantities of the unitary substance that approximated to the value of **100  $\times$  the standard powder**. If further experiments confirm the results of these preliminary trials, it may possibly turn out that the purified unitary substance with a value for all activities in the neighborhood of **100  $\times$  the standard powder** may be induced to fall out of solution as a crystalline chemical entity. It will probably be regarded as unlikely that this eventuality will ever become a reality, but this outcome is worth striving for in view of the importance of the problem

In any event it must be apparent that with increasing purification of the unitary product, its physiologically active cleavage products, vasopressin, oxytocin and the others, must show a correspondingly higher assay value versus the standard powder. It will also be admitted that the chances of crystallizing these active cleavage products, which my studies lead me to believe are all of non-protein character, become increasingly favorable as the unitary principle approaches more closely to individuality.

My sincere thanks are due Professor E. M. K. Geiling, Drs. C. A. Rouiller, M. L. Tainter, K. K. Chen, O. Wintersteiner, J. B. Koepfli and Rosenfeld, the Messrs. Weinberg, Farrar and Miss De Lawder, each of whom has given me valuable assistance at one time or another during

the past two years, sometimes in the chemical operations and again in making hundreds of bio-assays of precipitates and solutions. Grateful acknowledgment is also made to the officials of the Research Laboratory of Armour and Company of the generous donation of costly material and to the Carnegie Corporation of New York for a liberal grant, without which it would have been impossible to carry on the work outlined above or to continue that now in progress in this laboratory on other hormones.

---

## REFERENCES

- (1) Abel, John J., Rouiller, Chas. A., and Geiling, E. M. K.: Further investigations on the oxytocic-pressor-diuretic principle of the infundibular portion of the pituitary gland., *Jour. Pharmacol. and Exper. Therap.*, 1923, XXII, 289.
- (2) Oliver, G. and Schafer, E. A. (*Proc. Physiol. Soc.*) *Jour. Physiol.*, XVI, XVII, 1894; *ibid.*, XVIII, 1895.
- (3) Kamm, O., Aldrich, T. B., Grote, I. W., Rowe, L. W., and Bugbee, E. P.: The active principles of the posterior lobe of the pituitary gland. I. The demonstration of the presence of two active principles. II. The separation of the two principles and their concentration in the form of potent solid preparations., *Jour. American Chemical Society*, 1928, 50, 573.
- (4) Gibbs, O. S.: A practical test for the antidiuretic action of pituitary, *Jour. Pharmacol. and Exper. Therap.*, 1930, in press.
- (5) Bijlsma, U. G., Burn, J. H., and Gaddum, J. H.: A comparison of the oxytocic, pressor and anti-diuretic activities of commercial samples of pituitary extract., *Quarterly Jour. of Pharmacy and Allied Sciences*, 1928, 1, 493-509.
- (6) Rowe, L. W.: Studies of oxytocin and vasopressin: The effect on frog melanophores, *Endocrinology*, 1928, XII, 663-670.



**MAURICE ARTHUS**

## O eksperymencie

(L'expérience)

Autor mówi o eksperymencie, jego organizacji oraz zwraca uwagę na zalety jakimi winien odznaczać się eksperymentator i podnosi przytem zasługi Popielskiego, jako znakomitego badacza - eksperymentatora.

---

---

## L'expérience

par

**MAURICE ARTHUS**

Quand on se propose d'honorer la mémoire d'un grand homme de science, et le Professeur Popielski fut incontestablement un grand homme de science, on évoque volontiers ses travaux, ses découvertes, les théories qu'il a promulguées et même les controverses qu'il a soutenues, et c'est assurément bien. Mais on peut aussi évoquer ses vertus scientifiques et disserter sur ses qualités intellectuelles et sur sa foi en la méthode expérimentale, sa foi qui n'a jamais vacillé.

Popielski fut un expérimentateur, et, pour lui comme pour ses frères en expérimentation, le point culminant de toute recherches physiologique ou biologique fut l'expérience.

Au temps où la guerre sévissait en Europe, j'ai lu en quelque journal, sous la signature d'un critique militaire, un passage, dont je ne saurais reproduire exactement les termes, mais dont voici le sens. Pour l'homme de guerre, la bataille

est le tout de la guerre. Tout ce qui n'est pas la bataille n'a d'autre objet que de préparer la bataille, et la bataille elle-même n'est souvent qu'une préparation ou un acheminement à une autre bataille, jusqu'à ce que soit obtenue la décision.

Cette opinion sur l'activité de l'homme de guerre peut être appliquée à l'activité de l'homme de science: il suffit de substituer aux termes militaires des termes scientifiques. Pour l'homme de science biologique, dirai-je, l'expérience est le tout de la recherche. Tout ce qui n'est pas l'expérience n'a d'autre objet que de préparer l'expérience, et l'expérience elle-même n'est souvent qu'une préparation ou un acheminement à une autre expérience, jusqu'à ce que soit obtenue la conclusion, c'est-à-dire la réponse à la question posée.

Qu'est-ce donc que l'expérience?

L'expérience est une observation faite dans des conditions qu'on a fixées au mieux, c'est-à-dire de telle façon que l'observation soit aussi riche que possible en faits positifs, aussi exactement connus et éventuellement mesurés que possible.

De cette définition il résulte qu'on doit considérer deux temps en toute expérience: un premier temps durant lequel on réalise ces conditions les plus favorables; un second temps durant lequel on fait l'observation. C'est dire que l'expérimentateur doit être d'abord un organisateur, puis un observateur.

L'organisation d'une expérience, ou, si l'on veut s'exprimer autrement, la fixation des conditions de l'observation prochaine, la fixation de ce que Claude Bernard appelait la déterminisme de l'expérience, ne saurait être excellente que si l'expérimentateur possède certaines qualités d'esprit, l'imagination active, l'intelligence claire, le sens critique avisé. Ce sont là choses qui sont inégalement réparties entre les hommes, et il conviendrait, quand germe en quelque jeune cerveau une vocation expérimentale, de rechercher si ces qualités majeures ne font pas défaut ou à peu près. On peut d'ailleurs les développer, et elles se développent merveilleusement chez ceux qui n'en sont pas totalement privés et qui partagent intimement la vie scientifique des grands maîtres. Mais il faut bien avouer que ceux-là qui ne sont point particulièrement doués de nature feront peut être un jour l'honnêtes et laborieux chercheurs, mais que ce n'est pas parmi eux que se trouveront



les hommes de génie, qui, d'un vigoureux coup d'aile, s'élèveront dans l'azur du ciel scientifique. N'en doutons pas, on naît expérimentateur, comme on naît artiste, comme on naît orateur. Le rôle du maître en science expérimentale, comme en art, comme en éloquence, se borne à magnifier des qualités préexistantes, pour les amener à leur complet développement.

L'observation, qui correspond au second temps de l'expérience, ne saurait être excellente que si l'observateur possède certaines qualités d'esprit, qui ne sont plus les mêmes que celles auxquelles il a été fait appel lors de la préparation de l'expérience. Ici, il faut se garder de toute initiative, de toute interprétation précipitée, on, si l'on veut, de toute idée préconçue. Il faut observer, sans autre, c'est-à-dire recueillir, au moyen de ses sens ou d'une instrumentation convenable, tous les faits qui se présentent, et les recueillir sans laisser aucune prévision, aucun espoir, aucun désir s'installer en son esprit, sous peine de fausser inconsciemment l'observation, en qualité souvent, en quantité à peu près toujours. L'observateur doit être à l'image et ressemblance d'une plaque photographique, d'un disque gramphonique, d'un appareil d'enregistrement.

Alternativement donc l'expérimentateur doit revêtir deux livrées psychologiques : son activité intellectuelle doit être portée au maximum quand il fixe les conditions de son expérience ; elle doit s'annihiler pour faire place à une passivité totale, grâce à laquelle, au moment de l'observation, les images sensorielles des faits se déposeront dans le cerveau en vraie nature et en vraie grandeur. C'est dire que l'expérimentateur doit posséder cette qualité que j'appelle la plasticité de l'esprit, et qui permet de prendre à volonté les deux états d'âme dont j'ai parlé et qui sont la condition nécessaire de toute bonne expérimentation.

Me contredirez-vous, chers lecteurs, si je vous dis qu'en parlant de l'expérience et de quelques qualités de l'expérimentateur, je n'ai pas oublié que je devais vous parler du Professeur Popielski.

ZACHARY A. BLIER i ARNO B. LUCKHARDT

## Wpływ doprowadzających włókien płucnego nerwu błędnego na szybkość oddechania

(The rôle of afferent fibres in the pulmonary vagus on the rate of the respiration)

Wzrost szybkości oddechania w następstwie drażnienia dośrodkowych końców nerwu kanału skrzydłowego (nervus Vidianus) i nerwu kulszowego nie zależy jedynie od bodźców doprowadzających, dochodzących do ośrodków przez wymienione nerwy, lecz wpływy dośrodkowe uzależnione są głównie od bodźców mających swe źródło w płucach. Napełnienie płuc powietrzem wydechowem lub mieszaniną gazów złożoną z 3%  $CO_2$ , 20%  $O_2$ , 77%  $N$  lub opróżnienie płuc przez mocne wyssanie powietrza zalegającego może doprowadzić, jeżeli obydwa nerwy błędne są nienaruszone, do przyspieszenia oddechania w ciągu pół godziny lub więcej po ustaniu napełniania względnie opróżniania płuc.

Drażnienie dośrodkowych końców przeciętych nerwów błędnych może również mieć jako następstwo przyspieszenie oddechania w ciągu pół godziny lub więcej.



# The rôle of afferent fibers in the pulmonary vagus on the rate of the respiration<sup>1)</sup>

by

ZACHARY A. BLIER and ARNO B. LUCKHARDT

(From the Physiological Laboratories of the University of Chicago)

While studying the sensory character of the Vidian nerve in another investigation, it was observed that the intense hyperpnea following stimulation of this nerve was considerably diminished after double vagotomy, and that the increased rate of respiration that usually persisted (after discharge) was short lived or absent after double vagotomy. Further observation revealed that the same condition was true of stimulation of the central end of the sciatic nerve. The moment stimulation was applied to the central end of the sciatic nerve, after double vagotomy, the animal inspired deeply as tho it were to breathe very rapidly; but the subsequent expiration came at a decidedly longer interval of time than it would have had the vagi not been sectioned. In other words, the percentile increase in rate on sensory stimulation is diminished by double vagotomy. These facts led to the conception that afferent impulses coming from the lung during the hyperpnea resulting from sensory nerve stimulation are of considerable importance in determining the rate and (indirectly the amplitude) of the respiration.

## Methods and Results.

Dogs anesthetized with 0.25 g. of barbital-Na per kilogram of body weight were used. Blood pressure was taken from a femoral or carotid artery, and respiration was recorded by means of a chest pneumograph and tambour.

1. To attempt to test the hypothesis outlined above, the following experiment was designed. Artificially produced impulses were sent up the central end of the sectioned vagus nerves by means of a tetanizing current. With the vagi intact

<sup>1)</sup> The present investigation was aided in part by a grant to the University of Chicago from the Rockefeller Foundation.

the central end of the sciatic nerve was stimulated with a tetanizing current. The vagi were then cut and the central ends secured with a ligature. Again the central sciatic was stimulated and the rate was slower, and the after discharge was considerably reduced. The central end of the sciatic nerve was again stimulated constantly, and simultaneously with it the central end of one or the other vagus nerves was stimulated intermittently, so timed that the impulses were sent up just at the beginning of inspiration. The duration of the intermittent stimulus was the length of time it took to touch the nerve momentarily with the electrode. In this way the impulses which are normally initiated by the distending lung parenchyma are supplied artificially by electrical stimulation (Fig. 1). The following results are obtained from such a procedure: The percentile increase in the rate of respiration as a result of stimulation of the sciatic nerve is considerably less after double vagotomy than before. The duration of the after discharge is likewise reduced. However, when the central end of one vagus nerve is stimulated intermittently while the central sciatic is being stimulated as described above, the rate of respiration is again equal to that obtained before the sectioning of the vagus nerves.

2. An attempt was made to restore the normal type of breathing after double vagotomy without stimulation of the central sciatic. It will be seen (Fig. 1) that this can be accomplished by intermittently stimulating a vagus nerve just at the beginning of inspiration. In this particular case the rate was increased from 8 to 36 respirations a minute, or an increase of 325%. This last result was successfully obtained in decerebrate dogs as well.

3. Merely stimulating the central end of the vagus nerve does not mean that only pulmonary afferents are being stimulated. In order to assure ourselves of obtaining pulmonary sensory impulses from the lungs, a blast of gas, composed of 3%  $CO_2$ , 20%  $O_2$  and 77%  $N$  was thrown into the lungs at the beginning of each inspiration. In another series air was sucked out of the lungs as forcibly as could be done by one of us at the end of expiration (Fig. 2, Table 2). Both of these procedures result in a great increase of the rate of respiration



over normal. When the vagus nerves are sectioned these results are abolished. In addition to the results noted above, another phenomenon presented itself. It will be noted that the accelerating effect of the sucking and blowing procedures last quite some time after the stimulations are completed. In this particular experiment the rate was greater than normal three minutes after all stimulation had ceased. We have performed similar experiments in which the rate was faster than normal as long as one-half hour after stimulation. This persistent increase in the rate of respiration, which remained long after stimulation had ceased is regarded by us as being due to the impression of a new rhythm upon the respiratory center. In other words, by sending sensory stimuli to the respiratory center at a rate that exceeds that at which it normally discharges it is caused to discharge for some time at a greater rate.

4. By means of the method used above, the distension of the lungs caused impulses to travel up both vagi nerves. We thought it would be better to obtain them from one localized portion of one lung. To this end, a glass tube (7 mm bore) was inserted through a tracheotomy opening into the bronchus of a lower lobe. By experimenting it was possible to inflate one of the right or left lower lobes by changing the position of the tube from one side to the other. In this series the lower lobe was inflated intermittently or constantly, as described above, with expired air. Fig. 3 and Table 3 illustrate the results of such a procedure. If a lower lobe is suddenly inflated at the beginning of each inspiration, an increase in the rate is obtained, 100% in this instance. If a lower lobe is inflated with a continuous blast for a period of time, the rate of respiration that follows exceeds that which was present previous to the blowing. In both cases the increased rate is often persistent and entirely similar to that obtained from constantly and intermittently inflating the entire lung. If the procedure of constant blowing is repeated too often, the phenomenon disappears, but after an interval of eight minutes acceleration of respiration is again possible. This speaks for fatigue for this reflex mechanism. It will also be noted that the normal rate of respiration after these various

procedures is considerably greater at the end of the experiment than at the beginning, speaking again for a permanent acceleratory effect upon the rate of discharge of the respiratory center. If the vagus nerve is cut on the side of the blowing, the effect is no longer obtainable.

### Discussion.

That impulses coming from the distended lung parenchyma are intimately associated with the control of normal respiration is a well established fact. The so-called inspiratory and expiratory fibers, the endings of which are stimulated alternately in the normal cycle of respiration, are essential not only for quiet normal breathing, but are equally important in our experience in the production of an hyperpnea during stimulation of sensory nerves. If the central end of the sciatic nerve is stimulated with a tetanizing current, after double vagotomy, the animal is seen to inspire deeply, giving one the impression that it will continue to breathe rapidly. But expiration does not take place as soon as expected; the animal remains in a state of deep inspiration for an appreciable length of time. It finally expires forcibly, as though it does so because of sheer exhaustion or failure of further discharge from the respiratory center. Similarly the next inspiration is slightly delayed, and as a result of both of these factors, respiration is decidedly slowed. Presumably expiration does not occur when expected because the expiratory fibers are unable to carry the impulses from the distending lung to the respiratory center; and inspiration does not follow closely after expiration because the inspiratory fibers are not functioning.

The essential gist of this contribution can be illustrated by the response to two questions addressed to a number of competent physiologists. It was asked first what mechanism accounted for the hyperpnea on stimulation of the central end of a nerve such as a sciatic. The questioned person, previously advised to be on his guard, responded that afferent impulses initiated by such stimulation lead to a discharge of the respiratory center in the medulla. It was then asked whether in his estimation the entire phenomenon could be accounted for solely by a period of rhythmical discharge of



the respiratory center to the muscles of respiration. To this question every one unreservedly responded in the affirmative. According to our view and based on the experimental data offered in this paper, afferent impulses coming from the lung on its inflation are as important as the central discharge from the respiratory center in accounting for the observed hyperpnea. In fact, our view is but an extension of views commonly held by physiologists with regard to the cause of the slow and labored breathing observed following double vagotomy in an animal breathing quietly and normally.

By intermittently stimulating the central end of the cut vagus nerve (in a doubly vagotomised animal) just as the animal begins to inspire, the inspiration will be cut short, and the next inspiration will follow in a shorter length of time, so that a rapid rate can be developed in the absence of any afferent stimuli produced by the stimulation of the central sciatic, but merely by increasing the rate of afferent impulses coming from the lung to the respiratory center. This last phenomenon demonstrates the intimate rôle played by impulses arising from the distending lung in the control of normal respiration and the production of hyperpnea.

The exact nature of the fibers we stimulate in the vagus nerve is in doubt. No intensive physiological investigation has been made on the rôle of the various afferent pulmonary fibers recently described by Larsell<sup>1)</sup>, although the latter has reported some experiments on the possible function of the sympathetic fibers which innervate the interlobar surfaces of the visceral pleura<sup>2)</sup>. It is fairly certain that we stimulate the expiratory fibers when we cut short the inspiration, but what causes the next inspiration to come at a shorter interval of time? It might be postulated that we stimulate both inspiratory and expiratory fibers, that the effects of the latter are prepotent and shorter lived, so that the immediate effect is inhibition. When its effect has worn off the more persistent inspiratory effect takes hold, and the animal is forced to breathe sooner.

The experiments in which air was blown into them are in every way comparable to those in which the vagus nerve was stimulated electrically. The impulses here were supplied by the distending lung tissue. A gas, having the composition

of 3%  $CO_2$ , 20%  $O_2$  and 77%  $N_2$ , was used in some of the blowing experiments. This was used in preference to atmospheric air to avoid decreasing the  $CO_2$  tension of the alveolar air, and producing the apnea. However, the length of time the increased rate of respiration persisted precludes the possibility that the acceleration was due to an increase in the  $CO_2$  tension produced by the gas. We were impressed by the various ways in which the rate of respiration could be persistently increased. Sucking air from the lungs at the end of inspiration, inflating both lungs momentarily at the beginning of inspiration, inflating a lower lobe constantly for 10 seconds, or intermittently inflating a lower lobe at the beginning of inspiration — all were productive of an increase in the rate of respiration which lasted from three minutes to one half hour after the manipulations had ceased. Just following the stimulations a short period of vagal apnea was almost always present; then respiration was resumed at an increased rate. That this increase is not due to the carbon dioxide in the inspired air used for the inflations is evidenced by the fact that the effects were present long after chemical equilibrium must have taken place. Furthermore, clamping the trachea for the same length of time that a lower lobe, for instance, was inflated, produce no effects at all.

We look upon the more or less permanent increase in respiration as a manifestation of a new rhythm impressed upon the respiratory center as a result of our manipulations. It is possible that afferent impulses impinging on the center outlive the actual period of stimulation, so that the increased rate of respiration is an expression of the prolonged effect of stimulation (after discharge).

Early in this experimentation the phenomena here recorded were observed regularly incidental to another study. Later we experienced some negative results which induced us to extend our series of experiments. We finally concluded that a deep anesthesia was detrimental to the success of any demonstration designed to prove the dual reflex nature of the hyperpnea from profound sensory stimulation. This led us to the use of decerebrated dogs prepared under ether anesthesia. In these animals, however, the repeated stimulation of sensory



nerves leads early to a shocked condition which is obviously not favorable to the demonstration of any reflex mechanism. For these reasons one cannot hope to demonstrate the phenomena described in every experiment.

---

---

## S U M M A R Y

1. The intermittent discharges of the respiratory center leading to an increased rate of respiration following stimulation of the central ends of such nerves as the Vidian and sciatic is due not solely to afferent impulses coming to the center via the nerves mentioned but essentially to afferent impulses having their origin in the lungs. Two reflex acts are therefore involved in this type of respiratory acceleration.

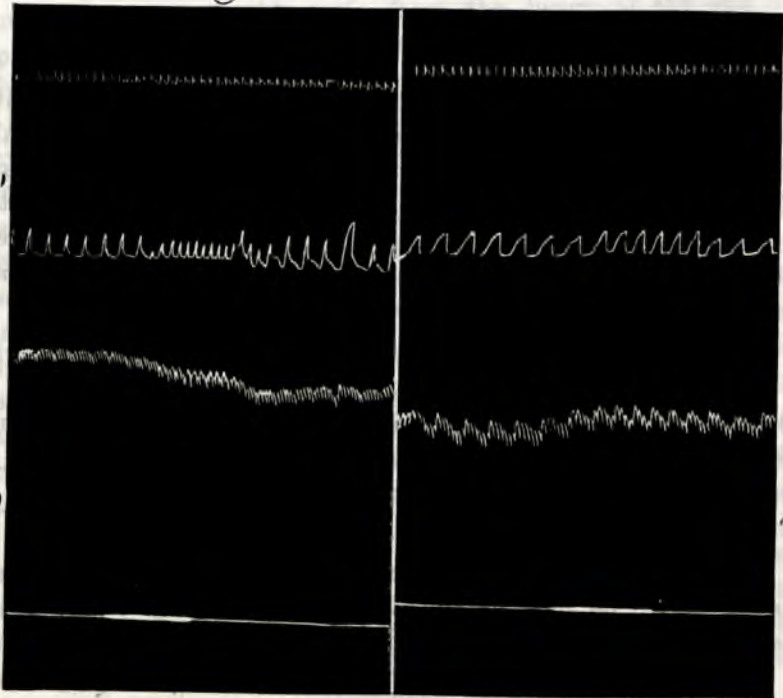
2. Inflation of the lungs either with expired air or with a gas mixture consisting of 3%  $CO_2$ , 20%  $O_2$ , 77%  $N$  or deflation of the lungs by forcibly sucking out the residual air may, if both vagi are intact, lead to an acceleration of respiration lasting  $\frac{1}{2}$  hour or more after such inflation or deflation has ceased.

3. Stimulation of the central ends of the sectioned vagi may likewise be followed by an accelerated rate of breathing lasting  $\frac{1}{2}$  hour or more as though by these several procedures a new rate of discharge had been impressed on the center.

---

---

Fig. 1. — The Restoration of the pre-double Vagotomy Rate of Respiration by the momentary Stimulation of the central End of a Vagus nerve at the Beginning of Inspiration.



A

Fig. 1.

B

A, stimulation of the central end of the right sciatic nerve before double vagotomy;

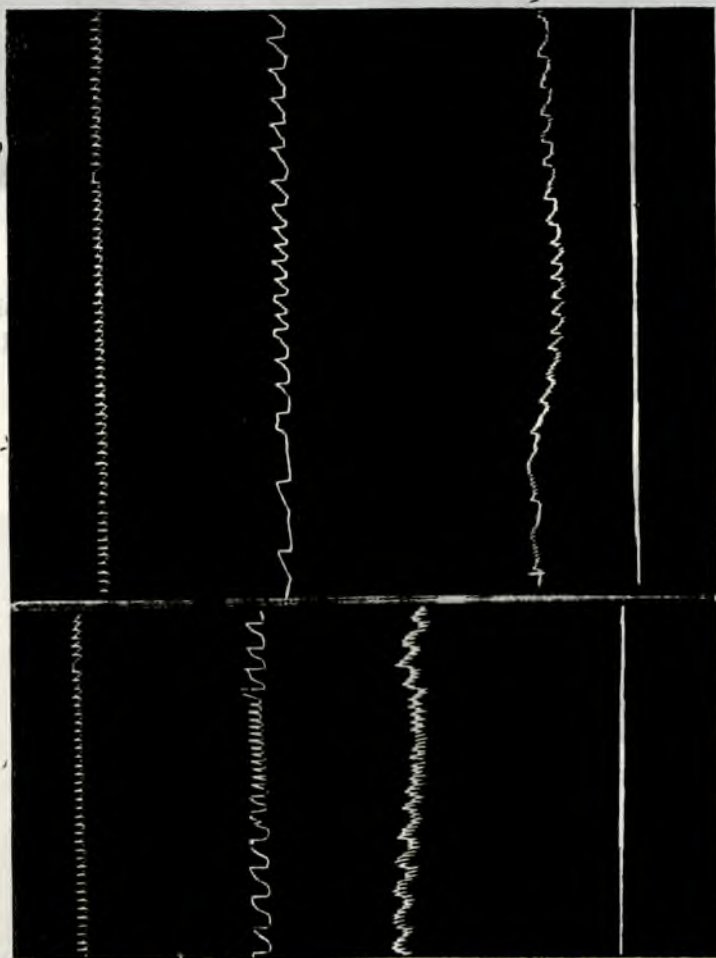
B, same after double vagotomy;

From above downward: time recorded in seconds, respiration, blood pressure, base line and stimulation.



*C*, momentary stimulation of the central end of the right vagus nerve, after double vagotomy, while the central end of the right sciatic nerve is being stimulated;

*D*, same as *C*, but the central end of the sciatic nerve is not being stimulated.



*D*

Fig. 1.

*C*

Fig. 2. — A, The Effect of inflating the Lungs with Gas at the Beginnig of Inspiration.

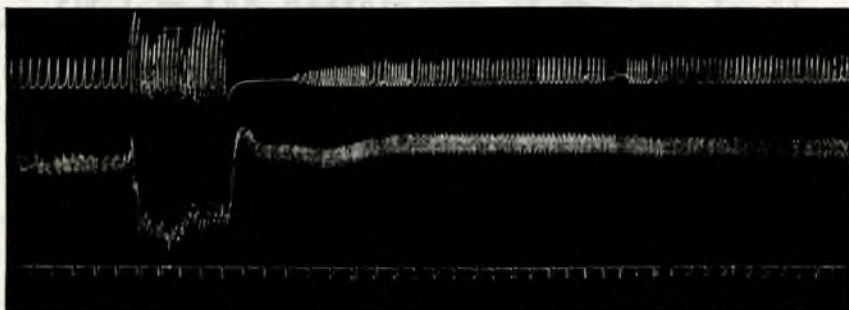


Fig. 2. — A. 1.

1. Showing that after a period of vagal apnea, respiration is resumed at a rate far in excess to that preceding stimulation.

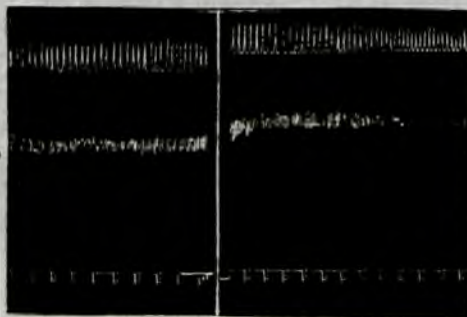


Fig. 2. — A. 2.

Fig. 2. — A. 3.

2. After the kymograph has been stopped for 10 minutes;

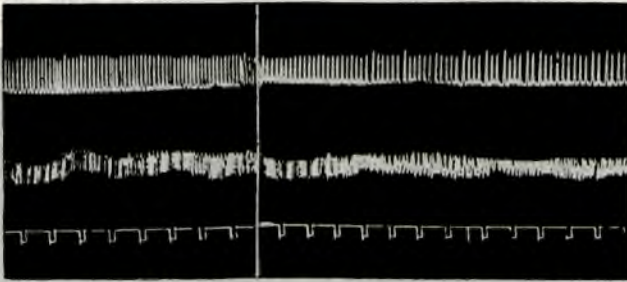
3. After stopping kymograph for 20 minutes. In this case the rate of respiration never returned to normal.



**B. 1. Effect of Sucking Air out of the Lungs at the End of Expiration.**



Fig. 2. — B. 1.



B. 2.

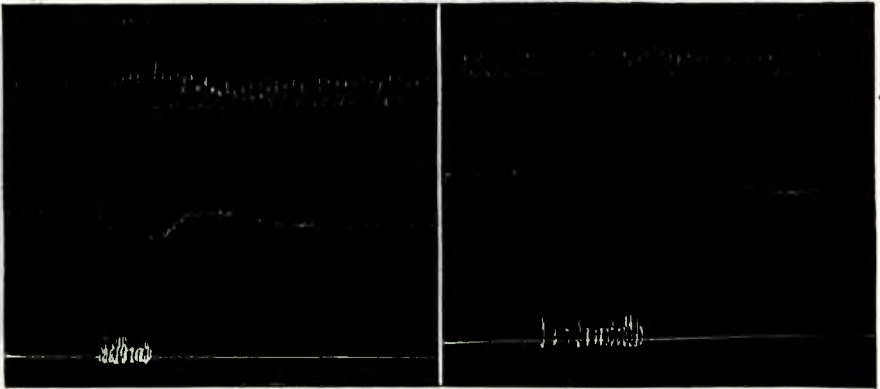
Fig 2.

B. 3.

2. After stopping kymograph for 10 minutes;

3. After stopping kymograph for 15 minutes. Here, too, the rate of respiration never came back to normal.

Fig. 3. — Effect of inflating a lower Lobe.



A

Fig. 3.

B

A, with a constant blast;

B, with momentary blasts at the beginning of inspiration.

In both cases the rate of respiration is increased for some time afterward.

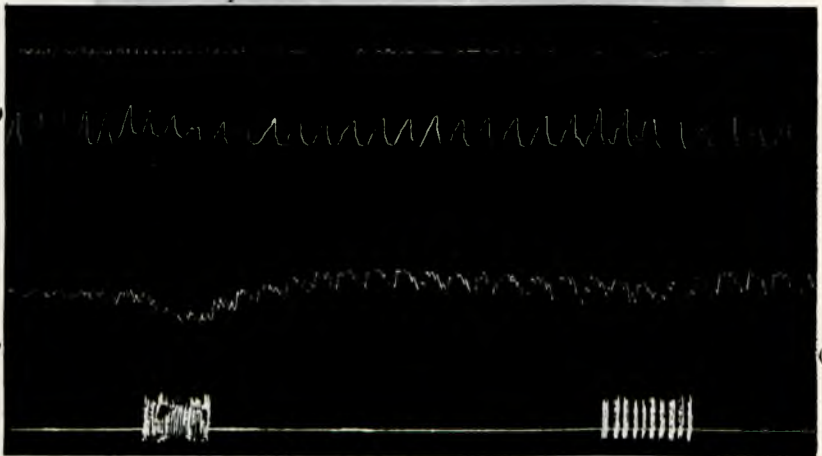


Fig. 3. — C.

C, after double vagotomy the effects are no longer obtainable.



**Table I**

Procedure	Duration of stimulation	Rate	After discharge	Blood Pressure	% change
Normal — 24 per min. Stimulate R. Sciatic	10 sec.	78	12 sec.	140	225
Normal — 30 Stimulate L. Sciatic	10	10 Double	5 Vagotomy	130	100
Normal — 30 Stimulate R. Sciatic	10	42	none	140	40
Normal — 26 Stimulate R. Sciatic Stimulate R. vagus intermittently	10	72	none	120	290
Normal — 8 Stimulate R. vagus intermittently only	40	36	none	130	225
Normal — 8 Stimulate R. Vagus intermittently only	40	27	none	120	240

Effect of Intermittent Stimulation of the central end of the Vagus Nerve on the Rate of Respiration after Double Vagotomy.

**Table II**

Normal	Procedure	Results of Procedure	Rate per min. during 1st 1/2 min.	next 1/2	next 1/2	10 min. later	
30 resps. per min.	Artificial respiration 20 sec.	16 blasts	Apnea	82 170 % incr.	68 125 % incr.	60 100 % incr.	23
23 " " "	Artificial respiration 20 sec.	21 "	Apnea for 20 sec.	58 160 % incr.	42 83 % incr.	38 65 % incr.	38 65 % incr.
52 " " "	Air sucked from lungs 35 sec.	21 times	40	80 55 % incr.	80 55 % incr.	74 40 % incr.	60 15 % incr.
<b>Double Vagotomy</b>							
14 " " "	Artificial respiration 20 sec.	13 blasts	22 50 % incr.	16 14 % incr.	15 7 % incr.	—	—
15 " " "	Artificial respiration 20 sec.	16 "	15	15	15	15	—
15 " " "	Air sucked from lungs 35 sec.	33 times	15	15	15	15	—

Effect of Inflation and Deflation of Lungs on the Rate of Respiration.

Table III

Procedure	Duration of Stimulation	Rate	Blood Pressure	% change
Normal 96 R. Constant	5 sec.	Period of Apnea. Rate resumed at 90.	40 mm drop	
Normal 78 L. Constant	6 sec.	Period of Apnea. Resumed at 138 for 10 min.	No change	75% increase
Normal 114 L. Constant	7 sec.	Period of Apnea. Resumed at 158, and remained so indefinitely.	No change	38%
<b>Cut left vagus</b>				
Normal 72 L. Constant	6 sec.	72 No change	No change	
Normal 36 R. Constant	11 sec.	Resumed at 108, went to 188, dropped to 48 in 6 min.	Dropped 15 mm Hg.	Maximum change, 385%
<b>Cut right vagus</b>				
Normal 90 R. Constant	10 sec.	30	No change	

Effect of inflation of the lower Lobes on the Rate of Respiration before and after Double Vagotomy.

### BIBLIOGRAPHY

- (1) Larsell: Jour. Comp. Neur., Vol. 33, No. 2, June, 1921, p. 105; Idem. (with Mason), Vol. 33, No. 5, Dec., 1921, p. 509; Idem., Vol. 35, No. 1, Dec., 1922, p. 97.
- (2) Larsell: Phi Beta Pi Quarterly, May, 1928, p. 1.

**P. CARNOT i E. LIBERT**

## **Przyczynek do badań nad wpływem histaminy na wydzielanie soku żołądkowego i jej zastosowań klinicznych**

(Contribution à l'étude de l'action de l'histamine sur la sécrétion gastrique et de ses applications cliniques)

Badania Popielskiego i jego uczniów stwierdziły, że histamina posiada wpływ na wydzielanie soku żołądkowego. Zastosowanie histaminy u ludzi pozwala na uzyskanie soku żołądkowego w warunkach prawie idealnych, bez żadnych domieszek, daje możliwość oceny zdolności wydzielniczej błony śluzowej żołądka przedstawiając dla klinicystów ważny czynnik dżagnostyczny.

---

## **Contribution à l'étude de l'action de l'histamine sur la sécrétion gastrique et de ses applications cliniques**

par

**P. CARNOT**

Professeur de Clinique à la Faculté de Médecine de Paris, Médecin de L'Hotel-Dieu

et

**E. LIBERT**

Ancien Chef de Clinique Médicale

L'histamine, qui possède une action physiologique extrêmement intense sur différents appareils, notamment sur le muscle utérin et sur le système vaso-moteur, est douée aussi d'un pouvoir excito-sécrétoire sur les muqueuses digestives. Ce pouvoir a été mis en évidence par plusieurs auteurs au premier rang desquels il faut placer Popielski.



Celui-ci en effet, a non seulement démontré l'existence de cette action sécrétoire, mais encore il en a précisé les modalités et le mécanisme, en même temps qu'il indiquait les doses qui devaient être utilisées dans cette étude expérimentale, poursuivie par lui surtout chez le chien.

A son instigation ses élèves, et notamment Koskowski, étudièrent ce pouvoir excito-sécrétoire de l'histamine sur différents mammifères et chez les oiseaux. Les travaux expérimentaux de Popielski et de son école ont été rapidement confirmés en Allemagne par Rothlin et Gundlach (Arch. Intern. de Physiologie vol. 16, 1921, page 59).

Avec Koskowski nous avons, les premiers, appliqué à l'homme cette étude du pouvoir sécrétoire de l'histamine sur l'estomac, et des travaux initiaux de Popielski, nous avons tiré un test clinique, actuellement utilisé d'une façon très générale, et sur lequel nous voudrions, dans ce travail, donner quelques détails.

En 1922, nous avons établi, par une communication à la Société de Biologie, que l'injection sous-cutanée ou intra-musculaire d'un Milligramme de bichlorhydrate d'histamine provoque, d'une façon constante, chez l'homme normal la sécrétion abondante d'un suc gastrique fortement acide, doué d'un pouvoir peptique élevé, et dans lequel au contraire, le lab-ferment nous paraissait assez peu abondant. Dès cette époque nous avons pu montrer que, dans la très grande majorité des cas, l'injection sous-cutanée d'histamine est bien tolérée et ne provoque que des phénomènes secondaires passagers légère-génants et au demeurant peu importants (rougeur du visage, céphalée).

En 1925 utilisant ces premiers résultats, nous avons établi une véritable épreuve clinique qui, rénovant l'étude du chimisme gastrique, permettait d'obtenir aisément, chez l'homme, un suc gastrique pur exempt de toute particule alimentaire, ne contenant pas de chlore combiné (dont la valeur est toujours d'un interprétation délicate). Cette épreuve de l'histamine s'est, par conséquent, montrée d'emblée supérieure pour l'étude du chimisme gastrique, non seulement au classique repas d'Ewald, mais encore aux différents repas d'épreuve plus récemment proposés.

En poursuivant l'étude, nous avons pu montrer qu'elle était intéressante non seulement par les qualités du suc gastrique qu'elle permet d'obtenir mais encore par la constance de ses résultats, par le faible écart qui sépare les différents chiffres obtenus lorsque l'on répète, dans des conditions identiques, le test chez un même sujet à plusieurs jours d'intervalle.

Enfin, (et c'était là le point essentiel de notre travail), nous avons montré que l'épreuve de l'histamine est capable de fournir au clinicien des renseignements multiples, tirés non seulement de l'analyse du suc obtenu, mais encore de la modalité des réponses sécrétoires de l'estomac. Il est possible, en effet, comme nous l'avons établi dans plusieurs publications, de tracer avec précision une courbe des volumes sécrétés par l'estomac en un temps donné et aussi une courbe des acidités chlorhydrique et totale, et du pouvoir peptique dans les différents échantillons successivement prélevés. En dehors de toute analyse, la seule allure de ces courbes permet de juger si la réponse sécrétoire de l'estomac à l'excitation par l'histamine est normale ou si elle présente, au contraire, les caractères distinctifs des dyspepsies hyper ou hypo-sécrétoires.

C'est ainsi qu'à l'état normal la sécrétion s'installe après une dizaine de minutes, atteint son acmé après une demi-heure et se prolonge environ une heure et demie.

L'hypersécrétion (surtout dans l'ulcère gastrique) est caractérisée par une réponse immédiate, intense, prolongée.

Au contraire dans les états d'hypo-pepsie (et surtout dans le cancer gastrique) on n'obtient après excitation par l'histamine qu'une réponse tardive, faible et brève, parfois même absolument nulle.

Il résulte, en outre, de nos observations et de celles qu'ont publié, depuis, de nombreux auteurs que l'histamine exagère, le type du chimisme gastrique et révèle le pouvoir sécrétoire de la muqueuse. Ainsi, dans bien des cas où les procédés classiques ne permettent qu'une interprétation douteuse,

le test de l'histamine met plus nettement en évidence l'anomalie sécrétoire.

Chez l'homme normal, l'acidité chlorhydrique est plus élevée dans le suc d'histamine que dans les sucs gastriques prélevés après repas d'épreuve. Ce point avait déjà été observé par Popielski chez le chien.

Dans l'ulcère l'acidité en *HCl* peut atteindre les chiffres de 4 pour 1000 et davantage.

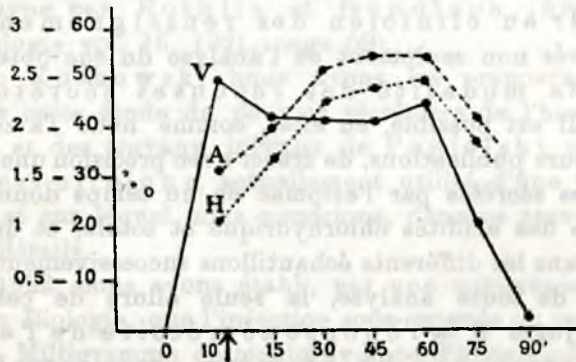


Fig. 1

Chimisme normal

D'après Gilbert, H. Bénard et L. Bouttier

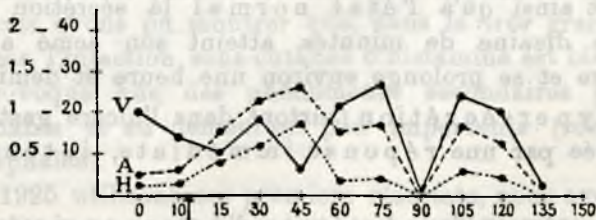


Fig. 2

Dyspepsie hypochlorhydrique

D'après Gilbert, H. Bénard et L. Bouttier

Dans le néoplasme, (en faisant abstraction de quelques cas, signalés par Cade et Milhaud, analogues à des faits que nous avons pu observer nous-mêmes, dans lesquels exceptionnellement l'histamine montre de l'hypersécrétion et de l'hyperacidité) on observe d'ordinaire, non pas une hypo-



chlorhydrie comme avec les procédés classiques, mais une anachlorhydrie absolue.

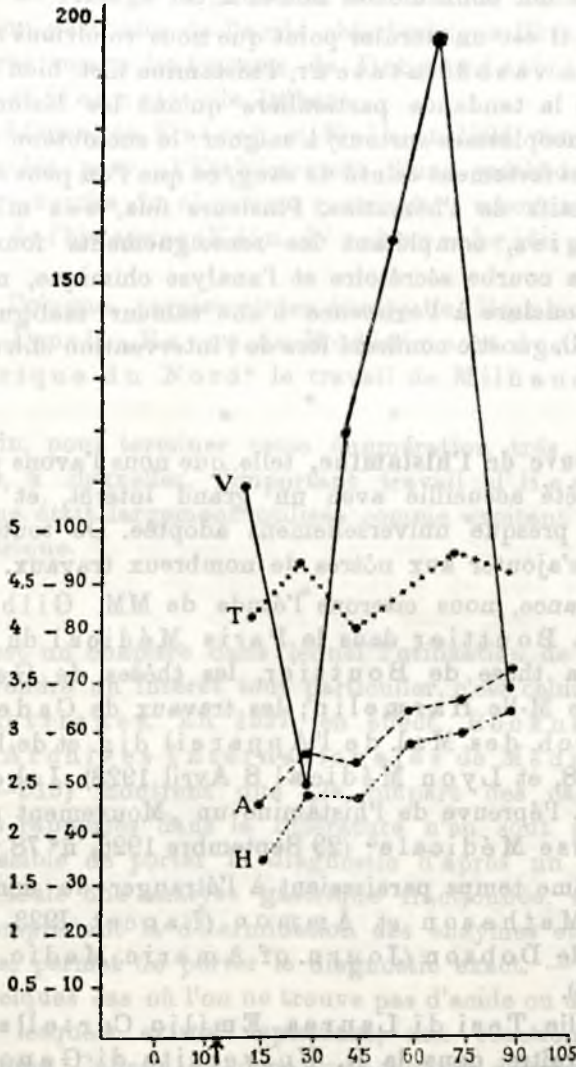


Fig. 8

Ulcère gastrique

D'après Gilbert, H. Bénard et L. Bouttier

Ces caractères, joints aux modifications de la réponse sécrétoire, permettent d'établir des courbes tout-à-fait

démonstratives. Nous en empruntons quelques exemples à MM. Gilbert, H. Bénard et Bouttier dont les recherches très précises ont confirmé les nôtres à cet égard.

Enfin, il est un dernier point que nous voudrions signaler : par son rôle vasodilatateur, l'histamine met, bien souvent, en évidence la tendance particulière qu'ont les lésions organiques (les neoplasmes surtout) à saigner : le suc obtenu est alors plus ou moins fortement teinté de sang, ce que l'on peut contrôler par les réactifs de l'hématine. Plusieurs fois, ces minimes hémorragies, complétant les renseignements fournis par l'allure de la courbe sécrétoire et l'analyse chimique, nous ont permis de conclure à l'existence d'une tumeur maligne, et de voir notre diagnostic confirmé lors de l'intervention chirurgicale.

\* \* \*

L'épreuve de l'histamine, telle que nous l'avons proposée en 1925, a été accueillie avec un grand intérêt, et elle est maintenant presque universellement adoptée. De toutes parts sont venus s'ajouter aux nôtres de nombreux travaux.

En France, nous citerons l'étude de MM. Gilbert, H. Bénard et Bouttier dans le *Paris Médical* du 27 Janvier 1926, la thèse de Bouttier, les thèses de Germain Petit et de M<sup>lle</sup> Harmelin; les travaux de Cade et Milhaud (*Arch. des Mal. de l'Appareil dig. et de la Nutr.* Février 1928, et *Lyon Médical* 8 Avril 1928). Ichok enfin consacrait à l'épreuve de l'histamine un „Mouvement médical“ de la „*Presse Médicale*“ (29 Septembre 1926, n° 78 p. 1225).

En même temps paraissaient à l'étranger de nombreuses études, de Matheson et Ammon (*Lancet* 1923 p. 482), de Limm, de Dobson (*Journ. of Americ. Medic. Assoc.* 1925 p. 158).

En Italie, Tesi di Laurea, Emilio Cortella, Rada, faisaient paraître, dans la R. Università di Genova une longue étude intitulée „La Prova dell'Istamina nell'indagine della Potenziabilità funzionale dello stomaco“.

A Genève, Kastenelbogen et Choisy montraient que «la muqueuse gastrique, après avoir été stimulée par le repas d'épreuve, répond à une injection d'histamine par une sécrétion

encore plus riche en acide chlorhydrique libre que la sécrétion avec la repas d'épreuve. Cette observation ajoute une preuve éclatante de plus de la puissance d'action de l'histamine sur la sécrétion gastrique de l'acide chlorhydrique libre».

Citons encore les travaux de De benedetti, ceux de J. Àtucha et Hernais, (de Bilbao).

En Allemagne Katsch et Kalk, en 1926, dans une étude très détaillée pour „l'Etablissement d'une méthode cinétique pour la recherche du chimisme gastrique“, reconnaissent aussi la valeur de l'histamine (Klin. Wochenschrift, Mai et Juin 1926).

En Pologne, paraissent les études de Rachon et Walawski. Dans la „Revue de Médecine et de Chirurgie de l'Afrique du Nord“ le travail de Milhaud et Locken.

Enfin, pour terminer cette énumération très incomplète, signalons, à Bruxelles, l'important travail d'Assaert, où l'histamine était largement utilisée comme excitant de la sécrétion gastrique.

\* \* \*

Il est un chapitre dans lequel l'utilisation de l'histamine paraît prendre un intérêt tout particulier, c'est celui des achylies gastriques. En 1927, en effet, Bockus et Bank dans les Archives Internationales de Médecine (N. 4 pp. 518—519) montrent que „la plupart des cas d'achylie gastrique rapportés dans la littérature n'en sont pas; car il est impossible de porter le diagnostic d'après un seul prélèvement; seule une analyse gastrique fractionnée, souvent répétée, comprenant la détermination des enzymes et le titrage de l'acide, permet de porter le diagnostic exact. — Cependant il est quelques cas où l'on ne trouve pas d'acide ou de ferments, et dans lesquels existe, cependant, une réaction sécrétoire à l'histamine. Celle-ci est donc un agent de diagnostic remarquable. — L'épreuve de l'histamine devra donc être annexée à toute analyse gastrique fractionnée dans tout les cas de chimisme à acidité basse“. (Analyse du travail de Bockus et Bank dans les Arch. des Mal. de l'App. dig. et de la Nutr. T. XVIII No. 1, Janvier 1928 p. 86).



De même Fernando Fonseca et Alberto Carvalho (Comptes rendus de la Soc. de Biol.-Section de Lisbonne, 10 Janvier 1928 p. 879) admettent la „grande valeur de cette épreuve dans le diagnostic différentiel des achylies organiques ou fonctionnelles“.

Il semble en effet, d'après nos observations personnelles, trop peu nombreuses à la vérité pour permettre une conclusion définitive, que, dans la maladie de Biermer, ou l'achylie est, comme on sait, précoce et persistante, l'histamine, bien qu'elle ne provoque l'apparition ni de pepsine, ni d'*HCl* libre, donne lieu cependant à une sécrétion assez abondante de suc gastrique. La courbe sécrétoire ainsi obtenue se différencierait donc de celle du néoplasme, et l'histamine pourrait fournir une indication dans le diagnostic parfois si délicat de l'anémie biermérienne vraie et des formes anémiques du néoplasme gastrique latent.

Quoiqu'il en soit, d'ailleurs, de ce point encore incomplètement élucidé, l'existence, dans l'anémie pernicieuse progressive, d'une anachlorhydrie résistant à l'histamine est peut-être un argument de plus en faveur de l'origine digestive de cette affection, et peut, dans une certaine mesure, expliquer les beaux résultats thérapeutiques obtenus soit par la méthode de Whipple, soit plus récemment, par l'ingestion d'estomac de porc.

\* \* \*

En dehors de son action sur l'estomac, l'histamine paraît posséder un pouvoir excito-sécrétoire pour la bile, et le suc pancréatique. Son action sur les sécrétions intestinales a été bien établie par Koskowski. Un certain nombre d'auteurs, enfin, ont montré sa présence dans certains échantillons de sécrétine.

\* \* \*

En nous limitant à la sécrétion gastrique, nous avons trouvé, dans l'utilisation de l'histamine, un moyen de recueillir le suc gastrique dans des conditions presque idéales de pureté (à condition de veiller à ce que pendant l'épreuve le sujet n'avale pas la salive). Il semble que cet agent fournisse un exemple des substances exito — sécrétoires directes, dont

l'importance apparaît si grande aujourd'hui en physiologie; il semble aussi que l'on ait, dans l'épreuve de l'histamine un moyen de mesurer véritablement, par une excitation maxima, la valeur sécrétoire de la muqueuse gastrique.

Enfin l'histamine fournit certainement au clinicien des possibilités de diagnostic plus complètes que ne le faisaient les repas d'épreuve autrefois utilisés.

C'est aux premières études expérimentales de Popielski que nous sommes redevables de ces acquisitions cliniques ultérieures qui ont enrichie les procédés d'investigation dont dispose la gastro-entérologie moderne. C'est pourquoi nous avons voulu lui rendre hommage dans ce numéro jubilaire.

Fr. CZUBALSKI

## **Wpływ niedostatecznie dotąd uwzględnianych czynników fizjologicznych na charakter krzywej wydzielania trzustkowego**

Sprawa wydzielania soku trzustkowego, ściślej mówiąc charakteru krzywej tego wydzielania, musi być dzisiaj, pomimo podstawowych w tym kierunku prac Pawłowa i jego licznych uczniów, wyjaśniających ją, zdawało się, całkowicie, uważana w świetle nowych i najnowszych badań za podlegającą ponownie dyskusji.

Jak wiadomo, szkoła Pawłowa, wprowadzając wyraźny pierwiastek celowości odnośnie czynności wydzielniczej trzustki oraz właściwości fizyczno-chemicznych i fizjologicznych soku trzustkowego, ustaliła istnienie różnych typów wydzielania trzustkowego i charakteru tej wydzieliny, uzależniając spostrzegane różnice od rodzaju bodźca pokarmowego, jako to: białka, tłuszcze, węglowodany. Zależność ta jest tak dalece dokładna, że z wyglądu wyrysowanej krzywej wydzielania bądź z właściwości soku, można rzeczywiście z wielkim prawdopodobieństwem wnioskować o rodzaju bodźca, który to zjawisko wywołał. Nie ulega wątpliwości, że wielki umysł Pawłowa uchwycił szczęśliwie z powodzi spostrzeganych faktów istotę zjawiska i dając mu szeroką podstawę doświadczalną, przedstawił je w postaci tak przekonującej, że stało się ono oczywistą prawdą w tym dziale fizjologii trawienia, tembardziej, że doświadczalne sprawdzanie tych faktów potwierdzało zazwyczaj słuszność poglądów szkoły Pawłowa, zwłaszcza jeżeli chodziło o ujęcie zjawiska wydzielania trzustki w jego ogólnych zasadniczych liniach bez



gubienia się w szczegółach. Jasny i wybitnie twórczy umysł Pa w ł o w a z tendencją do szerokiego i syntetycznego ujmowania zjawisk fizjologicznych, nie zatrzymywał się dłużej na szczegółach, których zbyt daleko posunięta analiza w ówczesnym stanie naszych w tym zakresie wiadomości, mogła raczej zaciemnić obraz zasadniczy. Tem się też zapewne tłumaczy, że niektóre fakty, spostrzegane niewątpliwie przez Pa w ł o w a, bądź jego uczniów, nie zwróciły baczniejszej na siebie uwagi, dzisiaj jednak staje się bardziej zrozumiałe i bardziej ważkie. Należy przecież zaznaczyć, że Pa w ł o w przez długi czas stał na stanowisku nerwowego mechanizmu wydzielania trzustki, dopiero wyniki prac Baylisa i Starlinga, potwierdzone przez szereg autorów, wprowadziło pojęcie humoralnego wydzielania soku trzustkowego. Już istnienie tych dwóch mechanizmów kryje w sobie możliwości pewnych odchyłeń od ustalonych typów wydzielniczych w poszczególnych przypadkach. Podobne okoliczności zachodziły również w stosunku do siły zaczynowej soku, wobec późniejszego stwierdzenia faktu, że niektóre z tych zaczynów znajdują się w soku trzustkowym w stanie nieczynnym i dopiero zetknięcie się soku z treścią dwunastnicy, powoduje przejście ich w stan czynny.

Przeciwno poglądom Pa w ł o w a występował już Popielski w pracach swoich i uczniów, głównie Wład. Mazurkiewicza. Krytyka Popielskiego skierowana była jednak przede wszystkim przeciwko idei celowości w ujęciu przez Pa w ł o w a zjawiska wydzielania i charakteru soku. Popielski starał się dowieść, że wchodzi tu w grę jedynie właściwości fizyczne i chemiczne danego bodźca, wpływającego na długość okresu wydzielniczego, szybkość wydzielania i zależny od tego, skład soku, a więc i jego wartość fizjologiczną. Innemi słowy mamy tu do czynienia, według tego badacza, jedynie z grą sił fizyczno-chemicznych, uwidoczniającą się w zjawisku biologicznym, a nie ze specyficznością bodźca i specyficznym, nastawieniem ustroju z korzyścią dlań, w myśl poglądów Pa w ł o w a, nacechowanych ideą celowości. Pod wielu względami krytyka Popielskiego, poparta temi przekonywującymi dowodami doświadczałnymi, okazała się uzasadnioną i, podważając z powodzeniem ideję celowości w ujęciu faktów, nie zaprzeczała jednak samym faktom, zdobytych w drodze do-

świadczenia przez szkołę Pawłowa, odnośnie ich istnienia i przebiegu zjawiska. Pod tym względem ważną jest rzeczą, że Popielski również przez długi czas nie uznawał humoralnego (sekretynowego) mechanizmu wydzielania trzustki i dopiero w ostatnich swych pracach zajął bardziej kompromisowe w tej sprawie stanowisko. Nie wdając się tutaj w dalszą i dokładniejszą analizę zjawisk wydzielniczych trzustki z punktu widzenia poglądów Popielskiego, co już uczyniłem w jednej z poprzednio ogłoszonych przeze mnie prac, chcę w tym artykule zwrócić uwagę jedynie na sam przebieg wydzielania trzustkowego w czasie i podkreślić ważność pewnych nieznanych dotąd, bądź niedostatecznie ocenianych momentów, które, zdaniem naszym, muszą odgrywać poważniejszą rolę i wpływać na przebieg samego zjawiska wydzielniczego, modyfikując zasadnicze typy krzywych wydzielania, podane przez Pawłowa. Odchylenia krzywych wydzielania od jej typowego przebiegu ustalonego przez szkołę Pawłowa, istnieje niewątpliwie i to nieraz w dość szerokich granicach, co sam mogłem stwierdzić w kilkudziesięciu doświadczeniach, wykonanych przeze mnie na psach z przewlekłą przetoką trzustkową. Przebieg wydzielania w moich doświadczeniach różnił się częstokroć nietylko od danych szkoły Pawłowa, przy zachowaniu takich samych, bądź przynajmniej bardzo podobnych warunków doświadczalnych, lecz także w przypadkach obserwacji, czynionych przeze mnie kilkakrotnie na tym samym zwierzęciu i z tym samym bodźcem pokarmowym. Fakty te, zresztą znane już były uczniom Pawłowa, wspomina o nich Babkin w swej monografii o wydzielaniu zewnętrznym gruczołów trawiennych, nie przypisując im jednak większego znaczenia i nie starając się zgłębić przyczyny tego zjawiska. Bagatelizował on również dane Bielgowskiego z 1907 roku, który już wtedy, na podstawie własnego materiału doświadczalnego, wyraźnie przeciwstawiał się tezom szkoły Pawłowa o typowych krzywych wydzielania trzustki, w zależności od charakteru bodźca pokarmowego. Niezgodność wyników Bielgowskiego z ustaleniami w tym względzie według Babkina faktami, stara się on wytłumaczyć nieodpowiednim materiałem i warunkami doświadczenia. Spostrzegane zaś przez uczniów Pawłowa pewne wahania w przebiegu zjawiska wydzielniczego trzustki,



które są przecież często tak wyraźne, że zupełne ich przemilczenie staje się niemożliwe, ujmuje Babkin, jako następstwo czynników raczej przypadkowych i zmiennych, towarzyszących wydzielaniu trzustki, wywołanemi przez zasadniczy bodziec fizjologiczny, jakim jest kwas solny. Do tych przypadkowych i zmiennych czynników zalicza Babkin funkcję ruchową żołądka, której napięcie może być różne w poszczególnych przypadkach, co łącznie z niezawsze jednakową ilością wyprodukowanego *HCl*, powoduje nierównomierny dopływ tego kwasu do dwunastnicy. Drugim takim czynnikiem natury ogólnej, jest według Babkina zapas wody w ustroju. Wreszcie należy według tego autora, wziąć pod uwagę istnienie w samych bodźcach pokarmowych różnych czynników, bądź pobudzających działanie trzustki, jak np. w mleku zawartość wody i tłuszczu przy obecności kwasów tłuszczowych, bądź hamujących, np. serwatki mleka. Niewątpliwie, że wymienione przez Babkina czynniki, mogą wpływać na przebieg wydzielania trzustkowego, sądzymy jednak na podstawie dużego i przeanalizowanego materiału doświadczalnego naszego zakładu, że nie są one ani jedyną ani najważniejszą przyczyną spostrzeganych zmian w krzywych wydzielania. Istnieją czynniki bardziej stałe, jako normalnie działające wpływy fizjologiczne, których sposobu i zasięgu działania nie znaleźliśmy przedtem dostatecznie. Ustaloną jest przecież dzisiaj rzeczą w związku z badaniami Gutowskiego, że histamina przedostająca się w bardzo małej ilości do krwi, jest również potężnym bodźcem względem gruczołów żołądka, jak i w przypadku podania jej podskórno, — przenikając do krwi, histamina musi pobudzić pośrednio przez kwas solny również czynność trzustki. Fakty te o tyle mają znaczenie dla poruszonego przez nas zagadnienia, że histamina jest ciałem dość łatwo powstającym i rozpowszechnionem, ma ona przecież znajdować się nietylko w treści jelita, lecz i w poszczególnych narządach, jak również i w błonie śluzowej przewodu pokarmowego (żołądka i jelit) i jest zapewne identyczna bądź co najmniej blisko spokrewniona chemicznie z niektórymi hormonami wydzielniczymi, jak np. sekretyna żołądkowa, czyli gastryna. Według Popielskiego, gastryna ma być ogniwem, poprzedzającym powstanie histaminy. Większe jeszcze, według nas ma znaczenie pod względem pośredniego działania wy-



dzielniczego na trzustkę, sekretyna trzustkowa. Hormon ten, przenikający do krwiobiegu na skutek działania na błonę śluzową dwunastnicy i górnego odcinka jelit treści żołądka, ściślej mówiąc kwasu solnego, jest, jak się to powszechnie przyjmuje, potężnym bodźcem fizjologicznym względem trzustki. Niezależnie od tego, wielokrotnie już potwierdzonego faktu, badania ostatnich lat wskazują, że sekretyna jelitowa, wbrew dawniejszym poglądom, jest również dość silnym bodźcem gruczołów błony śluzowej żołądka i skutkiem tego może ona niewątpliwie wtórnie pobudzać produkcję soku trzustkowego na drodze pośredniej, przez działanie przechodzącego do dwunastnicy kwasu solnego. Sprawę pobudzania czynności wydzielniczej gruczołów żołądka przez sekretynę jelitową, dokładnie zbadał w naszym zakładzie Walański. Wprowadzał on, mianowicie, przygotowaną w sposób zwykły z różnych odcinków jelit i kiszki grubej sekretynę podskórną bądź do krwi, wtedy mikrobiuręta Banga, i we wszystkich przypadkach stwierdził dość silne wydzielanie się soku żołądkowego (pies średniej wagi dawał  $25\text{cm}^3$  do  $40\text{cm}^3$ ). Również dodatnie wyniki otrzymał Walański po sekretynie jelitowej na człowieku. Przytoczone doświadczenia wskazywały również na to, że sekretyna przygotowana z niższych części przewodu pokarmowego, naogół działa słabiej aniżeli z odcinków wyższych. Coprawda Weawer jest zdania, że sokopędne działanie sekretyny jelitowej w stosunku do gruczołów żołądka zależne jest nie od samej sekretyny lecz od jej domieszek, czysta sekretyna nie daje według tego autora wydzielania soku trzustkowego. Wśród domieszek mogłyby tu wchodzić w grę przede wszystkim gastryna i histamina z którą sekretyny jelitowej nie można rzeczywiście identyfikować, choćby ze względu na różny zupełnie odczyn naczyniowy. Wszak oczyszczona sekretyna nie daje spadku ciśnienia krwi, który jest tak charakterystyczny dla histaminy u większości zwierząt. Również i względy chemiczne przemawiają przeciwko utożsamieniu obu tych pojęć. Sekretyna jelitowa bowiem ma być według Melanby'ego polypeptydem zawierającym fosfor.

Z drugiej zaś strony nie da się zaprzeczyć, że w sekretynie, otrzymanej w postaci wyciągu z błony śluzowej, muszą znajdować się obok niej inne ciała chemiczne, możemy tam

więc spotkać histaminę, bądź bardzo zbliżone do niej pod względem działania fizjologicznego związku, a to ze względu na silne uszkodzenie komórek, z których robimy wyciąg. Pobudzające więc działanie wyciągu sekretynowego na gruczoły żołądka mogłoby istotnie zależeć od domieszki histaminy. Jednak doświadczenia Walańskiego, w których uzyskał on wydzielanie soku żołądkowego pod wpływem sekretyny, wytworzonej na drodze fizjologicznej przez wprowadzenie kwasu solnego wprost do dwunastnicy a więc bez sztucznych domieszek, nie potwierdzają poglądów Weawera. Musimy więc przyjąć, że obok działania histaminowego sama sekretyna, zjawiająca się we krwi podczas przechodzenia treści pokarmowej przez dwunastnicę, wpływa pobudzająco na pracę gruczołów żołądka. Ze względu zaś na ścisłą zależność, jaka istnieje między produkcją kwasu solnego i wydzielaniem soku trzustkowego, okoliczność ta musi wpływać wybitnie na przebieg krzywej wydzielania trzustkowego, modyfikując ją zresztą rozmaicie w poszczególnych przypadkach. Do tej pory mówiliśmy o czynnikach, które mogły wpływać dodatnio, to znaczy zwiększać wydzielanie soku trzustkowego, obecnie chcę jeszcze zwrócić uwagę na fizjologiczne czynniki humoralne, przedtem nam nieznane, których pośrednie działanie może iść w kierunku ujemnym, czyli ograniczającym wydzielanie trzustki. Chodzi mi tutaj o wpływy hamujące wydzielanie soku żołądkowego, jaki wywierają podane podskórnie lub powoli wprowadzane do krwi mikrobiureta Banga biodializaty z dolnych części kiszek, przez zawarte w nich ciała organiczne, bliżej jeszcze dotąd nieokreślone. Według Walańskiego, który spozstrzegł i opisał to zjawisko, wydzielanie żołądkowe, wywołane określoną dawką histaminy, może być zahamowane w ten sposób do połowy lub nawet czwartej części ustalonego poprzednio efektu wydzielniczego i okres hamowania trwa od 5—8 godzin. Jasną jest więc rzeczą, że, o ile chodzi w tych doświadczeniach z hamowaniem wydzielania soku żołądkowego o czynniki fizjologiczne natury humoralnej, co, na podstawie dotychczasowych danych, jest bardzo prawdopodobne — mielibyśmy tu również do czynienia z pośrednim wpływem, tylko w znaczeniu ujemnym, na wydzielanie trzustkowe przez ograniczenie dopływu do dwunastnicy kwasu solnego.



Wymieniony więc przeze mnie wyżej szereg faktów fizjologicznych pozwala nam dokładniej zrozumieć te liczne wahania w przebiegu krzywej wydzielania soku trzustkowego w każdym niemal przypadku doświadczenia i ująć szerzej ich przyczyny, niż to czyniliśmy dotychczas. Typowe krzywe wydzielania, ustalono przez szkołę Pawłowa, musimy więc uznać, zgodnie ze współczesnym stanem naszych wiadomości w tej dziedzinie, za zbyt szematycznie ujęte i choć w zasadniczych liniach w znacznym stopniu są bliskie prawdy, ze względu na charakterystyczny sposób oddziaływania ustroju względem poszczególnych chemiczno-fizycznych bodźców pokarmowych, to jednak nieściśle oddają one istotny stan rzeczy w tym dziale fizjologii, ponieważ przy ich wykreślanu nie liczone się z wpływem wielu czynników fizjologicznych, które tu działają.

---

---

## Influence des facteurs physiologiques jusqu'à présent peu considérés sur le caractère de courbe de la sécrétion du suc pancréatique

par

Fr. Czubalski

L'auteur discute l'action des différents facteurs physiologiques, ayant une influence sur la sécrétion du suc pancréatique. Les courbes sécrétoires typiques présentées par l'école de Pawłow sont, en vue de l'état actuel de nos connaissances dans ce domaine, trop schématiques. En prenant en considération les divers facteurs physiologiques ayant son influence sur la sécrétion, on peut mieux comprendre les multiples balancements au cours de la sécrétion du suc pancréatique dans différents types de l'expérience.



MICHAŁ GEDROYĆ

## **Wyciągi i rozciery z tkanek zwierzęcych i ich stosunek do wazodilatyny, peptonu, histaminy oraz do zmian grupowego charakteru elementów morfotycznych krwi**

Badania zmiany grupowego charakteru czerwonych ciałek krwi przez impregnację zhemolizowanymi krwinkami, czy też wyciągami z tkanek zwierząt grupowo obcych i wywoływaniem przez iniekcje śródżylnie tak zmienionych ciałek, zjawiskami wstrząsowymi, nasunęły przypuszczenie, czy niema pewnej przynajmniej równoległości pomiędzy temi zjawiskami, a działaniem wyciągów z krwi.

Popielski i Studziński sądzili, że objawy zatrucia, występując przy przetaczaniu krwi, są zależne od wazodilatyny znajdującej się rzekomo w gotowym stanie, w elementach morfotycznych krwi. Objawami temi byłyby spadek ciśnienia krwi, jej niekrzepliwość, zwiększone wydzielanie gruczołowe i inne.

Biorąc pod uwagę zdolności absorbcyjne czerwonych ciałek krwi względem pewnych ciał czynnych, zawartych w tkankach i narządach ustroju zwierzęcego, jak względem aglutynin, ciał hiper i hypotenzyjnych, hormonalnych i innych, nasuwało się przypuszczenie, że zmiany zachodzące w organizmie pod wpływem śródżylnych iniekcji wyciągów z tkanek i narządów, mogą mieć za przyczynę zmiany w elementach morfotycznych krwi. Zmiany te z kolei prowadziłyby do zjawisk wstrząsowych, które zazwyczaj łączono z bezpośrednim wpływem wyciągów. Takim ciałem, otrzymywanem z tkanek i narządów miałyby być wazodilatyna, czy też histamina, lub „ciała do niej podobne“.

Praca niniejsza została podzielona na dwie części. W części pierwszej zestawiono wyniki iniekcji śródżylnych do ustroju zwierzęcego, wyciągów i rozcierów z rozmaitych tkanek i narządów zwierzęcych, przygotowanych zresztą rozmaitemi metodami i przy uwzględnieniu materiału doświadczalnego porównawczego.

W drugiej części przedstawiono wyniki otrzymane w badaniach nad krwią. Jak zaznaczono w tytule, został przede wszystkim uwzględniony wzajemny stosunek ciał czynnych, mogących przy tego rodzaju doświadczeniach wchodzić w rachubę.

### Część doświadczalna:

Celem ułatwienia orientacji doświadczenia porównawcze nad wpływem na ustrój zwierzęcy wyciągów i rozcierów z tkanek i narządów przy wprowadzeniu dożylnem zostały ujęte w dwie tablice synoptyczne.

Z przeglądu zestawionych w tablicach doświadczeń nasuwa się przede wszystkim ogólny wniosek, że wyciągi i rozciery z narządów i tkanek organizmów dojrzałych, przygotowane na 0,9% *Na Cl* są bardziej jadowite (Nr. Nr. 34, 35...), aniżeli wyciągi i rozciery przygotowane na  $n/10$  *H Cl* (Nr. Nr. 33, 32...).

Działanie ciał czynnych zaznacza się spadkiem ciśnienia krwi, zmianą jej krzepliwości i odwróceniem wzoru leukocytarnego. Nierzadkim rezultatem jest śmierć zwierzęcia, następująca wśród objawów porażenia ośrodków oddechowych. Wyciągi z tkanki płucnej są bardziej jadowite, aniżeli z tkanki nerwowej.

Wyciągi dają przyspieszoną krzepliwość krwi, rozciery natomiast przedłużają czas jej krzepliwości.

W poprzedniej pracy<sup>1), 2)</sup> wykazałem, że jadowitość tkanki nerwowej rośnie w kierunku filogenetycznym i ontogenetycznym wstępującym. Załączone w tablicach doświadczenia pozwalają, z pewnym zastrzeżeniem, na wysnucie podobnych wniosków odnośnie do drugiego narządu odznaczającego się u zwierząt ssących największą jadowitością, t. j. do płuc.

<sup>1)</sup> Gedroyć M. Badania porównawcze nad jadowitością tkanki nerwowej Pol. Gaz. Lek. Nr. 38 1928 i Cpt. Rend. de la Soc. de Biol, 100, 1929.

<sup>2)</sup> Gedroyć M. Z badań nad jadami tkanki nerwowej i płuc. Rozpr. Biol. Akad. Med. Wet. t. VII 1930.

Tablica I.  
Wyciągi i rozciery z mózgu i płuc królika dojrzałego.

Nr. królika i waga w g	Ilość wprowadzo- nego materiału w cm <sup>3</sup>	Wyciągi	Rozciery	Ciśnienie krwi			Krzepliwość krwi			Ilość białych ciałek krwi				Ilość myelocytów i mononuklearów				Materiał użyty do wstrzy- kiwania	
				norma	po iniekcji	koncowe	norma	po iniekcji	10' 15'	norma	10'	15'	norma	% 5'	% 10'	% 15'	norma		% 5'
Nr. 17, 1,800	4	NaCl	—	128	—	109	9'	6'	—	—	—	97	29.4	—	—	—	—	mózg	
Nr. 18, 2,100	4	NaCl	—	136	0.0	—	10'	1'30"	—	—	—	29	13	—	—	—	—	płuca	
Nr. 31, 1,830	4.2	HCl	—	132	—	104	11'	6'	7'	—	—	43	45.5	52	—	—	—	mózg	
Nr. 30, 1,600	4	HCl	—	—	0.0	—	8'	30"	—	—	—	12	2	—	—	—	—	płuca	
Nr. 52, 3,650	6.5	HCl	—	118	—	—	11'	9'	11'	10'	—	9.800	7.600	5.400	9.200	37.2	82	34.8	mózg
Nr. 53, 3,920	7	HCl	—	140	116	—	12'	9'	8'	10'	—	10.000	5.000	7.400	9.200	93	22.4	25.6	płuca
Nr. 33, 2,600	2.5	—	HCl	124	—	—	9'	30'	—	—	—	8.600	7.200	—	—	19.5	17.5	—	mózg
Nr. 32, 2,900	2	—	HCl	116	106	—	8'	28'	—	—	—	7.400	5.800	—	—	8.4	10.4	—	płuca
Nr. 34, 1,870	1	—	NaCl	—	0.0	—	11'	1'11"	—	—	—	11.000	1.000	—	—	10.2	9.5	—	mózg
Nr. 35, 1,600	1	—	NaCl	—	0.0	—	9'	45'	—	—	—	6.600	1.800	—	—	29.1	9.5	—	płuca



Tablica II.  
Wyciągi i rozciery z mózgu i płuc młodych królików, żaby i gołębia.

Nr. królika i waga w g	Ilość wprowadzo- nego materiału w cm	Wyciągi	Rozciery	Ciśnienie krwi			Krzepliwość krwi			Ilość białych ciałek krwi			Ilość myelocytów i mononukleów			Materiał użyty do iniekcji i gatunek zwierzęcia
				norma	po iniekcji	końcowe	norma	po iniekcji	10' 15'	norma	po iniekcji	10' 15'	norma	% 5'	% 10'	
Nr. 38, 2,270	2	—	HCl	122	107	107	9' 20'	—	—	—	—	—	—	—	—	mózg z 48 h młoda królika
Nr. 39, 1,620	2	—	HCl	98	56	86	8' 30'	—	—	—	—	—	—	—	—	płuca
Nr. 48, 2,750	1-2	—	NaCl 1:2	138	110	136	124	10' 25'	—	—	—	—	—	—	—	mózg
Nr. 42, 1,840	1	—	NaCl 1:2	—	0-0	—	—	8' 50'	—	—	—	—	—	—	—	płuca
Nr. 41, 1,700	2	HCl	—	136	132	—	134	8' 45'	—	—	—	—	—	—	—	mózg
Nr. 40, 2,500	1-6	HCl	—	142	120	—	138	9' 40'	—	—	—	—	—	—	—	płuca
Nr. 54, 3,000	5	HCl	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	mózg z 24 h
Nr. 55, 2,100	4	HCl	—	—	0-0	—	—	8' 28' 23"	—	—	—	—	—	—	—	płuca
Nr. 50, 2,550	2-2	—	NaCl 1:10	113	108	100	112	10' 32'	—	—	—	—	—	—	—	płuca i wątroba
Nr. 51, 2,320	2	NaCl 1:10	—	120	—	—	106	11' 18'	—	—	—	—	—	—	—	"
Nr. 36, 1,550	1	—	NaCl 1:5	102	—	—	100	8' 15'	—	—	—	—	—	—	—	mózg żaby
Nr. 37, 1,600	1	—	NaCl 1:5	118	—	—	110	7' 17'	—	—	—	—	—	—	—	płuca

Z badań tych okazuje się, że jeżeli królikowi dojrzałemu wprowadzimy dożylnie 1—2  $cm^3$  rozciery z mózgu 48 godzinnego miotu królika, przygotowanego na 0,9% *NaCl*, w stosunku 1:2, więc w stosunkowo wielkim stężeniu, w porównaniu z dawkami śmiertelnymi z tkanki nerwowej zwierzęcia dojrzałego, to w wypadkach takich następuje wprawdzie (nie zawsze) lekki spadek ciśnienia krwi, spadek ten jednak jest krótkotrwały. Różnica w ilości białych ciałek krwi przed i po iniekcji, jak również we wzorze leukocytarnym, jest nieznaczna. Jeżeli natomiast wprowadzimy dożylnie królikowi dojrzałemu tak samo przygotowany materiał z płuc 48 godzinnego miotu królika, w tej samej ilości, lecz w rozcieńczeniach o wiele większych (1:10, 1:50, 1:100), to śmierć zwierzęcia następuje niejednokrotnie jeszcze w czasie wstrzykiwania.

W stosunku więc do mózgu, którego jadowitość rośnie z biegiem dojrzewania tkanki nerwowej w rozwoju ontogenetycznym, płuca embrjonalne tego zjawiska nie wykazują.

Fakt ten może do pewnego stopnia dziwić choćby dlatego, że podejrzewanej o działanie czynne w wyciągach i rozcierach (w wazodilatynie Popielskiego) histaminy, albo ciał podobnych do histaminy, w narządach embrjonalnych, bądź zupełnie niema, bądź też występuje w znikomych ilościach<sup>1)</sup>.

Mimo więc, że nie udało się znaleźć dla płuc ontogenetycznej paraleli z jadowitością tkanki nerwowej, to jednak pewne doświadczenia wykonane przy użyciu świeżego materiału pochodzącego od płazów i ptaków wykazują, że w odniesieniu do tkanki płucnej można przynajmniej mówić o filogenetycznym wzroście jadowitości tej tkanki. Doświadczenia bowiem Nr. Nr. 36, 37, 50, 51, wykazują, że jadowitość tkanki płucnej zwierząt stojących filogenetycznie niżej jest w porównaniu z jadowitością tkanki płucnej zwierząt ssących, przy tem samym przygotowaniu materiału i dozowaniu — znikoma.

Wyciągi z pokrajanych na drobne części narządów zwierząt dojrzałych przyspieszają zawsze krzepliwość krwi. Natomiast nie tylko rozciery z tkanek i narządów embrjonalnych, ale nawet

---

<sup>1)</sup> Feldberg W. i E. Schilf. Histamin — Seine Pharmakologie u. Bedeutung für die Humoralphysiologie. Berlin, J. Springer 1930.



wyciągi z pokrajanych narządów embrjonalnych przedłużają czas krzepliwości krwi. P o p i e l s k i, C z u b a l s k i<sup>1)</sup> i in. uważają, że dla otrzymania ciał przedłużających czas krzepliwości krwi, czyli dla uzyskania t. zw. wazodilatyny konieczne jest dokładne roztarcie odpowiedniej tkanki, ażeby ciała obniżające ciśnienie krwi i zwiększające jej niekrzepliwość mogły zostać uwolnione z komórek. Twierdzenie to, jak widzieliśmy wyżej, daje się zastosować tylko do tkanek zwierząt ssących dojrzałych, tkanki bowiem embrjonalne (nie wszystkie) i tkanki homologiczne zwierząt filogenetycznie niżej stojących, dają również w wyciągach z pokrajanych narządów „wazodilatyny“, t. j. ciała przedłużające czas krzepliwości krwi.

Czy zjawisko to jest związane z łatwiejszą denaturacją lub peptonizacją ciał białkowych zwierząt „niedojrzałych“ (embrjonalnych i filogenetycznie różnych) to kwestja, którą omówimy w części ogólnej.

### Stosunek wazodilatyny do peptonu i histaminy.

Jeżeli chodzi o charakter ciał czynnych otrzymywanych z roztartych tkanek i narządów zwierzęcych (wazodilatyny) pod względem fizyko - chemicznym i farmakodynamicznym, to przede wszystkim narzuca się porównanie między wazodilatyną a peptonem W i t t e ' g o. Obydwa ciała dają obniżenie ciśnienia krwi, jej zwiększoną niekrzepliwość i czasowe uodpornienie. Istniejące z drugiej strony dość wyraźne różnice fizyko - chemiczne i farmakologiczne (za wyjątkiem wazodilatyny otrzymywanej ze śluzówki jelita) wskazują n. p. na to, że temperatura wyższa bądź wybitnie osłabia, bądź też w zupełności niszczy działanie wazodilatyny otrzymanej z roztartych narządów, gdy równocześnie pepton działaniu temperatury nie ulega. — Pepton zwiększa niekrzepliwość krwi również *in vitro*, gdy wazodilatyna tej własności nie posiada. — Wazodilatyna posiada zdolność czasowego uodpornienia przeciwko wtórnej iniekcji (n. p. w dawce śmiertelnej, lub wielokrotnej) wazodilatyny, nie potrafi jednak uodpornić zwierzęcia czasowo przeciwko następczej iniekcji peptonu (jak miałem sposobność wykazać dla wyciągów

---

<sup>1)</sup> Czubalski F. O jadowitych własnościach narządów. Przegląd lekarski Nr. 95, 1913.



z tkanki nerwowej 4, Czubalski zaś dla wyciągów z tkanki płucnej 7), gdyż w tych wypadkach po iniekcji peptonu następuje typowy dla tego ciała spadek ciśnienia krwi. Naodwrot pepton uodpornia ustrój zwierzęcy zawsze przeciwko wtórnej iniekcji wazodilatyny.

Co ciekawsze, wazodilatyna otrzymana z narządów embrjonalnych homologicznych, uodpornia czasowo w stopniu o wiele słabszym, aniżeli wazodilatyna otrzymana z tkanek dojrzałych, gdyż po iniekcji materiału „dojrzałego“ następuje znaczny spadek ciśnienia krwi<sup>4), 5)</sup>.

Możnaby więc do pewnego stopnia przypuszczać, że zdolność uodporniająca wazodilatyny rośnie wstępująco, osiągając maksimum działania uodporniającego w peptonie. Denaturacja zatem białka, idąca w kierunku zwiększającej się peptonizacji, może być przyczyną w niektórych wypadkach mniej lub więcej silnego działania obniżającego ciśnienie krwi, zwiększającego jej niekrzepliwość i uodporniającego.

Popielski stwierdza w jednej z ostatnich prac 8), że podskórne iniekcje wyciągów z narządów (wazodilatyny), powodują wydzielanie soku żołądkowego. Wyciągi takie jednak, poddane wpływowi soku żołądkowego zostają w swoim działaniu wydzielniczym osłabione, powodując zmniejszoną sekrecję gruczołową; naturalnie odpowiednio do siły i czasu działania fermentów na ciała białkowe znika zdolność pobudzania sekrecji gruczołowej, przyczem równocześnie znika w wyciągach histamina.

Analogicznie zatem do tego, cośmy poprzednio powiedzieli o wroście wstępującym zdolności uodporniającej wazodilatyny w kierunku zwiększonej jej peptonizacji, możemy i w powyższym wypadku powiedzieć, że wzrost siły uodporniającej wazodilatyny idzie równolegle z utratą funkcji pobudzającej wydzielanie soku żołądkowego.

Maksimum tej utraty osiągamy w peptonie.

Popielski<sup>1)</sup> uważa za ciało czynne znajdujące się w wazodilatynie a będące przyczyną wzmożonego wydzielania soku żołądkowego histaminę. Kwestję zaś, czy histamina w wyciągach z narządów jest jedynem ciałem obniżającym ciśnienie krwi, rozstrzyga na drodze fizjologicznej w ten sposób, że dobiera takie ilości wyciągu kiszkiowego i czystej histaminy, które po pod-

skórnem wprowadzeniu psu z przetoką żołądkową powodowały wydzielane różnych ilości soku żołądkowego. Po wprowadzeniu dożylnem takich równoważących się dawek przekonał się, że po wprowadzeniu wyciągu obniżenie ciśnienia krwi było dwa razy większe, aniżeli po histaminie.

Stąd wyprowadził P o p i e l s k i wniosek, że w wyciągu kiszkowym znajduje się oprócz histaminy jeszcze inne ciało, od którego zależy obniżenie ciśnienia krwi, jej niekrzepliwość i uodpornienie czasowe.

Najprawdopodobniej więc mamy do czynienia w tym wypadku z peptonem, do którego w wyciągu kiszkowym dołącza się działanie histaminy. Obecność swoistych ciał tkankowych nie jest tutaj również wykluczona. Rezultatem działania tych ciał jest spadek ciśnienia krwi o znaczniejszej sile.

Przy odwrotnem eksperymentowaniu, t. j. dobierając odpowiednie dawki histaminy i wyciągu kiszkowego tak, ażebyśmy po iniekcji dożylniej otrzymali taki sam spadek ciśnienia, wprowadzenie podskórne tych dawek da nam dla histaminy dwa razy większą ilość wydzielonego soku żołądkowego.

St e u s i n g<sup>1)</sup> w swoich badaniach nad fizjologicznem działaniem wyciągu z kiszek i histaminy stara się oddzielić ciała czynne działające w wyciągach przy pomocy metod chemicznych, co mu się udaje przy użyciu alkoholu metylowego.

Dla tych samych celów, t. j. uwolnienia z histaminy wyciągu z kiszek sporządzonego przez P o p i e l s k i e g o, używałem aktywnego węgla drzewnego ze skutkiem szybkim i pozytywnym, podobnie jak to się stosuje, jeżeli chodzi o oczyszczenie z histaminy rozmaitych preparatów peptonowych, czy też gdy chodzi o absorbcję produktów rozpadu białka w jelicie, tworzących t. zw. dynamikę krwi w czasie trawienia (K o s k o w s k i<sup>2)</sup>).

Z doświadczeń tych okazało się, że wyciąg kiszkowy po podaniu go działaniu węgla traci w zupełności histaminę, pozostawiając

---

<sup>1)</sup> Steusing Z. O stosunku  $\beta$  — i do fizjologicznego działania krwi, wyciągów z narządów, preparatów peptonowych i niektórych środków spożywczych i używek. Arch. Tow. Nauk. we Lwowie t. II 1922.

<sup>2)</sup> W. Koskowski. Właściwości dynamiczne krwi w czasie trawienia. „Kosmos“ T. 55 z. I—II 1930 str. 149.



stają natomiast nietknięte własności obniżania ciśnienia krwi, niekrzepliwość i zdolność uodporniania. Identyczne wyniki otrzymujemy, poddając działaniu węgla pepton.

W przeciwieństwie do wyciągu kiszkowego wszelkie inne świeże wyciągi i rozciery z narządów, o ile ich peptonizacja nie osiąga pewnego poziomu, poddane działaniu węgla aktywnego, tracą wszystkie własności charakterystyczne dla działania wazodilatyny względnie peptonu.

To samo cośmy powiedzieli o działaniu aktywnego węgla drzewnego na świeże wyciągi i rozciery z narządów, możemy zauważyć i w działaniu wyższej ciepłoty. Wyższa ciepłota niszczy również wszystkie własności wazodilatyny otrzymanej z rozartych narządów, co dziwniejsze jednak, po wstrzyknięciu podskórnem niszczy również ich zdolność pobudzania wydzielania soku żołądkowego. Jak wyżej widzieliśmy zdolność ta zależy od histaminy znajdującej się w wyciągach z narządów; słusznie więc nasuwa się pytanie co do przyczyny znikania działania histaminy, która wytrzymuje wpływ wyższej ciepłoty.

Z doświadczeń jednak Best'a, Dale'a, Dudley'a i Thorpe'a<sup>1)</sup> wynika, że roztwory chemiczne czystej histaminy posiadają zupełnie inne własności fizykochemiczne, aniżeli histamina rodzima, znajdująca się w narządach lub w pewnym okresie ich obróbki powstająca. Co ciekawsze jeszcze, czysta histamina dodana do wyciągów z organów zatracza poprzednie własności (zob. Feldberg i Schilf).

Innym z kolei zarzutem, który można postawić teorii histaminowej, chcącej w wazodilatynie, lub raczej w różnym stopniu speptonizowanych ciałach białkowych widzieć tylko działanie histaminy czy też jakichś ciał podobnych do histaminy (Dale<sup>2)</sup>, Feldberg i Schilf) jest fakt, że histamina nie zwiększa niekrzepliwości krwi. Wiadomo jednak, że wyciągi z narządów i ciała peptonowe zwiększają niekrzepliwość krwi tylko w tym wypadku, kiedy przejdą przez naczynia krwionośne przewodu pokarmowego i wątroby. Ominięcie tych narządów po iniekcjach wazodilatyny i peptonu wywołuje wprawdzie spadek ciśnienia krwi, nie sprowadza natomiast jej niekrzepliwości.

<sup>1)</sup> Best, Dale, Dudley i Thorpe. *J. of. Physiol.* 62, 1927.

<sup>2)</sup> Dale. *J. of. Physiol.* t. 48, 1911.



W ostatnim więc wypadku ciała peptonowe (wazodilatyna), zachowują się w zupełności tak, jak histamina. Mimo wszystko jednak istnieje dość wyraźna różnica między ciałami wchodzącymi tutaj w grę. Histamina, jak wiadomo, w żadnym wypadku nie spowoduje niekrzepliwości krwi, często ją nawet przyspiesza, podobnie jak wyciągi „z pokrajanych narządów“, wazodilatyna zwiększa niekrzepliwość krwi *in vivo* i to w tym większym stopniu, im silniejsza jest jej peptonizacja. Pepton zwiększa niekrzepliwość krwi *in vivo* i *in vitro*. W ostatnim jednak wypadku, możnaby zauważyć, jeżeli weźmiemy pod uwagę opisane wyżej działanie peptonu z ominięciem przewodu pokarmowego i wątroby, że ciało powodujące w peptonie niekrzepliwość krwi *in vitro*, nie jest być może identyczne z tem, które powstaje pod wpływem peptonu przy iniekcjach dożylnych *in vivo*.

Mimo to jednak pepton i w tym wypadku działa silniej i wyraźniej, aniżeli wyciągi z narządów (wazodilatyna).

Wyłączając w pewnych warunkach czynnik niekrzepliwości krwi z ciał peptonowych, chcieliby niektórzy autorowie identyfikować ciało czynne z histaminą, względnie z jakimś ciałem podobnym do niej (Dale, Dale i Laidlaw<sup>1)</sup>, Popielski<sup>2)</sup>, Feldberg i Schilf). Czy w peptonie jednak ciałem czynnem jest jakieś ciało, podobne do histaminy (Feldberg i Schilf), to kwestja jeszcze otwarta.

Na razie więc, reasumując nasze rozważania, możemy powiedzieć, że peptonizacja wyciągów z narządów (wazodilatyny) prowadzi do zniszczenia (względnie związania) histaminy. Ciałem więc czynnem w wazodilatynie, uzyskanej z narządów zawierających histaminę, byłaby histamina tylko dodatkowo i przejściowo, w końcowym zaś efekcie pepton, albo produkty denaturacji białka.

Jeżeli chodzi o wyciągi z tkanki krwionośnej, w których Popielski i Studziński chcą widzieć również działanie wazodilatyny, to sprawa przedstawia się cokolwiek bardziej złożoną.

Popielski<sup>2)</sup> jeszcze w roku 1902 zauważył, że wyciągi z krwi, wprowadzone psu dożylnie, wywołują wydzielanie soku

<sup>1)</sup> Dale i Laidlaw. J. of. Physiol. 41, 1910.

<sup>2)</sup> Popielski L. Russkij Wracz Nr. 49, 1902

trzustkowego, żołądkowego, śliny i żółci. W roku 1907<sup>1)</sup>, wypowiedział przypuszczenie, że szkodliwe następstwa transfuzji krwi są wynikiem działania wazodilatyny, którą w roku 1909<sup>2)</sup> znajduje również w elementach morfotycznych krwi.

Zanim przejdę do szczegółowej analizy odnoszącej się do zawartości ciał czynnych w elementach krwi, pozwolę sobie zauważyć, że próby czynione przez Popielskiego, Popielskiego i Panka<sup>3)</sup>, Studzińskiego (w odniesieniu do krwi) i in., ażeby na drodze chemicznej uzyskać z tkanek wazodilatynę, nie wykazały bynajmniej, iż ciałem czynnem w wyciągach z krwi jest wazodilatyna.

Widzieliśmy wyżej, że Popielski w ostatnich swoich badaniach redukuje własności hipotetycznej wazodilatyny do jej działania depressorycznego, zwiększającego niekrzepliwość krwi i uodporniającego, wyodrębniając przez poddanie wyciągów działaniu fermentów — histaminę, a więc wydzielanie gruczołowe.

Doświadczenia Popielskiego nad wazodilatyną we krwi, podejmuje w szeregu prac Studziński, zamykając je w systematycznym dziele „O zagadnieniu jadowitych własności krwi“. (Kijów, 1913 r.).

Doświadczenia Studzińskiego można sprowadzić do transfuzji krwi homo- i heterogenetycznej, przyczem w wypadku pierwszym ciśnienie krwi pozostaje bez zmian, albo występuje niewielkie podwyższenie ciśnienia, w wypadku drugim najczęściej (wyjątek stanowi tutaj świnia domowa<sup>4)</sup>), bardzo silny spadek ciśnienia krwi, jej niekrzepliwość (?) i zwiększone wydzielanie gruczołowe.

Wszystkie objawy, występujące przy przetaczaniu krwi heterogenetycznej, lub jak powiedzieliśmy przy dzisiejszym stanie nauki, obcej grupowo, mają według Studzińskiego za przyczynę, uwolnioną w skutek rozpadu czerwonych ciałek krwi wazodilatynę znajdującą się „w gotowym stanie“ w elementach morfotycznych krwi.

Jeżeli odrzucimy z doświadczeń Studzińskiego a priori, jako atrybut wazodilatyny pobudzające działanie tejsze

<sup>1)</sup> Popielski L. Lwowski tygodnik lekarski Nr. 1, 1908.

<sup>2)</sup> Popielski L. Pflugers Arch. f. d. ges. Phys. t. 128, 1909.

<sup>3)</sup> Popielski L. i K. Panek. Ibidem t. 128, 1909.

<sup>4)</sup> Studziński, Kijów 1918.



na wydzielanie gruczołowe, a przypiszemy je wpływowi histaminy, jak to dla wyciągów z tkanek wykazał Popielski, a Koskowski dla czerwonych ciałek krwi, to jako własności wazodilatyny znalezionej przez Studzińskiego we krwi pozostanie jej wpływ na ciśnienie krwi i jej niekrzepliwość.

Przyjmijmy na chwilę, że przetaczanie krwi heterogeneicznej, względnie izogenetycznej, lecz obcej grupowo, powoduje spadek ciśnienia krwi, zależny od odczynu aglutynacji, a nie wazodilatyny, to jako własność wazodilatyny pozostanie jej wpływ na krzepliwość krwi.

Popielski dla peptonu i wazodilatyny, Studziński dla wazodilatyny znajdującej się w czerwonych ciałkach krwi wykazują, że iniekcje tych ciał z wykluczeniem przewodu pokarmowego powodują wprawdzie spadek ciśnienia krwi, nie zmieniają jednak czasu jej krzepliwości.

Przypiszmy spadek ciśnienia krwi przy jej przetoczeniu reakcji aglutynacji, to po wykluczeniu przewodu pokarmowego wazodilatyna, znajdująca się w elementach krwi, okaże się ciałem nieczynnym.

Popielski i Studziński wysnuwają ze swoich doświadczeń wniosek, iż ciało powodujące niekrzepliwość krwi powstaje dzięki działaniu bodźca na śródbłonek naczyń przewodu pokarmowego. Tym bodźcem ma być wazodilatyna.

Studziński słusznie zauważył, że dla otrzymania niekrzepliwości krwi przy przetaczaniu nie potrzeba głodzić zwierząt przez 24 godzin, jak to zaleca Salvioli<sup>1)</sup>, gdyż Studziński otrzymywał zwiększenie czasu krzepliwości przy jej przetaczaniu nawet bez wszelkiego głodzenia.

Na poparcie poglądu, że ciałem czynnym we krwi jest odczyn aglutynacji, że zarówno spadek ciśnienia krwi jak i jej niekrzepliwość są zależne od tego odczynu, a nie wazodilatyny, przytoczę kilka doświadczeń, wykonanych przezemnie nad zmianą grupowości krwi<sup>2)</sup> w związku z własnościami absorbcyjnymi czerwonych ciałek krwi względem pewnych substancyj czynnych i zjawiskami wstrząsowemi, wywoływanemi przez iniekcje tak zmienionych elementów krwi.

<sup>1)</sup> Salvioli J. Arch. ital. de Biol. t. 92, 1904.

<sup>2)</sup> Gedroyć M. Cpt. rend de la Soc. de Biol. t. 107 Nr. 21, 1931.



Doświadczenia przedstawiają się następująco:

## II. Część doświadczalna:

### **Iniekcje czerwonych ciałek krwi homologicznych impregnowanych hemolizatem z czerwonych ciałek krwi innego gatunku.**

Pies wagi 7,5 kg uśpiony chloralozą, otrzymuje dożylnie 4 cm<sup>3</sup> czerwonych ciałek krwi własnego gatunku, impregnowanych przedtem hemolizatem z czerwonych ciałek krwi królika, głodzonego przez 5 dni<sup>1)</sup>. Cz. c. k. psa impregnowano przez 40' w ciepłocie 37° C; po dokładnem przemyciu zhemolizowano je wodą przekroploną.

Po iniekcji krzepliwość krwi zostaje przyspieszona. Ciśnienie krwi ze 196 mm Hg spada do 104 mm Hg.

Pies wagi 5,6 kg uśpiony chloralozą, otrzymuje dożylnie 5 cm<sup>3</sup> cz. c. k. homologicznych impregnowanych przez 1 godzinę hemolizatem z cz. c. k. królika w stosunku 1 : 1, w ciepłocie 37° C. Zwierzęta, od których brano krew, były głodzone przez 6 dni.

Ciśnienie krwi z 220 mm Hg spada na 182 mm Hg.

Królik wagi 1930 g otrzymuje dożylnie 1,5 cm<sup>3</sup> impregnowanych hemolizatem z czerwonych ciałek krwi własnego gatunku, które były przedtem impregnowane wyciągiem z płuc królika dojrzałego.

Ciśnienie krwi w czasie iniekcji podnosi się ze 140 mm Hg na 146, po 2'30" opada do 136 mm Hg, po dalszych 30", przy zwiększonej akcji serca i zwolnionym oddechu podnosi się do 156, po kilku zaś następnych minutach osiąga poziom 178 mm Hg. Po kilkudziesięciu minutach ciśnienie krwi szybko opada do zera, zwierzę ginie wśród objawów wstrząsu.

**Wnioski:** 1) Impregnacja homologicznych czerwonych ciałek krwi hemolizatem z krwinek innego gatunku zwierzęcia, prowadzi do silnego spadku ciśnienia krwi, który może się skończyć śmiercią zwierzęcia.

2) Krew i tkanki zwierząt głodzonych zawierają po dłuższym głodzeniu mniej ciał czynnych (K o s k o w s k i), stąd i od-

czynny biologiczne otrzymane przy pomocy czerwonych ciałek krwi głodzonych są słabsze.

### **Iniekcje homologicznych czerwonych ciałek krwi impregnowanych wyciągami z tkanki płucnej.**

Królik wagi 1860 g otrzymuje dożylnie 2,5 cm<sup>3</sup> krwinek zhemolizowanych, impregnowanych przez 18 godzin w lodowni wyciągiem z płuc królika dojrzałego.

Ciśnienie krwi ze 140 mm Hg wzrasta stopniowo w ciągu kilkudziesięciu minut, osiągając swe maksimum 182 mm Hg, po czym przy nagłym spadku ciśnienia zwierzę ginie wśród objawów wstrząsu.

Królik wagi 1850 g otrzymuje dożylnie 2 cm<sup>3</sup> homologicznych krwinek impregnowanych przez 6 godzin w lodowni, wyciągiem z płuc królika dojrzałego. Czerwone ciała krwi po przemyciu zostały zhemolizowane.

Charakter krzywej ciśnienia krwi jest identyczny z poprzednimi. Zwierzę po kilkudziesięciu minutach ginie.

Królik wagi 1700 g otrzymuje dożylnie zrab z 8 cm<sup>3</sup> zhemolizowanych krwinek, impregnowany przez 12 godzin na lodzie, wyciągiem z płuc królika dojrzałego.

Śmierć zwierzęcia następuje po kilku minutach wśród objawów wstrząsu.

Królik wagi 1700 g otrzymuje dożylnie 2,5 cm<sup>3</sup> krwinek impregnowanych przez 3 godziny w ciepłocie 37° wyciągiem z płuc królika dojrzałego. Ciała krwi wstrzyknięto *in toto*.

Krzywa ciśnienia krwi wykazuje przez kilkadziesiąt minut tendencję zwykłą. Zwierzę nie ginie.

Wnioski: 1) Czerwone ciała krwi posiadają zdolność absorpcji z tkanek i komórek zwierzęcych ciał czynnych.

2) Czerwone ciała krwi absorbują z wyciągów płucnych ciała natury hipertensyjnej.

3) Śmierć zwierzęcia wśród objawów wstrząsu anafilaktycznego następuje najprawdopodobniej wskutek zmiany, jakiej ulegają krwinki, poddane impregnacji, co prowadzi do aglutynacji czerwonych ciałek krwi przy wprowadzeniu dożylnem takiego materiału.



## Iniekcje mieszaniny hemolizatów z czerwonych ciałek krwi homologicznych i heterologicznych.

Pies wagi 3,200 *g* w chloralozie, otrzymuje dożylnie 3.5 *cm*<sup>3</sup> krwinek psa i królika. Czerwone ciała krwi wzięto od zwierząt najedzonych. Krew przed iniekcją zhemolizowano wodą przekroploną i zizotonizowano.

Ciśnienie krwi ze 106 *mm Hg*, podnosi się na początku iniekcji, na przeciąg kilkunastu sekund, do wysokości 144 *mm Hg* (działanie adrenaliny zawartej w krwinkach), następnie bardzo szybko opada do 24 *mm Hg*, ażeby po kilkadziesiąt minutach przekroczyć nawet normę (106 *mm Hg*), osiągając wysokość 160 *mm Hg*.

Krew jeszcze po 24 godzinach nie skrzepła.

Pies wagi 6,5 *kg* w chloralozie, otrzymuje dożylnie 6 *cm*<sup>3</sup> mieszaniny przemytych i zhemolizowanych krwinek królika i psa w stosunku 1:1. Hemolizat przed iniekcją został poddany na 15' działaniu węgla zwierzęcego. Krew brano od zwierząt niegłodzonych.

Ciśnienie krwi ze 196 *mm Hg* w czasie iniekcji podnosi się na 206, poczem nagle opada do 82 *mm Hg*.

Krzepliwość krwi przed iniekcją wynosi 11', po iniekcji 4—8'.

Pies wagi 5,5 *kg*, w chloralozie, otrzymuje dożylnie 5 *cm*<sup>3</sup> mieszaniny przemytych i zhemolizowanych krwinek królika i psa w stosunku 1:1. Zwierzęta, od których pobrano czerwone ciała krwi były przez 6 dni głodzone.

Ciśnienie krwi ze 186 *mm Hg*, spada na 56 *mm Hg*. Spadek jest bardziej krótkotrwały, aniżeli w doświadczeniach poprzednich.

Krzepliwość krwi prawie normalna.

Królik wagi 1800 *g* otrzymuje dożylnie 2 *cm*<sup>3</sup> mieszaniny krwinek przemytych i zhemolizowanych.

Ciśnienie krwi podnosi się początkowo ze 162 *mm Hg* na 182, opada szybko do 142 *mm Hg* przy zaburzeniach oddechowych i akcji serca, wreszcie podnosi się do 178 *mm Hg*.

Surowica jest silnie zabarwiona na czerwono (procesy hemolityczne).



Kot wagi 3.800 g w chloralozie, otrzymuje dożylnie 3,5 cm<sup>3</sup> zhemolizowanych i przemytych krwinek świni domowej. Hemolizat po zizotonizowaniu nie był odwirowany od zrzębu (od flokulatów).

Ciśnienie krwi z 90 mm Hg w czasie iniekcji opada na 78 mm Hg, bezpośrednio po iniekcji podnosi się do 144 mm Hg. Podwyższenie ciśnienia trwa około 3'. Zhemolizowane krwinki świni domowej w stosunku 1 cm<sup>3</sup> na 5 wody przekroplonej działają silnie rozszerzająco na źrenicę izolowanego oka żaby.

Kot wagi 3.450 g w chloralozie, otrzymuje dożylnie mieszaninę zhemolizowanych krwinek kota i świni domowej w stosunku 1 : 1, w ilości 4 cm<sup>3</sup> cz. c. k. Hemolizat stał w lodowni przez 18 godzin. Hemolizat przed iniekcją odwirowano celem usunięcia flokulatów (zrzębu).

Ciśnienie krwi ze 176 mm Hg opada nagle już w czasie wstrzykiwania i w przeciągu 2' zwierzę ginie wśród objawów wstrząsu anafilaktycznego. Zwierzę oddaje kał i mocz, wreszcie zostaje porażony oddech przy trwającej jeszcze przez pewien czas akcji serca.

Z doświadczeń powyższych możemy wysnuć następujące wnioski:

1) Impregnacja autogenicznych, względnie homologicznych czerwonych ciałek krwi hemolizatami z krwinek zwierząt grupowo obcych, bądź też wyciągami z tkanek, wreszcie iniekcje mieszanin hemolizatów autogenicznych i heterogenicznych prowadzą do zaburzeń wstrząsowych, charakteryzujących się spadkiem ciśnienia krwi i jej niekrzepliwością.

2) Czynniki głodzenia zwierząt, od których pobieramy do doświadczeń krew, lub z których tkanek czynimy wyciągi, jest rozstrzygającym dla toksyczności i siły odczynu przebiegającego w ustroju w tym sensie, że głodzenie długotrwałe wylugowuje z ustroju ciała czynne. To znikanie ciał czynnych odnosi się w pierwszym rzędzie do elementów morfotycznych krwi i ciał odżywczych (aminokwasów), odnosi się również i do aglutynin i innych ciał czynnych, co wykazałem w pojętych przez siebie doświadczeniach nad zmianą grupowego charakteru elementów morfotycznych krwi.

Reasumując osiągnięte przez nas wyniki, jak również wnioski krytyczne z dyskusji, możemy powiedzieć, że doświadcze-

nia Popielskiego i na szeroką skalę przeprowadzone przez Studzińskiego nad krwią, należy raczej sprowadzić do odczynów grupowych, wywołanych impregnacją czerwonych ciałek krwi przez obce hemolizaty, albo wyciągi z tkanek. We wspomnianych doświadczeniach zarówno spadek ciśnienia krwi, jak i jej niekrzepliwość, to rezultat wywołanego wstrząsu przez wprowadzenie do ustroju krwi grupowo obcej; zwiększone zaś wydzielanie gruczołowe pod wpływem przetoczonyj krwi, to działanie wyzwolonej w skutek rozpadu czerwonych ciałek krwi — histaminy.

Przerzucając tok naszego rozumowania i wyniki naszych doświadczeń, uzyskanych w odniesieniu do krwi, na wyciągi z tkanek możemy również powiedzieć, że uzyskane przez Popielskiego i in. wyciągi, to bądź ciała peptonowe, bądź produkty odbudowy białka, które wprowadzone zwierzęciu dożylnie atakują elementy morfotyczne krwi, prowadząc do odczynów autogenicznych grupowych, stąd zaś do objawów wstrząsowych typu anafilaktoidalnego. Że takie odczyny zachodzą w ustroju, widzieliśmy wyżej, impregnując czerwone ciała krwi wyciągami z tkanki płucnej, że takie reakcje są w zupełności uzasadnione przez istnienie w tkankach i narządach aglutynin, adsorbowanych przez elementy morfotyczne krwi, możemy uważać za udowodnione. Określenie wazodilatyny możnaby w świetle dzisiejszych doświadczeń odnieść raczej do kompleksu ciał czynnych, znajdujących się w tkankach i powodujących za pomocą prawdopodobnie różnych mechanizmów objawy wstrząsowe.

Pojęcie wazodilatyny wprowadzone przez Popielskiego do nauki okazało się bardzo płodne i przyczyniło się do wielostronnych poszukiwań ciał czynnych, znajdujących się w tkankach i narządach ustroju, wyzwalaając nowe prądy w dziedzinie dynamiki fizjologicznej i dając początek nowym poszukiwaniom.



## Extraits et émulsions des tissus animales, vasodilatine, peptone et histamine et le changement du caractère des groupes sanguins

par

M. GEDROYĆ

Les extraits et les émulsions des tissus et des organes des organismes adultes préparés sur 0,9 p. 100 de *NaCl* sont plus toxiques, que ceux préparés sur *N/10 N. HCl*. L'action des corps actifs est représentée par la baisse de la pression sanguine, le changement de la coagulation du sang, par le changement de l'index leucocytaire et par l'immunité temporaire. Les extraits des organes des animaux adultes, coupés en petits morceaux, provoquent une accélération de la coagulation du sang, tandis que les émulsions soumis à l'extraction, provoquent une incoagulabilité du sang (vasodilatine).

Les extraits du tissu pulmonaire sont plus toxiques, que ceux de tissu nerveux. La toxicité du tissu pulmonaire (et nerveux) augmente en progression phylogénétique.

Vasodilatine provenant des certaines organes embryonnaires donne une faible immunité vis à vis de la reinjection du matériel provenant des organes des animaux adultes. Il n'y a pas de l'immunité vis à vis de la peptone de Witte. On pourrait dire, que la force immunisatrice de la vasodilatine augmente progressivement et obtient son maximum dans la peptone.

La propriété d'augmenter l'incoagulabilité du sang monte aussi parallèlement à la peptonisation de la vasodilatine. On observe le même fait en ce qui concerne l'abaissement de la pression sanguine. Selon Popielski les extraits des organes provoquent la sécrétion du suc gastrique après leur introduction souscutannée. Progressivement à la peptonisation des extraits cette propriété diminue, parallèlement à la disparition de l'histamine.

La température augmentée aussi que les corps absorbifs (charbon actif du bois) font disparaître les propriétés physiologiques des extraits des organes broyés (vasodilatine) à l'exception des extraits de l'intestin. Dans ce dernier cas disparaît seulement



l'histamine sous l'influence de la temperature et du charbon et les propriétés caractéristiques de la peptone restent intactes.

Dès expériences sur les effets toxiques, qui apparaissent pendant la transfusion sanguine, Studziński conclut à une action de vasodilatine étant dans un état préformé dans les globules rouges.

Les expériences de l'auteur sur le changement du caractère de groupes serologiques par l'impregnation par les hematiés hétérogènes préalablement hémolisées, ou par les extraits des tissus des animaux d'autre groupe sanguin<sup>1)</sup>, montrent, que les phénomènes du choc, qui apparaissent présentent la conséquence du changement du caractère des hématies et de l'action d'agglutination.

La base des changements du caractère du groupe des hématies présentent ses propriétés absorbatives vis à vis de différents corps qui se trouvent dans les tissus et dans les différents organes. Se sont surtout des certains corps hormonales, nutritifs agglutinines, substances hyper- et hypotensives etc. Absorption des substances qui changent le caractère des éléments morphotiques du sang provoque les phénomènes du choc.

On pourrait attribuer, au moins dans certains cas, à la vasodilatine la propriété de changer le caractère des hématies et par ce mécanisme provoquer le choc. Vasodilatine serait dans cette conception non un corps au caractère strictement spécifique mais une complexité des substances actives provenant des différents tissus de l'organisme.

---

<sup>1)</sup> Gedroyć M. Cpt. rend. de la Soc. de Biol. t. CVII, Nr. 21, 1931.

**E. M. K. GEILING i A. M. De LAWDER**

## **Studja nad krystaliczną insuliną** **Czy insulina powoduje początkową hyperglikemią?**

**Studies on Crystalline Insulin.**  
**(Does Insulin Cause an Initial Hyperglycemia?)**

Początkowa hyperglikemja, która występuje natychmiast po wstrzyknięciu dożylnem kupnej insuliny zależy od zanieczyszczeń. Insulina krystaliczna nie wywołuje wzrostu poziomu cukru we krwi bezpośrednio po jej dożylnem wprowadzeniu.

---

### **Studies on Crystalline Insulin<sup>1) 2)</sup>**

#### **XI. Does Insulin Cause an Initial Hyperglycemia?**

By

**E. M. K. GEILING and A. M. De LAWDER**

From the Pharmacological Laboratory, Johns Hopkins University Baltimore, Maryland, U. S. A.

#### **Introduction**

Within the last few years B ü r g e r and K r a m e r have published a number of papers in which they present evidence that the intravenous injection of commercial insulin into human subjects, dogs and rabbits, produces an initial hyperglycemia of short duration which is followed by the well-known hypoglycemia. They say that the duration and intensity of this primary rise of the blood sugar are dependent on the dose of insulin

<sup>1)</sup> An investigation carried out under a grant from the Carnegie Corporation of New York.

<sup>2)</sup> A preliminary report of the results presented in this paper was given at the annual meeting of the Federation of American Societies for Experimental Biology, Chicago, 1930.



and the glycogen content of the liver, and that in patients with diseases of the liver the initial hyperglycemia is absent. Injection of the insulin directly into the portal vein or into one of its tributaries calls forth an even more intense hyperglycemia. Bürger and Kramer are of the opinion that the initial rise of blood sugar is due to a direct action of insulin on the liver. In their latest paper they reiterate their former conclusion and present data showing that even after double adrenalectomy in dogs insulin when injected intravenously produces an immediate rise of blood sugar followed by the usual lowering. These data are interpreted by them as showing that the rise of sugar is a direct effect of the hormone on the liver, and not an indirect one through the adrenal mechanism. It should be mentioned that Bürger and Kramer make the statement that they have used nine different commercial insulin preparations and the results obtained differ in the extent and duration of the hyperglycemic effect. The inference is drawn from these observations that the various commercial preparations of insulin should not be considered identical from a pharmacological point of view. (*Klin. Woch.*, 1930, ix, 107). A summary of their work is given in the Proceedings of the XIII-th International Congress of Physiology, 1929, p. 41.

Previous to the work of Bürger and Kramer several investigators, Guardabassi, Rossello, and Benatti and Balea, had reported a transient initial hyperglycemia following the subcutaneous injection of commercial insulin. We have not had access to the original publications of the workers just mentioned and are thus reporting from abstracts in the *Berichte der ges. Physiol. und exper. Pharm.*

Macleod in 1922 studied the effects on the blood sugar of starved rabbits of extracts made from the pancreas (zymogenous tissue) and the principal islets of various species of bony fishes in which the pancreatic and ascinar tissues exist separately. He noted that an extract of the pancreatic tissue of a sculpin injected into a starved rabbit causes a prolonged rise of blood sugar, whereas extracts of the islet tissue call forth the now well-known hypoglycemic effect. Macleod made no special point of the hyperglycemic action of the pancreatic tissue extract since

at the time he was mainly concerned with demonstrating that insulin is a product elaborated specifically by the islet tissue.

Gibbs, Root and Murlin in 1923 prepared from the ox pancreas, by extraction with acid, neutralization and treatment with alcohol and acetone, a substance which when injected into depancreatized dogs produced a decided rise in the blood sugar in three hours. Injection of the same material into rabbits had a similar but less pronounced effect. They obtained a likeacting substance from the skeletal muscles of the cat and from extracts of bakers yeast, and they propose the term „glycagon“ for any hyperglycemic substance prepared from tissues. They suggested that the delayed hypoglycemic effects of some insulin preparations may be due to the presence of such a substance, and further that the sudden drop in the respiratory quotient to the diabetic level which they reported may be explained by assuming that at a certain concentration of this substance its sugar-raising effect masks the sugar-lowering action of insulin.

The observations of the aforementioned authors, notably Bürger and Kramer, interested us considerably, since we had not noted any rise of blood sugar with crystalline insulin or other purified preparations. In all of our experiments the samples for blood sugar determinations were taken one, or one and a half hours after injection. Had we, like Bürger and Kramer, withdrawn blood a few minutes after injection, we, no doubt, would have noted the transient hyperglycemia produced by some of the impure preparations used in the early work on insulin in this laboratory.

In view of this we have recently reexamined the large amount of data accumulated by Abel and his associates in the course of the researches which culminated in the crystallization of insulin. It was found that in some experiments made in 1925 certain inactive residues obtained from concentrated commercial insulin, which served as the starting point of the work, caused a definite hyperglycemic effect. This observation was not followed up at that time since we were more interested in obtaining fractions with hypoglycemic action.

In summary, it appears from the literature that there can be extracted from the pancreas, as well as from most other tissues, substances which raise the blood sugar, and further, that com-



mercial preparations of insulin which contain varying amounts of impurities cause a primary hyperglycemia followed by the well-known hypoglycemic action. Bürger and Kramer stress this initial hyperglycemia and ascribe it to a direct action of insulin on the liver. They have overlooked the possibility that this primary rise of the blood sugar obtained with commercial insulin may be due to the impurities in the preparations, rather than to an intrinsic action of the hormone itself.

The necessity of determining through experimentation whether the hormone itself causes an initial rise of blood sugar preceding the fall hardly requires emphasis. Such information is of practical as well as theoretical importance. If the rise of sugar is due to impurities in the insulin preparation then the studies carried out to determine the site and the mechanism of action of the hormone have to be repeated either with crystalline insulin, or with preparations of insulin containing negligible amounts of the sugar raising substance.

Since there are available in this laboratory a number of insulin preparations containing different amounts of impurities, as well as crystalline insulin obtained from several commercial preparations, and the residues from which the crystalline hormone has been extracted, we were in a position to determine definitely whether the transient rise of blood sugar obtained by intravenous injection of certain insulin preparations is an intrinsic property of the hormone or whether it is due to the admixture of other substances in these preparations.

Our experiments were conducted only on normal unanesthetized rabbits and trained dogs, as will be explained in more detail later, and we have no experimental data to present in regard to the action of insulin when injected directly into the portal vein.

Professor Wallace and his associates in the Pharmacological Laboratory of the Bellevue Hospital Medical College, New York, have been interested in the subject, and have recently reported their results. They have shown that while the Lilly insulin causes a primary hyperglycemia when injected into the jugular or the portal vein, crystalline insulin causes only a fall in blood sugar. In some of their experiments, by means of spe-

cial technique, the intraportal injections were made without the use of an anesthetic.

The experiments of Collens and Murlin, and Bürger and Kramer dealing with the injection of insulin directly into the portal vein were performed on animals under the influence of an anesthetic and were also done with impure insulin preparations. It seems fair to state that before these investigators claimed to have proven that insulin has a direct glycogenolytic action on the liver, they should have employed a technique not involving the use of an anesthetic, even such as amytal, or any operative procedure. In addition either a very pure form of insulin, or the crystalline hormone, should have been used in place of impure preparations.

### Experimental procedure

The experiments here reported were performed on normal, unanesthetized dogs and rabbits, which had been starved 20—24 hours previous to their use. To insure the minimum amount of excitement the following precautions were taken: the animals were allowed to rest for a brief period before each experiment in the same position in which they were to remain throughout the procedure. The rabbits were placed in specially constructed boxes, and the dogs were placed in a comfortable position on tables. All unnecessary noises were avoided, especially in the case of the more sensitive dogs which soon learned to permit the withdrawal of blood samples with scarcely a movement. Frequently, the dogs slept during the 20—30 min. period following injection. The blood samples were taken from the superficial vein of the foreleg, into which the insulin was injected, immediately after securing the normal specimens, by interchanging syringes without removing the needle.

The marginal ear veins of the rabbits were used for the blood specimens and injections. In some cases we encountered difficulty in preventing struggling in the animals, especially when N/100 acid solution was necessarily employed as a solvent for the insulin. However, in those cases where emotional disturbances (struggling of rabbit) rather than the injected material influenced the blood sugar the hyperglycemic effect was much more transient, being discernible only in the 3-minute sample.



This rise, which we secured several times, was distinctly different from the hyperglycemic effect produced by impure insulin preparations.

Blood specimens were taken immediately before and at 3, 6, 10, 15, 20, 25 and 30 minutes following the injection of insulin. The samples were analyzed by the micro-method of Hagedorn-Jensen (Hagedorn, H. C. and Jensen, B. Norman: *Biochem. Zeit.*, 1923, cxxxv, p. 46). Duplicate samples were analyzed through the 10 min. period. In the cases of rabbits, where the blood flowed from the marginal ear vein, the duplicate samples were collected simultaneously to insure uniformity; as a rule they checked on analysis. At the outset of our work we performed a number of control experiments by way of orientation to determine the effect of handling the animals and of injecting the solvents used. As a results of the preliminary studies we feel confident that the results presented in this communication represent physiological responses due to the products injected.

In reporting our data we are making no attempt to calculate the relative amounts of hyperglycemic substances present in the samples used, since a number of indiscernible factors are involved. Several different preparations of insulin were injected in widely varying doses (based on insulin unitage) so as to exclude the possibility that the hypoglycemic action of the insulin may mask the initial rise due to the impurities. Owing to the individual differences in response of the experimental subjects quantitative estimation with variable dosage is possible only when a large number of tests is made. This does not seem practicable until more is known of the nature of the impurities.

Three brands of commercial insulin were employed: Iletin (Lilly, U. 20), Squibb (U. 20), and Organon (Dutch Insulin). It will be seen from Table I that Iletin and Organon consistently evoked an initial hyperglycemia. The Squibb preparations elicited varying responses. This puzzled us until we discovered quite recently that the solutions used were from two separate lots which differed markedly in their initial blood-sugar action on rabbits (see Table I). One of the Squibb preparations, presumably the purer one, elicited only a hypoglycemic response in dogs which, on injection of impure commercial preparations,

**Table I**  
**Blood Sugar Changes Produced by the Intravenous Injection of Various Commercial Insulin Preparations into Rabbits and Dogs**  
**Note Initial Hyperglycemia**

Preparation of Insulin Used	Animal		Dose in Units ap.	Blood Sugars — mgms. per 100 cc. blood							
	No.	Wt. kg		Normal	Min. 3	Min. 6	Min. 10	Min. 15	Min. 20	Min. 25	Min. 30
Insulin (Insulin Lilly) U—20	96	2.28	3	124	138	140	129	106	103	85	47
	26	2.65	5	125	136	154	132	106	87	70	56
	28	2.75	5	111	115	103	79	69	68	38	42
	1	14.4	25	119	140	149	145	117	100	88	74
	11	13.85	28	92	111	113	100	77	56	40	47
	52	1.65	3	112	114	127	112	102	76	58	41
	95	1.90	4	94	109	111	97	83	70	67	41
	36	2.00	5	105	124	109	107	80	73	66	41
	64	1.95	3	107	150	129	132	125	40	97	61
	72	1.85	3	111	120	105	77	70	70	34	43
Lot # 33581											
41	2.12	3	107	110	98	79	73	55	46		
139	1.85	3	103	105	93	71	59	50		55	
Squibb's Commercial Insulin (U—20)			mgms.								
	49	1.60	1.5	114*	132	150	134	106	88	77	50
	25	2.00	1.5	116**)	129	135	132	79	67	50	38
	59	2.20	1.5	114	134	138	129	120	93	79	60
	11	13.5	8.0	95	114	121	119	101	80	73	57
Insulin (Organon Untage?) dissolved N/100 HCl											
	Dog										

\*) Struggled at injection.  
 \*\*) No struggling.



showed a definite initial rise. It is interesting to note that material of the same brand may differ markedly in action.

In order to furnish conclusive proof that the blood sugar raising substance is removed as the insulin preparations are purified, we studied the effects of the concentrated commercial solutions, the crystalline material obtained therefrom, and the residues thrown down in the process of purification. For the sake of clarity we insert a chart illustrating the various steps in the preparation of crystalline insulin with the corresponding blood sugar effects. In Table II are shown typical responses obtained with the so-called „pyridine precipitate“ which serves as a starting point for the preparation of the crystalline hormone and is obtained by adding 13,5 per cent pyridine (0,5 cc. pyridine per 25 u. insulin) to the commercial solutions. The details of the entire procedure are outlined in earlier papers published from this laboratory (Studies on Crystalline Insulin, II and III).

Although beef insulin obtained from E. R. Squibb and Sons is commonly employed in this laboratory for preparing the crystalline material, we have also included in Table II typical results from the use of the „pyridine precipitate“ of Eli Lilly insulin and Squibb pig insulin. The Eli Lilly product yields equally good crystals. However, the efforts of this laboratory to obtain absolutely pure crystalline insulin from the extracts of the pig's pancreas have so far been unsuccessful. These difficulties are discussed in a separate communication by H. Jensen to be published shortly in the *Zeitschrift für physiologische Chemie*. A few tests made with a fairly pure product which elicited a less pronounced initial hyperglycemia than the „pyridine precipitate“ from which it was prepared indicated that only a fraction of the impurities had been removed during the procedure used for crystallization.

Table III indicates the results obtained with crystalline insulin prepared from these impure „pyridine precipitates“. The data clearly demonstrate that the pure hormone does not produce an initial blood sugar rise. To further substantiate these findings, we injected into several rabbits and a dog a solution of the notably impure pyridine precipitate from a Lilly concentrated commercial preparation. Later, we injected into the same animals, in the same doses (based on insulin unitage), crystal-

### Blood Sugar Effects of Insulin Preparations at Various Stages of Purification

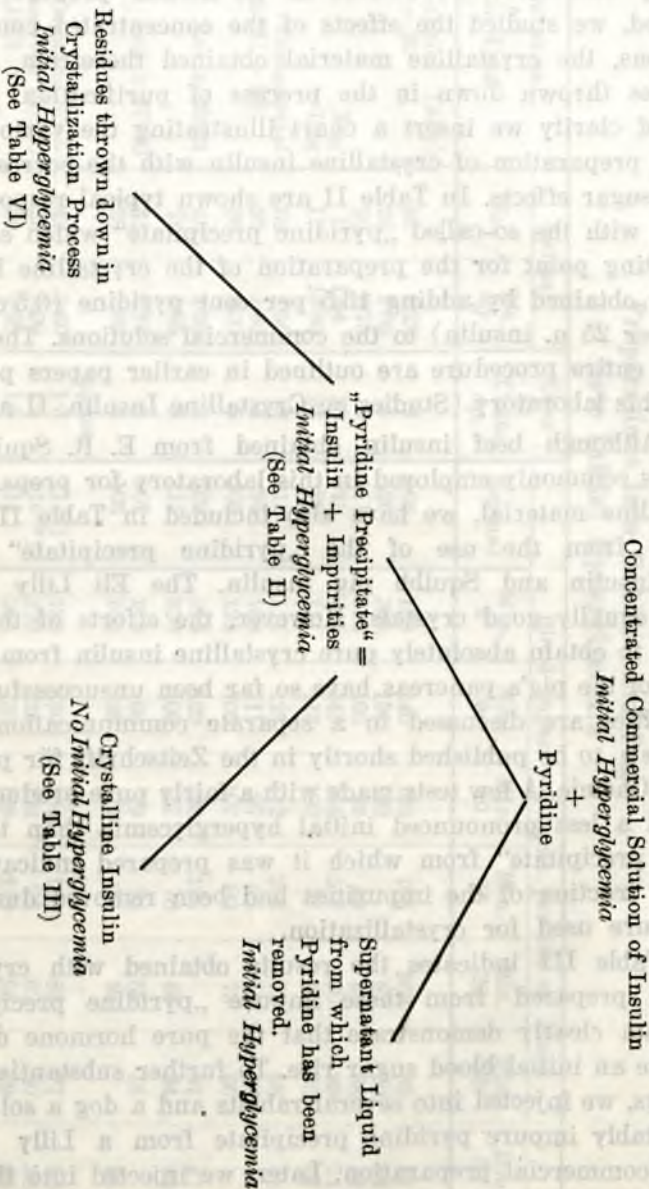


Figure 1



**Table II**  
**Initial Hyperglycemia Following the Intravenous Injection of "Pyridine Precipitate" (see text)**  
**into Rabbits and Dogs**  
**Solvent: M/15 Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>**

Preparation of Insulin Used	Animal		Dose in Units	Blood Sugars — mgms. per 100 cc. blood									
	No.	Wt. kg		Normal	Min. 3	Min. 6	Min. 10	Min. 15	Min. 20	Min. 25	Min. 30		
Eli Lilly (Beef) approx. 10 u/mgm	67	2.00	2.5	151	149	162	147	131	95	93	77		
	96	1.92	4	112	126	130	141	121	91	81	68		
	20	2.72	5	104	123	117	104	82	68	52	59		
Dog	101	1.90	5	80	97	110	98	78	64	50	37		
	II	13.85	13	98	119	119	109	73	62	51	71		
Dog	III	9.45	20	105	114	116	102	83	65	68	50		
Squibb's (Beef) approx. 20 u/mgm.	88	1.83	3	107	118	120	106	95	68	67	63		
	70	1.70	4	112	128	137	121	102	57	59	50		
	11	1.92	4	111	137	128	128	79	63	54	57		
Squibb's (Pig) approx. 20 u/mgm.	72	2.83	approx.	134	136	152	134	107	92	72	54		
	49	1.60	3	116	132	143	136	123	102	86	63		

Table III

Blood Sugar Changes Following the Intravenous Injection of Crystalline Insulin into Rabbits and Dogs. Note No Initial Hyperglycemia

Source of Crystalline Insulin	Animal		Dose in Units	Blood Sugar — mgm. per 100 cc. blood									
	No.	Wt. kg		Normal	Min. 3	Min. 6	Min. 10	Min. 15	Min. 20	Min. 25	Min. 30		
Squibb's Powder dissolved in N/100 HCl	30	3-16	1-5	108	107	105	91	71	59	64	55		
	26	2-76	1-5	115	108	110	96	96	73	64	62		
	28	2-36	1-5	113	112	106	105	65	78	64	55		
	42	2-86	1-5	100	110*)	107	62	77	84		78		
Squibb's Powder dissolved in M/15 Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	30	2-85	3	99	102	104	92	69	59	63	59		
	96	2-2	1-1	117	112	101	89	69	60	49	56		
	26	2-45	4	116	102	98	97	74	59	63	28		
	20	2-6	4	88	90	90	74	50	45	38	23		
	25	2-00	5	105	103	86	63	47	38	27	23		
Dog Dog	I	14-00	25	110	104	94	92	83	85	86	79		
	II	13-1	30	98	91	70	61	53	61	62	50		
Eli Lilly Powder dissolved in M/15 Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	76	1-98	3-2	108	105	91	74	55	46	53	53		
	101	1-85	3-2	112	110	100	80	67	56	53	46		
	103	2-47	6-2	112	112	96	80	63	67	56	64		
	36	1-80	6-6	114	109	111	98	74	68	50	47		
	20	2-72	6-6	118	102	90	79	66	36	43	43		
102	2-08	4	100	94	91	73	55	46	42	46			

\*) Struggled.



**Table IV**  
**Comparison of Initial Blood Sugar Effect of Eli Lilly Powder (Pyridine Precipitate) and of the Same Insulin After Crystallization by Abel's Method.**  
 Solution I — Pyridine Precipitate } Solvent  $M/15 Na_2HPO_4$   
 Solution II — Crystalline Insulin }

Animal Used	Soln.	Animal Wt. in Kilos.	Dose in Units	Blood Sugar — mgm. per 100 cc. blood									
				Normal	Min. 8	Min. 6	Min. 10	Min. 15	Min. 20	Min. 25	Min. 30		
Rabbit 20	I	2.72	5	104	123	117	104	82	63	52	59		
	II	2.72	4 <sub>ap.</sub>	118	102	90	79	56	36	43	43		
Rabbit 36	I	1.92	4	112	126	130	141	121	91	81	68		
	II	1.80	4 <sub>ap.</sub>	114	109	111	93	74	68	50	47		
Dog I	I	14.3	25	128	153	149	121	87	66	68			
	II	14.	21.6	98	96	87	80	69	66	66			

line insulin which had been prepared from this same precipitate and recrystallized without the use of brucine. The results of these experiments are presented in Table IV from which it will be seen that through the purification process the hyperglycemic substance had been removed. We may add that the removal of impurities from Organon (Dutch Insulin) by adsorption on charcoal according to Dingemans's procedure (see Studies on Crystalline Insulin, papers VI and IX), yields a preparation possessing much less hyperglycemic action than the original material. Since this is in general accord with our findings we are not including our data.

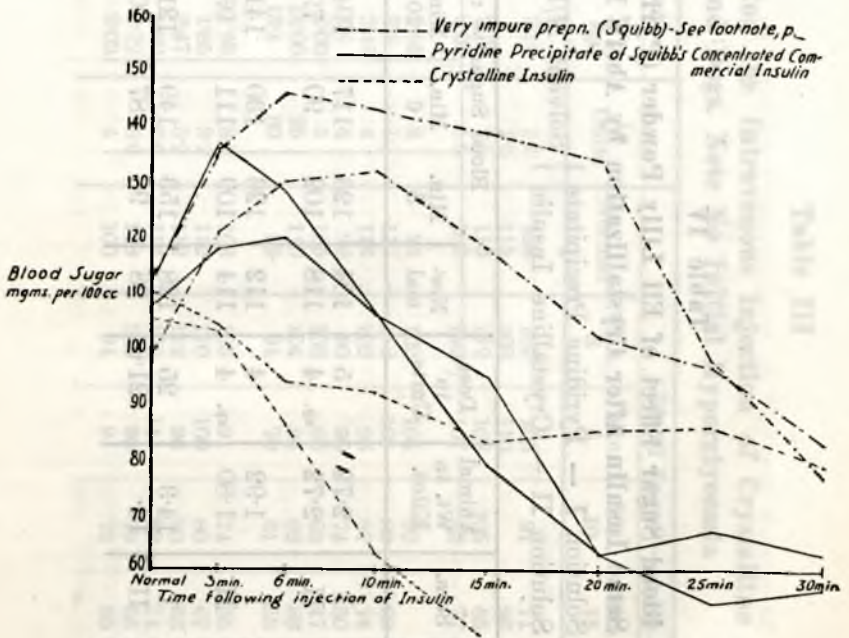


Figure 2

In the accompanying chart (Fig. 2) are curves which illustrate the extent of the blood sugar rise obtained (1) with an impure Squibb preparation<sup>1</sup>); (2) with the „pyridine precipi-

<sup>1</sup>) This was an intermediate product much more impure than the concentrated commercial solutions used as starting material for crystalline insulin. E. R. Squibb and Sons kindly furnished this material at the special request of Dr. Jensen, who used it in connection with another insulin problem.



**Table V**  
**Blood Sugar changes produced by Intravenous Injection of Fish Insulin in Rabbits and Dogs.**  
**Not Crystalline. Dissolved in N/100 HCl; Unitage Unknown.**

Solvent Used	Animal		Dose in Mgms.	Normal	Blood Sugars — mgms. per. 100 cc. blood									
	No.	Wt.			Min. 3	Min. 6	Min. 10	Min. 15	Min. 20	Min. 25	Min. 30			
N/100 HCl	20	2.60	0.26	107*	110	107	96	94	69	54	69	69	54	69
	46	2.62	0.26	134*	131	119	94	80	51	56	45	51	56	45
	25	2.00	0.33	128	121	109	96	84	66	57	55	66	57	55
	95	1.90	0.32	104*	119	102	91	91	73	68	68	73	112	77
	18	2.32	0.13	130*	143	127	118	109	90	84	79	90	84	79
	67	2.00	0.33	105	107	95	83	79	68	61	61	68	59	61
	123	1.97	0.25	150	141	132	107	82	73	66	66	73	68	66
N/500 HCl	84	2.26	0.13	128	130	125	107	93	68	64	66	68	64	66
	96	2.26	0.33	137	132	125	93	61	64	61	64	59	59	61
N/100 HCl Dog	I	14.00	2.00	97	100	82	75	61	61	66	66	61	66	66
	II	13.00	2.00	90	91	95	73	64	50	50	50	50	50	64

\* Rabbit struggled at injection.

Table VI  
 Marked Initial Hyperglycemia Following Injection of Residues of Low Unitage Obtained from  
 Insulin Work of Abel and Gelling in 1925

	Animal		Dose in Mgms.	Blood Sugars — mgms. per 100 cc. blood							
	No.	Wt. kg		Normal	Min. 3	Min. 6	Min. 10	Min. 15	Min. 20	Min. 25	Min. 90
Residue I dissolved in $N/100\ HCl$	25	1.9	4.3	112	146	135	128	102	81	61	39*
	90	1.8	4	137	150	152	130	114	95	95	72
Residue I dissolved in $H_2O$	2	1.92	5.9	116	140	145	155	133	110	61	80*
	33	1.85	5.3	117	142	151	145	130	119	84	75*
Residue II dissolved in $M/15$ $Na_2HPO_4$	32	2.22	1	104	109	114	116	109	95	75	75
	33	2.00	1	110	139	145	146	132	112	93	74

\* Convulsed later.



tate" from the concentrated commercial solution; and (3) with crystalline insulin obtained from the „pyridine precipitate“. This is merely a graphic representation of the main point of our communication.

Table V shows the results obtained with fairly pure, but not crystalline, fish insulin. The amount at our disposal for this work was so small that we could not submit it to crystallization; hence the incompleteness of our data. The material used was prepared from the islets of cod-fish and pollock (see Studies on Crystalline Insulin VIII); fairly pure insulin can be obtained with no difficulty. It will be noted that the solution of fish insulin which was made with  $N/100\ HCl$  was irritating and caused several rabbits to struggle, resulting in some cases in an evanescent rise of blood sugar. This brief increase is quite different from what one observes with very impure insulin preparations (compare Table I). To lessen the irritating action of the acid,  $N/500\ HCl$  was used as a solvent for the material injected into rabbits Nos. 51, 123, 84, and 96. These animals did not struggle and no initial hyperglycemia followed the injection.

In Table VI we give the results from a residue of very low unitage obtained from an impure insulin solution which was used in the 1925 work of this laboratory. It will be noted that large doses were injected, owing to the low insulin content of the material. The results indicate that the substances possessing the hyperglycemic action remain in the residue after the removal of the hormone in crystalline form.

We have also tested the residues from recent preparations of crystalline insulin. The results are similar to those shown in Table VI, and are, therefore, not incorporated here.

We have conducted several studies with the residues, and have learned that the hyperglycemic substances are non-dialyzable and not completely destroyed by alkali sufficiently strong to render insulin inactive. Further experiments along this line are now in progress.

### Discussion

The experimental results presented in Tables I and II indicate clearly that the intravenous injection of impure insulin preparations into normal starved rabbits, and into trained

unanesthetized dogs under optimal experimental conditions causes a transient rise of sugar which is followed by the well-known hypoglycemia. We convinced ourselves by control experiments that the initial hyperglycemia is not due to emotional disturbances nor to the solvents employed, but is a physiological response elicited by the preparations used. The extent and duration of the hyperglycemia is dependent, in our opinion, on the amount of the sugar raising substance present, on the dose, and on the individual susceptibility of the experimental subjects. Up to this point our results are in accord with those of previous workers, notably Bürger and Kramer. However, we are not prepared to say that the hyperglycemia is due to a direct action of the hormone, insulin. On the contrary our results, as shown in Table III, indicate that there is a uniform absence of an initial hyperglycemia with crystalline insulin. Hence the rise of blood sugar noted by Bürger and Kramer must be due to the impurities present in the commercial preparations used by them. Contributory evidence is also supplied by the fact that the more impure the preparation of insulin the higher and more prolonged is the hyperglycemia, or reversely, the purer the preparation the less the primary rise of blood sugar (see Fig. II and Table IV), due allowance being made for the individual responses of the experimental animals.

We wish to offer a few comments on the nature of the impurities present in insulin, and also on the possible role of these substances in the animal economy. Among the common components of organ and tissue extracts of interest in the present discussion may be mentioned histamine, histamine-like substances, choline, proteoses and albumoses. Abel, Rouiller and Pincoffs were able to extract quite readily albumoses and proteoses from tissues. Abel and Kubota found histamine in tissues. Their work has recently been confirmed and extended by Best, Dale, Dudley and Thorpe. Dale and Dudley have recently reported the presence of histamine and acetyl-choline in the spleen of the ox and the horse. One can assume that the histamine and the simple histamine-like substances were removed from the insulin preparations used. The remaining impurities seem to be essentially biuret-positive, not readily dialyzable substances, probably albumoses and peptones.



It is known that the above-named substances when injected intravenously will cause a rise of blood sugar. Owing to the heterogeneous nature of the impurities in all organ extracts, one may incline to the opinion that the hyperglycemic action is a property common to a number of these components. These hyperglycemic substances may be present as such in the pancreatic tissue, and would therefore appear in extracts of the gland, or they may be formed in part during the manufacturing processes, when the gland material is acted upon by mineral acids and other chemical agents. One must, however, bear in mind the possibility that there may exist in the pancreas hyperglycemic compounds which may act specifically as antagonists to insulin — anti-insulin substances. We hope to gain some information relative to the nature of the hyperglycemic substances by purifying extracts made from the pancreatic tissue of a species of fish in which the islet and pancreatic tissues exist separately.

It remains for us to state that crystalline insulin was sent to Professor Wallace and Bürger both of whom found no initial hyperglycemia in their experiments with the pure hormone. These findings are in accord with our own results and the question may thus be looked upon as settled.

Many problems dealing with the physiological role of insulin in the body remain as yet unanswered; and we feel that investigators working in this field would be well advised to use the crystalline insulin rather than preparations containing variable and unknown amounts of impurities. It is only by using the pure principle that definite conclusions can be drawn as to its pharmacological action. This is, of course, a well recognized principle in experimental pharmacology. It seems particularly desirable to use as pure a preparation as possible when one does physiological experiments with hormones, since the usual impurities in them are tissue extracts or protein split products. Both the latter as a rule are physiologically active substances which may even have a diametrically opposite effect to the active principle itself. Our experiments as detailed in this paper serve as a very apt illustration.

## SUMMARY

The initial hyperglycemia which immediately follows the intravenous injection of commercial insulin preparations is due to the impurities present since crystalline insulin does not cause the primary rise of blood sugar when similarly administered.

## REFERENCES

- (1) Bürger and Kramer: *Z. exper. Med.*, 1928, LXI, 449.
- (2) Bürger and Kramer: *Klin. Woch.*, 1928, VII, 745.
- (3) Bürger and Kramer: *Z. exper. Med.*, 1929, LXV, 487.
- (4) Bürger and Kramer: *Z. exper. Med.*, 1929, LXIX, 441.
- (5) Bürger and Kramer: *Z. exper. Med.*, 1929, LXIX, 57.
- (6) Bürger and Kramer: *Klin. Woch.*, 1930, IX, 108.
- (7) Bürger: *Proceed. XIII-th Intern. Congress Physiol.*, 1929, 41.
- (8) Guardabassi: *Ber. ges. Physiol. exp. Pharm.*, 1927. XLI, 86.
- (9) Rossello, Benatti and Balea: *Ann. de la Facultad de Med.*, 1926.
- (10) Macleod: *Jour. Metab. Res.*, 1922, II, 1.
- (11) Gibbs, Root and Murlin: *Supplementary Volume, Quart. Jour. Exper. Physiol.*, 1923, p. 128—9.
- (12) Collens and Murlin: *Proc. Soc. Exp. Biol Med.*, 1929, XXVI, 485.
- (13) Neuwirth, Co Tui and Wallace: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1929, XXVII, 194.
- (14) Hagedorn and Jensen: *Biochem. Zeit.*, 1923, CXXXV, 46 and CXXXVII, 92.

## Studies on Crystalline Insulin:

- (1) Abel: *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 1926, XII, 132.
- (2) Abel, Geiling, Rouiller, Bell and Wintersteiner: *Jour. Pharm. Exper. Therap.*, 1927, XXXI, 65, Paper II.
- (3) Du Vigneaud, Jensen, Wintersteiner: *Jour. Pharm. Exper. Therap.*, 1928, XXXII, 367, Paper III.
- (4) Du Vigneaud, Geiling and Eddy: *Jour. Pharm. Exper. Therap.*, 1928, XXXIII, 497, Paper VI.
- (5) Jensen, Wintersteiner and Geiling: *Jour. Pharm. Exp. Therap.*, 1929, XXXVI, 115, Paper VIII.
- (6) Jensen and De Lawder: *Jour. Biol. Chem.*, 1930 in press. Paper IX.
- (7) Jensen and De Lawder: *Zeit. f. physiol. Chem.* in press. Paper XII.
- (8) Abel, Rouiller and Pincoffs: *Amer. Jour. Physiol.*, 1917, XLIV, 320.



## REFERENCES (CONTINUED)

- (1) Abel and Kubota: Jour. Exper. Pharm. and Therap., 1919, XIII, 243.
- (2) Best, Dale, Dudley and Thorpe: Jour. Physiol., 1927, LXII, 416.
- (3) Thorpe: Biochem. Jour., 1928, XXII, 94.
- (4) Dale and Dudley: Jour. Physiol., 1929, LXVIII, 97.

---

 ADDENDUM

Due recognition should be given to two papers by Dr. Ionesco, I. Cosmulesco and M. Tomesco published in the Comptes Rendus des Séances de la Société de Biologie, 1929, CII, 167, 170, on the question of initial hyperglycemia following insulin and the mechanism of the action. These investigators conclude from experiments carried out on human beings, dogs and rabbits with a commercial preparations (Insulin Wellcome) that the initial hyperglycemia is due to a direct primary action of insulin on the liver. Their findings are in agreement with those of Bürger and Kramer who published their first paper on the subject before these authors had completed their experiments.

A. C. IVY

## Obecny stan zagadnienia „gastryny“

(The present status of the „gastrin“ problem)

Od czasu kiedy znaleziono imidazole w moczu i kiedy przekonano się, że niektóre hormony znajdują się również w moczu, Kim i autor szukali w dużych ilościach moczu „gastryny“, używając do tego ustalonych metod chemicznych. Autorowie nie znaleźli „gastryny“ w moczu, a raczej, gdy wstrzykiwali wyciąg z 2600 cc moczu, zbieranego w czasie okresu trawienia w małym żołądku Pawłowa, nie otrzymali żadnego odczynu charakterystycznego. Wydaje się oczywiście autorowi, że dalszy postęp i rozwiązanie sprawy podniesionej przez badania Popielskiego, a mianowicie, jakie bodźce działają na gruczoły żołądkowe i jaka jest natura chemiczna czynników humoralnych, zależy od wyosobnienia w postaci czystej czynnika działającego w wyciągach z błony śluzowej części odźwiernikowej żołądka i jego identyfikacji we krwi w czasie trawienia w żołądku.

---

## The present status of the „gastrin“ problem

By

**A. C. IVY, M. S., PH. D., M. D.**

(N. S. Davis Professor of Physiology and Pharmacology and Head of the Department, Northwestern University Medical School, Chicago, Ill.)

Popielski (1) was the first to demonstrate conclusively that the stomach could be excited to secrete after section of all its extrinsic nerves. He adopted the explanation that the excitation was due to the action of secretagogues on a local reflex



nervous mechanism in the stomach wall. After Edkins (2) offered a „specific hormone“ explanation for this phenomenon on the basis that extracts of the pyloric mucosa when injected would cause gastric secretion, Popielski (3, 4, 5, 6, 7, 8, 9) demonstrated that a large number of tissue extracts had the same action. He pointed out that all these substances when injected intravenously caused a fall in blood pressure or vasodilation, which he attributed to a substance or substances which he termed „vasodilatin“. He (10) therefore regarded the effect of Edkin's pyloric extract as due to „vasodilatin“ and not to a specific hormone. These investigations of Popielski have been confirmed by numerous investigators and have resulted in information which must always be considered in any explanation of the mechanism by which chemical excitants or secretagogues evoke gastric secretion. Today, it is held that secretagogues may stimulate (a) by either acting on a local nervous mechanism in the gastric wall, (b) or by being absorbed into the blood, (c) or by causing a specific gastric hormone to be formed (11).

That there is a humoral mechanism for gastric secretion has been demonstrated by the experiments of Ivy and Farrell (12) in which they transplanted a small pouch of the stomach subcutaneously in dogs and found that the transplant would secrete on the ingestion of a meal, which has been confirmed by Lim, Loo and Liu (13). Further Necheles and Lim (14) have found that by vivi-dialysis of the blood of a fed dog that a gastric secretory excitant can be obtained from the blood of the portal and systemic circulation.

What is the nature of the humoral agent or agents? Popielski and Panek (5) studying the chemistry of „vasodilatin“ found that it contains CHON, but no sulphur or phosphorus and that it could be obtained by hydrolysis of protein. Dale and Laidlaw (15) compared vasodilatin to histamine and suggested that they might be identical. Popielski (10) agreed to this suggestion since he found histamine to stimulate gastric secretion and to depress blood pressure. The discovery that histamine stimulates gastric secretion was also made at about the same time by Keeton, Luckhardt and Koch (16) and by Rothlin and Gundlach (17). The latter in-

investigators believed E d k i n s' hormone „gastrin“ and histamine to be identical, but the former found that gastrin was not precipitated with picric and picrolonic acid while histamine was, and expressed the opinion that the two were closely allied imidazol derivatives since they both gave a positive Pauly reaction.

The findings of K o c h, L u c k h a r d t and K e e t o n (16) on the chemical nature of the active principle (gastrin) of extracts of pyloric mucosa have been confirmed by S a c k s and B u r g e s s working with the author (18). We have further found that flavianic acid precipitates histamine, but not uniformly certain solutions of „gastrin“. However, both histamine and „gastrin“ are absorbed to L l o y d' s reagent (hydrated aluminum silicate, E l i L i l l y and Co.). A positive Pauly has been obtained on preparations causing a gastric response in dogs in doses of less than 0,5 mgm. Although B a r g e r and D a l e (19) isolated histamine from intestinal mucosa no one has isolated it from pyloric mucosa alone (20). We were able to repeat B a r g e r' s and D a l e' s work on the intestinal mucosa, but have uniformly failed to obtain histamine picrate crystals from pyloric extracts. We hold the opinion of K o c h, L u c k h a r d t and K e e t o n that histamine and „gastrin“ are closely allied substances, but are not identical, although such a final conclusion is not warranted on the basis of any known evidence.

From a physiological viewpoint is it possible for histamine to be the gastric hormone? If it is, histamine must be circulating in the blood in sufficient amounts to stimulate gastric secretion, but in insufficient amounts to influence blood pressure and to produce the other toxic actions of histamine. P o p i e l s k i (10) injected 0,8 mgm of histamine within a short period of time intravenously and failed to observe gastric secretion, his animal being rendered toxic by this injection. R o t h l i n and G u n d l a c h made a similar observation. L i m (21), performing acute experiments on cats weighing about 3 kilos, found that from 1 to 3 cc of 0,0001 per cent histamine solution intravenously caused a slight stimulation of the gastric glands. I v y and J a v o i s (22) found that 0,0027 mgm per kilo per minute of histamine hydrochloride injected intravenously during a half-hour period into P a v l o v pouch dogs evoked gastric secretion without producing objective symptoms or a peripheral vaso-dilation.



0,0033 *mgm* per kilo per minute caused a visible dilatation of the blood vessels of the skin of the face and produced a fairly copious secretion. Koessler and Hanke (23) observed that 0,0027 *mgm* per kilo per minute is the smallest dose of histamine that will cause a fall in blood pressure.

The minimum effective dose of histamine on gastric secretion given intravenously is the same as minimum effective general vaso-dilating dose. However, this dose does not cause a striking response on the part of the gastric glands. But it is possible that if this stimulus is applied in the presence of other stimuli tending to excite the gastric glands a more striking response might occur. So on the basis of this evidence it is possible that histamine might be the gastric hormone. In this connection it is of interest to point out that Kalk (24) has reported that stimulation of the skin in cases of dermatographism causes an increase in gastric secretion, which he attributes to the liberation of a histamine-like substance. On the contrary, Burgess, Sacks and Ivy (18) have evidence showing that when doses of histamine and „gastrin“ which have the same effect on gastric secretion are injected intravenously the gastrin preparation lowers blood pressure to a less extent than the histamine solution. Also, Necheles and Lim (14) report that their vivi-dialysates which contained a gastric secretory excitant had little or no effect on blood pressure. So the author believes that when gastrin shall have been isolated in pure form it will be found to have but little effect on blood pressure, although it may cause vaso-dilation of the vessels of the gastric glands.

The effect of atropine on the histamine stimulation of the gastric glands has a bearing on the problem. Keeton, Koch and Luckhardt (16) found that 1 *mgm* of atropine does not antagonize submaximal doses of histamine and gastrin. Data obtained by Barry and the author shown in table 1 demonstrates that 1 *mgm* of atropine does antagonize small threshold doses of histamine. The same is true for gastrin, but only impure solutions of gastrin have been used in work of this type. The lack of a marked antagonism between gastrin and histamine on the one hand and atropine on the other is quite paradoxical when related to the fact that in the dog 1 *mgm* of atropine prevents (16) the gastric secretory response to a meal in the dog. (In man

atropine inhibits but does not prevent the gastric response to a meal (25)). Since Z e l i o n y and S a v i t s c h (26) found that either atropine or the local application of cocaine to the mucosa of the pyloric antrum prevented gastric stimulation when meat extract was applied to the pyloric antrum, it is possible that the foregoing paradox or discrepancy may be explained by assuming that atropine prevents „gastrin“ from being formed, but after „gastrin“ is once formed (as in extracts) atropine will not prevent it from acting. S a v i t s c h (27) has made a similar assumption in explaining data he obtained on another question. Since we do not understand the mechanism by which atropine influences gastric secretion, this atropine evidence does not help much in the solution of the question at hand.

Since the evidence pointed out above on the chemistry of „gastrin“, or the active principle of extracts of pyloric mucosa, strongly indicates that „gastrin“ is an imidazole closely related to either histamine or pilocarpine, B u r g e s s working with the author decided to determine the effect of certain other imidazoles on gastric secretion hoping that we might find one which would stimulate gastric secretion but would have no effect on blood pressure.

Through the courtesy of Professor R o s e we obtained pure imidazole propionic acid, imidazole aldehyde, d-imidazole lactic acid and imidazole acrylic acid and Professor H u r d supplied us with pure imidazole. These imidazoles were injected subcutaneously in doses of from one to five milligrams into Pavlov pouch dogs. We found that none of these imidazoles stimulated gastric secretion and none of them had any effect on blood pressure. Methyl imidazole, hydroxymethyl imidazole and histidine are other imidazoles which have no effect on gastric secretion (16) (22).

## SUMMARY

Since imidazoles are known to be present in the urine and since it is well known that certain hormones are present in the urine, K i m and the author extracted large quantities of urine by established chemical procedures for the preparation of „gastrin“. We failed to find „gastrin“ in the urine, or rather when we injected the extract of as much as 2600 cc of the urine col-



lected during the digestive period into Pavlov pouch dogs, no response was obtained.

It seems obvious to the author that further progress of a conclusive character on the question raised by the researches of Popielski of how secretagogues stimulate the gastric glands and of the nature of the humoral agent or agents concerned awaits the isolation in pure form of the active principle in extracts of the pyloric mucosa and its identification in the blood stream during gastric digestion.

**Table I**

**Showing the secretory response to 0.5 mgm of histamine subcutaneously with and without 1 mgm of atropine sulphate.**

Dog	Procedure	Number of Tests	Average juice amount in cc:	Average % free acidity	Average total acidity %
1	without atropine	9	6.1	0.091	0.173
	with atropine	10	4.9	0.018	0.091 *)
2	without atropine	10	7.9	0.091	0.200
	with atropine	10	2.7	0.027	0.064 *)
3	without atropine	10	4.4	0.145	0.218
	with atropine	10	2.0	0.027	0.118 *)

### BIBLIOGRAPHY

- (1) Popielski: Thesis, St. Petersburg, 1896, (quoted by Pavlov).
- (2) Edkins: J. Physiol., XXXIV, 133, 1906.
- (3) Popielski: Pflüger's Arch., CXXVI, 483, 1909.
- (4) Popielski: Pflüger's Arch., CXXVIII, 191, 1909.
- (5) Popielski and Panek: Pflüger's Arch., CXXVIII, 222, 1909.
- (6) Popielski: Zentralbl. f. Biochem. u. Biophys., XI, 724, 1911.
- (7) Popielski; Zentralbl. f. Physiol., XXIV, 635, 1910.
- (8) Popielski: Zentralbl. f. Physiol., XXIV, 1102, 1911.
- (9) Popielski: Pflüger's Arch., CXLIV, 135, 1912; CL, 1, 1913.

\*) The average acidity of the continuous secretion approximated these figures.

- (10) Popielski: Pflüger's Arch., CLXXVIII, 214, 327, 1920.  
 (11) Ivy: Physiol. Reviews, X, 282, 1930.  
 (12) Ivy and Farrell: Am. J. Physiol., LXXIV, 639, 1925.  
 (13) Lim, Loo and Liu: Chinese J. Physiol., I, 51, 1927.  
 (14) Necheles and Lim: Chinese J. Physiol., II, 415, 1928.  
 (15) Dale and Laidlaw: J. Physiol., XLI, 318, 1910.  
 (16) Keeton, Luckhardt and Koch: Am. J. Physiol., LI, 454, 469, 1920; Am. J. Physiol., LII, 508, 1920.  
 (17) Rothlin and Gundlach: Arch. internat. d. Physiol., XVII, 59, 1921.  
 (18) Burgess, Sacks and Ivy: Unpublished.  
 (19) Barger and Dale: J. Physiol., XLI, 499, 1911.  
 (20) Abel and Kuboda: J. Pharm. Exper. Therap., XIII, 243, 1919.  
 (21) Lim: Quart. J. Exper. Physiol., XIII, 79, 1922.  
 (22) Ivy and Javois: A. J. Physiol., LXXI, 604, 1925.  
 (23) Koessler and Hanke: J. Biochem., LIX, 889, 1924.  
 (24) Kalk: Klin. Wochenschr., VIII, 64, 1929.  
 (25) Riegel: Zeit. f. Klin. Med., XXXVII, 381, 1899.  
 Bylina: Arch. f. d. gesamt. Physiol., CXLII, 531, 1911.  
 Lim, Ivy and Mc Carthy: Quart. J. Exper. Physiol., XV, 13, 1925.  
 Lim, Matheson and Schlapp: Quart. J. Exper. Physiol., XIII, 376, 1922.  
 Dodds and Bennett: J. Physiol., LV, 1921.  
 Lockwood and Chamberlain: Arch. Int. Med., XXX, 806, 1922.  
 Keefer and Bloomfield: Arch. Int. Med., XXXVIII, 303, 1926.  
 Bennett: Guy's Hospt. Reports, LXXI, 54, 446, 1921.  
 Rehfuß: Tr. Am. Gastro-Entero. Assoc., 1918, p. 25.  
 Crohn: Am. J. Med. Sci., CLV, 801, 1918.  
 Rall: Zeitschr. f. d. ges. Med., LII, 752, 1926.  
 Mitrovitch: Compt. rend. Soc. de Biol., XCIV, 221, 1926.  
 Kalk and Siebert; Arch. f. Verdauungskr., XL, 313, 1927.  
 (26) Savitsch and Zeliony: Pflüger's Arch., CL, 128, 1913.  
 (27) Savitsch: J. Russe de Physiol., IV, 165, 152, 1922.



WŁ. JAKOWICKI

## Kilka uwag w sprawie wpływu przewlekłego zatrucia morfiną na czynność rozrodczą i potomstwo

Przechodzenie morfiny z ustroju matki przez łożysko do krwiobiegu płodu zostało ustalone przez Kormann'a, Bureau i H. Küstner'a, przechodzenie zaś alkaloidów mawkowca stwierdzili Lewin, Kubassow i inni. Nie ulega również wątpliwości, że ciała te przechodzą u osób karmiących do mleka.

Znaną jest ogólnie duża wrażliwość na morfinę noworodków i dzieci, a opisane przez Ipsen'a przypadki śmiertelnego zatrucia 15-dniowego dziecka dawką 0.005 i 6-tygodniowego dawką jednorazową 0.01 morfiny bynajmniej nie są odosobnione. Wyjątkowa osobniczo zmniejszona wrażliwość, jak w przypadku Wichury, w którym uratowano oseska zatrutego dawką 0.02 morfiny, nie może być brana w rachubę.

Fakty powyższe wysuwały oddawna pytanie, co do możliwości stosowania morfiny w położnictwie. Odpowiedź na to dało samo życie, które wykazało, że bez środków narkotycznych, a przede wszystkim morfiny, położnictwo obejść się nie może i że średnie dawki lecznicze jednorazowo lub nawet parokrotnie podane nie tylko szkodliwego wpływu na płód nie mają, ale przeciwnie odpowiednio zastosowane przyczyniają się raczej do uzyskania żywego dziecka.

Środki bowiem narkotyczne z grupy morfiny pozwalają opanować występującą podczas porodu niezborność bólów, regulują te bóle i przez to zwiększają ich wydajność, w innych razach dają matce w pracy porodowej na pewien czas nie tylko odpoczynek, ale, zwalniając skurcze macicy, wyrównują

krażenie łożyskowe i chronią płód od zamartwicy; wreszcie u osób bardzo wrażliwych morfina zastosowana w okresie przerywania się główki znosi skurcz mięśni podstawy miednicy, a przez to nietylko chroni te mięśnie przed pęknięciem, ale skraca okres wydalania płodu.

Nieco inaczej przedstawia się sprawa, o ile dawki morfiny, chociażby małe, stosowane są często, a ciążarna lub rodząca pozostaje przez czas dłuższy w stanie zamroczenia morfinowego.

W ten sposób stosowana morfina bywa najczęściej w dwóch okolicznościach: podczas prowadzenia porodu sposobem bezbolesnym, a więc najczęściej w odurzeniu skopolaminowo-morfinowym, bądź w leczeniu rzucawki porodowej sposobem Stroganowa.

Zgubny wpływ morfiny na płody w tych razach jest oczywisty, a duża odsetka płodów urodzonych w stanie zamartwicy, a nawet martwych obciąża statystyki najgorętszych zwolenników tych metod. Cierpi tu nie tylko płód, ale i sama czynność porodowa ulega zaburzeniu. Dowodzi tego duża odsetka operacyjnie w tych razach kończonych porodów i ciężkie stany niedowładu macicy.

W tych kilku słowach dałoby się ująć zagadnienie stosowania morfiny podczas porodu: a więc jednorazowych leczniczych dawek i właściwego ostrego zatrucia morfiną.

Zupełnie odrębne stanowisko w stosunku do czynności rozrodczej zajmuje zatrucie przewlekłe czyli nałogowe nadużywanie morfiny.

W podręcznikach farmakologii znajdujemy w tej sprawie krótkie uwagi co do niepłodności morfinistek i występującej u morfinistów *impotentiae* a nawet *azospermiae*.

Vögel stwierdził u morfinistek częste zaburzenia w miesiączkowaniu, brak popędu płciowego, nadto zanik narządu rodnego i w 24% niepłodność.

W podstawowym podręczniku Halban'a i Seitz'a omawianym zagadnieniom poświęcono zaledwie krótką wzmiankę, opartą na pracy Leppmann'a, z której dowiadujemy się, że morfinistki wprawdzie czasami rodzą dzieci żywe, jednak zwykle są niepłodne lub rodzą przedwcześnie. Nadto, że u pło-



dów w tych razach występują wyraźnie objawy głodu morfinowego (A. i F. Leppmann).

Zjawisko to jest tem ciekawsze, że przewlekłe zatrucie alkoholem i — jak się zdaje — kokainą, takiego wpływu na czynność rozrodczą niema, a pijaczki nawet wykazują płodność wyższą od średniej.

Możnaby więc mówić o pewnem swoistem oddziaływaniu morfiny na komórki rozrodcze, zależnem być może od większego powinowactwa morfiny do ciał lipidowych.

Mała liczba obserwacji ciąży i porodów u nałogowych morfinistek powoduje, że wpływ przewlekłego zatrucia morfiną na czynność rozrodczą nie jest należycie wyświetlony.

Dotychczas opisane spostrzeżenia dałyby się podzielić na trzy grupy.

Do pierwszej odnieśliśmy przypadki niepłodności i poronień.

Prawdopodobnie w tych razach zachodzi pierwotne uszkodzenie komórki jajowej, bądź nawet całkowite zahamowanie czynności jajczkowania. Istniałaby więc analogja z przypadkami wyniszczających przewlekłych intoksykacyj z tą jednak różnicą, że w zatruciu morfiną zjawisko zatrzymania się regularności występuje często bardzo wczesnie wobec zupełnie jeszcze dobrego ogólnego stanu.

Dwa razy miałem możność spostrzegania tego rodzaju chorych, które zasięgały porady jedynie z powodu opóźniania się miesiączki. Bardzo skrupulatne badanie a wreszcie wywiady pozwoliły wykryć właściwą przyczynę tej nieprawidłowości.

Drugą grupę stanowiłyby przypadki, podobne do opisanego przez Gaujoux i Gayet, w którym kobieta cierpiąca na *crises gastriques* nabawiła się nałogu podczas ciąży.

Dziecko, karmione sztucznie, zmarło po sześciu tygodniach wśród drgawek.

Należy tu również przypadek Malinowskiego, gdzie matka w ostatnich 3 miesiącach ciąży dostawała dwa razy dziennie iniekcje morfiny. Dziecko, wydobyte drogą laparatomji (ciąża pozamaciczna donoszona), zmarło po 19-tu godzinach.

Wreszcie do trzeciej grupy należałoby zaliczyć przypadki donoszenia ciąży, w którą zachodzi nałogowa morfinistka.

Z bardzo ubogiej kazuistyki przedmiotu mogę przytoczyć niedawno ogłoszony przypadek Wirszubskiego.

Pacjentka, z zawodu farmaceutka, od szeregu lat nałogowa morfinistka, urodziła dwoje donoszonych żywych dzieci, podczas ostatniej ciąży dzienna dawka morfiny sięgała 1.5 g.

Pierwsze dziecko karmione piersią rozwijało się normalnie, drugie karmione sztucznie, już w pierwszym dniu dostało drgawek, które dopiero ustąpiły na piąty dzień po przystawieniu do piersi matki, która w tym czasie zażywała zmniejszoną dawkę 0.4 morfiny.

Podobny przypadek spostrzegalem w swoim czasie w klinice prof. Czyżewicza, któremu na tem miejscu serdecznie dziękuję za pozwolenie opublikowania go.

Przypadek ten, który skłonił mnie do bliższego zajęcia się omawianą sprawą, przedstawiał się, jak następuje:

J. P. 24-letnia wieloródka, zgłosiła się w roku 1923 do warszawskiej kliniki uniwersyteckiej w końcu I okresu porodu. Z wywiadów można było ustalić, że jest to druga ciąża. Pierwszy poród odbyła przed dwoma laty siłami natury, jakkolwiek poród trwał trzy doby. W czasie ostatnich dwóch miesięcy, podobnie jak w pierwszej ciąży, miała nieokreślonego charakteru bóle w jamie brzusznej, nadto cierpi na uciążliwe zaparcie stolca, który miewa co 5—7 dni.

W trzy godziny po zgłoszeniu się do kliniki nastąpił poród samodzielny. Dziecko płci męskiej donoszone, wagi 3350 g, bez żadnych wad rozwojowych, prawidłowo zachowujące się. Trzeci okres przeszedł bez powikłań; łożysko prawidłowe wagi 750 g.

W zachowaniu się pacjentki podczas porodu nie dostrzeżono żadnych nieprawidłowości. Dopiero następnego dnia po porodzie położnica stała się niespokojną, podnieconą i zaczęła się skarżyć na bóle w jamie brzusznej i klatce piersiowej. Badanie przedmiotowe poza nieznacznymi objawami nieżyty oskrzeli nie wykazało powodu tych bólów.

Zaostrzono obserwację nad pacjentką i wkrótce stwierdzono w bułce, przysłanej przez męża, ampulki z morfiną w dawce po 0.03 i strzykawkę do iniekcji. Wtedy dopiero pacjentka przyznała się, że już przed ciążą i w ciągu całej ciąży stosowała wstrzykiwania morfiny — ostatnio 3 razy



dziennie po 0·6 i że już dawniej była leczona w zakładzie psychiatrycznym.

Zanim sprowadzono męża i ustalono, jaką dawkę pacjentka w rzeczywistości otrzymywała, upłynęło znowu kilka godzin. W tym czasie niepokój pacjentki wciąż się utrzymywał, a jednocześnie dziecko stało się również niespokojne.

Mąż pacjentki, którego zachowanie się zdradzało morfinistę, potwierdził zeznania żony, wobec tego wstrzyknięto pacjentce 0·03 morfiny i zastosowano sugestję na jawie. Uspokojenie znaczne, w nocy chora kilka godzin spała.

Następnego dnia chora znowu podniecona. W ciągu doby podano dwa razy po 0·03 morfiny, nadto kodeinę i belladonę.

Stosując coraz to mniejsze dawki, zastępując iniekcje nalewką makowca i veronalem, wreszcie oddziałując sugestją, udało się położyć przeprowadzić szczęśliwie.

Poza jednorazowym podniesieniem ciepłoty do 39° w 6-tym dniu i kilkudniową biegunką, powikłania nie było.

W ostatnich dniach pobytu w klinice chora nie upominała się o morfinę, jakkolwiek nie można było wykluczyć możliwości dostarczenia jej morfiny przez rodzinę.

Dziecko wkrótce po urodzeniu stało się niespokojne i w 3-cim dniu po porodzie zmarło wśród objawów lekkich drgawek tonicznych.

Nadmienić należy, że od czasu porodu do podania matce pierwszej iniekcji morfiny upłynęło blisko 48 godzin i że objawy, spostrzegane u dziecka, mogą być traktowane jako wyraz głodu morfinowego.

Sekcja zwłok noworodka, dokonana w Zakładzie Anatomji Patologicznej Uniwersytetu Warszawskiego (Dr. Czarnocki i Dr. Połtorzycka), wykazała: *gastritis ulcerosa, enterocolitis catarrhalis. Infiltratio adiposa hepatis. Venostasis renum et pulmonum. Venostasis oesophagi, tracheae et laryngis. Infarctus urici renum.*

Badanie zaś mikroskopowe kory mózgu, wycinków zwojów podstawowych i mostu Varola wykazało przekrwienie tkanki mózgowej, gdziekolwiek nawet drobne wybroczyny. Komórki nerwowe naogół przedstawiają się normalnie. Pewne zmiany, bardzo zresztą nieznaczne, wykazują niektóre komórki zwojów podstawowych w postaci *chromatolysis*.

W obrazie zatem anatomo-patologicznym zwracają na siebie uwagę zmiany w przewodzie pokarmowym, analogiczne do spostrzeganych klinicznie u matki biegunek i zmiany w komórkach zwojów podstawowych mózgu. Ogólne przekrwienie i wybroczyny w narządach można uważać jako skutek drgawek, które poprzedziły zejście śmiertelne.

Dotychczasowy materiał kliniczny w omawianej sprawie jak widzimy jest bardzo szczupły, to też postanowiłem zbliżyć się do wyjaśnienia wpływu przewlekłego zatrucia morfiną na czynność rozrodczą drogą doświadczeń.

Po pierwszych próbach na kotach przeszedłem do badań na myszach i szczurach białych, jako materiały odpowiedniejszym. Pierwsza grupa doświadczeń polegała na stosowaniu morfiny myszkom ciężarnym. Myszy te już po kilku iniekcjach wszystkie bez wyjątku poroniły płody zmacerowane, natomiast kontrolne, którym wstrzykiwano roztwór fizjologiczny soli kuchennej, tylko wyjątkowo rodziły przedwcześnie i to płody żywe.

Druga grupa doświadczeń polegała na wytworzeniu z szeregu zwierząt (szczurów) samek i samców nałogowych morfinistów, które parowano ze sobą, bądź też łączono samki morfinistki z samcami zdrowymi.

Po ustaleniu dawki śmiertelnej dla szczura na 0.24 morfiny na 1 kg wagi zwierzęcia, co odpowiada średniej pomiędzy dawką podaną przez Heymanns'a i de Calseyde'a (0.2) i dawką podaną przez Caesar'a (0.4), rozpoczęto iniekcje od dawki 0.005 w 1% roztworze, co odpowiadało dawce około 0.035 na kilogram wagi, czyli mniej więcej  $\frac{1}{7}$  dawki śmiertelnej, podnosząc ją co kilkanaście dni do dawki 3-krotnie wyższej.

Kontrolne zwierzęta otrzymywały codziennie pod skórę po 1 cm roztworu fizjologicznego soli kuchennej.

Wobec tego, że ruja u szczurów białych występuje w okresach nieregularnych, wahających się między 2 a 20 dniami (Ischii) i trwa zaledwie 4—6 godzin, pozostawiać należy samce co najmniej w ciągu 3 tygodni; pierwsze próby pozostawiania ich na czas krótszy 5-ciu nawet 6-ciu dni do ciąży nie doprowadziły. Pozostawialiśmy więc pary ze sobą przez czas często znacznie dłuższy.



Wyniki tej grupy doświadczeń okazały się dość jednolite. Przytoczę w skróceniu jedną serję:

I. Samica wagi 131 g w czasie od 4/X. 1926 r. do 5/VII. 1927 r., a więc w ciągu 275 dni otrzymała 2745 g *morphii muriatici*. Średnia dawka dzienna 0·01; pro 1 kg — 0·076.

W miesiąc od rozpoczęcia doświadczenia połączona ze zdrowym samcem na 6 dni bez efektu (4/XI.—10/XI. 1926 r.). Po przerwie dwumiesięcznej złączona ze zdrowym (12/I.—29/III.) 17 kwietnia 1927 r. urodziła 2 młodych żywych. 18/IV. zagryzła je.

II. Samica wagi 140 g w czasie od 4/X. 1926 r. do 5/VII. 1927 r., a więc w ciągu 275 dni otrzymała 2745 g *morphii muriatici*; średnia dawka dzienna około 0·01; pro 1 kg 0·071. Samiec jak w I. 1/V. 1927 r. urodziła 2 młodych nieżywych.

III. Samica 140 g od 5/X. 1926 r. do 17/III. 1927 r., a więc w ciągu 165 dni otrzymała 1960 g *morphii muriatici*; średnia dawka dzienna 0·012; pro 1 kg 0·086. Samiec zdrowy od 19/I. do 17/III. 1927 r. 17 marca 1927 r. samica zdechła. Sekcja — brak ciąży.

IV. Samka 130 g od 8/X. do 14/XI. 1926 r. w ciągu 37 dni otrzymała 0·39 *morphii muriatici*; średnio dziennie 0·012; pro 1 kg 0·11. Od 9/XI. do 14/XI. dołączono samca morfinistę (V) — bez efektu. 19/I. do 29/III. — razem ze zdrowym samcem. 4 maja 1927 r. urodziła 9 młodych żywych. Po porodzie przerwano wstrzykiwanie morfiny. 5 maja padło 3 młodych, 7 maja — 1 młode. Pozostałe 3 wychodowały się.

Nadmienić należy, że sekcje matek i płodów poza przekrwieniem narządów zmian nie wykazały.

VII. i VIII. Samki kontrolne otrzymały od 20/X. 1926 r. codziennie po 1 cm<sup>3</sup> roztworu fizjologicznego soli kuchennej. Ze zdrowymi samcami od 4/XI. do 10/XI. — bez efektu, po raz drugi (analogicznie do samsk morfinistek) od 12/I. do 29/III. 27 marca samka VIII. padła — sekcja stwierdziła ciążę. VII. prawidłowo urodziła.

Na podstawie przeprowadzonych doświadczeń można wnioskować:

1. że myszy i szczury znoszą dość dobrze długotrwałe podskórne wprowadzanie morfiny i że śmiertelność jest taka sama, jak u zwierząt kontrolnych, czyli nie zależy od morfiny;

2. najzgubniejszym dla płodów jest wprowadzanie morfiny w okresie już istniejącej ciąży;
3. że żywotność płodów morfinistek jest zmniejszona.
4. Objawy głodu morfinowego u szczurów nie są wyraźne.

Badania nad wpływem przewlekłego zatrucia morfiną na proces jajczkowania i na wytwarzanie się hormonów przedniego płatu przysadki i jajnikowego są obecnie w toku.

Z piśmiennictwa przytoczyć można doświadczenia A. Forstera, który badał cykl przemian pochwoowych u szczurów pod wpływem przewlekłego zatrucia morfiną i kokainą, i doszedł do wniosku, że zatrucie morfiną w przeciwieństwie do kokainy wpływa na ten cykl.

Dalsze badania w tym kierunku pozwolą może ustalić przyczynę niepłodności u morfinistek i wyjaśnić, czy zależną jest ona od bezpośredniego zahamowania jajczkowania, czy też od zmniejszenia ilości hormonów płciowych.

---

## PIŚMIENNICTWO.

1. Halban u. Seitz. Biol. u. Pathol. des Weibes. T. VII. str. 485.
2. C. Ipsen. Cyt. pd. Jahresbericht über die Geb. u. Gyn. 1912, str. 873.
3. M. Wichura. Münch. med. Woch. T. 58, str. 1618.
4. Heffter. Handbuch d. exper. Pharmakologie.
5. Gaujoux et Gayet. Bull. de la Soc. d'Obst. et de Gynécol. 1924 r., str. 381.
6. Malinowski. Przegl. chir. i gin. T. 9, str. 340.
7. Wirszubski. Pamiętnik Wil. Tow. lek. Roczn. VI., zesz. 1.
8. A. Forster. Endokrinol. 2 cyt. pd. Berichte über die ges. Gyn. u. Geb. T. 16, str. 13.
9. Vögel cyt. pd. Berichte ü. d. ges. Gyn. u. Geb. 1929, str. 770.



## Quelques remarques sur l'influence de l'intoxication chronique par la morphine sur la fonction germinative et la progéniture

par

Wł. Jakowicki

Les souris et les rats supportent bien les injections prolongées de la morphine sous la peau. La mortalité ne dépasse pas celle des animaux du contrôle.

L'injection de la morphine pendant la grossesse est nuisible pour les embryons. La vitalité des foetus provenant des animaux recevant de la morphine est diminuée.

Les phénomènes d'abstinence chez les rats ne sont pas bien prononcés.

Les expériences entreprises par l'auteur sur l'influence du morphinisme chronique sur le processus de l'ovulation et de la production des hormones du lobe antérieur de l'hypophyse et de l'ovaire, pourront peut-être élucider la cause de la stérilité morphinique.

FRANCISZEK KMIETOWICZ (jun.)

## Z farmakodynamji siarkowodoru

O wchłanianiu się siarkowodoru z przewodu pokarmowego

### I.

Przekonawszy się dawniej, że siarkowodór wchłania się przez skórę, przeszedłem do serji doświadczeń nad wchłanianiem się tegoż z przewodu pokarmowego.

Po wstrzyknięciu gazowego siarkowodoru do żołądka otrzymałem obraz burzliwego działania na oddech i serce, a wskaźniki z bibuły przepojonej octanem ołowiowym, zmoczone i przytknięte do kaniuli tkwiącej w tchawicy, czerniły się natychmiast bardzo intensywnie, jako dowód, że siarkowodór wydzielał się drogą płuc.

Cheąc ustalić szybkość wchłaniania się z jelit do krwioobiegu oraz ilość eliminowanego siarkowodoru drogą płuc, opracowano metodykę, która wykluczała źródła możliwych błędów.

Psy usypiano chloralozą, następnie łączono lewą tętnicę dogłową z kymografem Ludwiga, celem zapisywania ciśnienia krwi, wkońcu odpreparowywano tchawicę, łączono ją z dużą szklaną rurką, zgiętą pod kątem rozwartym. U wylotu tej rurki badano wprost z płuc powietrze wydechowe na obecność siarkowodoru, — a założywszy na tę rurkę system podwójnych wentyli, zbierano powietrze wydechowe do worków gumowych.

W razie potrzeby t. zn. przy porażeniu oddechu na rurkę tę zakładano węży gumowego z aparatu do sztucznego oddechania, który to aparat również posiadał system podwójnych wentyli, tak, że każdej chwili można było zbierać powietrze wydechowe do worków.



Z worków gumowych oznaczano w gazomierzu ilość powietrza przed i po siarkowodorze w litrach na minutę.

Celem zaś chemicznego oznaczenia ilości siarkowodoru w powietrzu wydechowem łączono worki z trzema płuczkami, a te ze ssącą pompą wodną. Do dwóch pierwszych płuczek, pojemności około  $200\text{ cm}^3$ , wlewano po  $40\text{ cm}^3 \frac{1}{10}$  n. roztworu jodu. Jod ten miał wychwytać siarkowodór t. zn. wytworzyć zeń jodowodór i strącić siarkę. Ponieważ jod jest w roztworze bardzo lotny, a dłuższe ssanie pompą wodną tworzyło prąd powietrza, który porywał go za sobą z płuczek, — w trzeciej płuczce umieszczono  $40\text{ cm}^3 \frac{1}{10}$  n. tiosiarczanu sodowego. Miał on za zadanie pochłaniać ulatniający się jod. W ten sposób siarkowodór wiązał się w płuczce I., ale też jod ulatniał się z niej do płuczki II. Tu byłaby nadwyżka jodu, gdyby ten sam prąd powietrza nie porywał go i z płuczki II. Jod ten wylapywany był przez tiosiarczan. Płuczka II. jodowa była też rezerwą do pochłonięcia siarkowodoru, któryby nie został wylapany w płuczce I.

Chcąc ustalić też, ile znów tiosiarczanu zostaje mechanicznie porwanym przez pompę wodną, nastawiono szereg oznaczeń z samym tiosiarczanem. Błąd stąd powstały odliczano przy rozrachunku. Naturalnie szybkość ssania była ustalona na pompie wodnej, tak, że nie było większych wahań przy oznaczeniach chemicznych.

Po przepłukaniu płuczek wodą destylowaną miareczkowano ilość pozostałą jodu tiosiarczanem, a tiosiarczan zaś jodem. Cyfra otrzymana podawała w  $\text{cm}^3$  ubytek jodu, a więc przy obecności siarkowodoru, pośrednio ilość pochłoniętego siarkowodoru.

Jako wskaźnik służyła skrobia rozpuszczalna (*amylum solubile*). Pływy mianowane były zawsze ustawione zupełnie ściśle na siebie.

Siarkowodór otrzymywano z aparatu Kippa, działając kwasem solnym na piryt. Siarkowodór potrzebny do doświadczeń zbierano w pęcherzyku gumowym, a ilość siarkowodoru obliczano w cylindrze szklannym z ilości wypartej wody. Pęcherzyk gumowy łączono przy pomocy grubych, ale krótkich węży gumowych z dużą igłą. Igłę tę następnie wbijano do

światła żołądka, jelit cienkich lub kiszki grubej i mechanicznie wyciskano siarkowodór do wnętrza przewodu pokarmowego.

Atmosfera pokoju doświadczalnego była więc zawsze zupełnie wolna od siarkowodoru. Siarkowodór wchłonięty z jelit i wydalony drogą płuc musiał w całości zebrać się w worku gumowym, połączonym szczelnie systemem rur szklanych i gumowych z tchawicą.

Nadto przy doświadczeniach używano świeżej i silnej wody siarczanej ze Zdroju Aleksandry w Niemirowie.

## 2.

### Wpływ siarkowodoru na oddech.

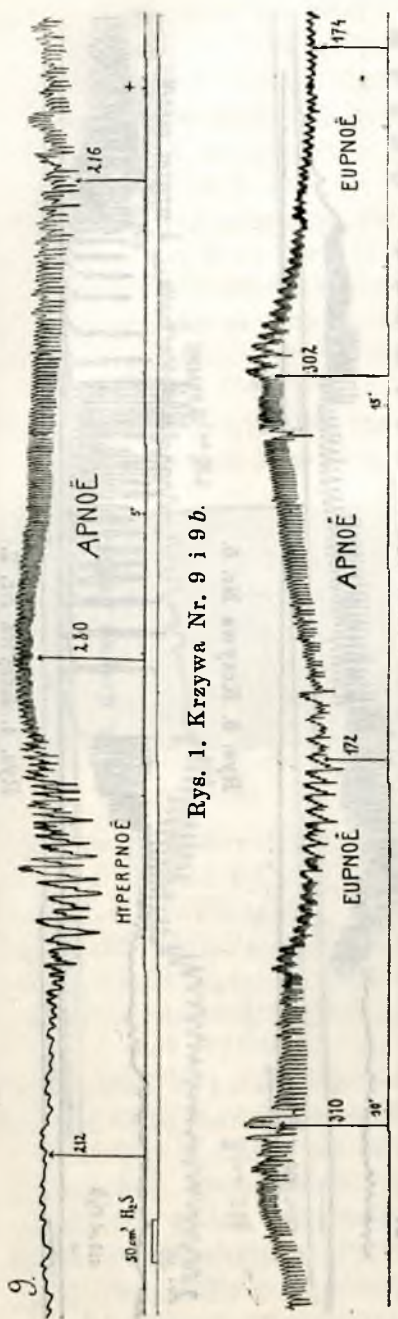
Psu Nr. 9 ♀, 23 kg wagi, uśpionemu chloralozą, po trzech godzinach normy, po przecięciu powłok brzusznych, wstrzyknięto igłą z pęcherzyka gumowego 50 cm<sup>3</sup> gazowego siarkowodoru w ciągu 20 sekund do jelita cienkiego.

Płytkie oddechy, których było 10 na minutę, po wchłonięciu się siarkowodoru do krwiobiegu, już po 90 sekundach nieco się przyspieszyły na 12 w jednej minucie, ale też i bardzo wybitnie się pogłębiły, tak, że pies zaczął ze siebie intensywnie wyrzucać powietrze (*Hyperpnoë*, *Tachypnoë*). Po 3½ minutach od wstrzyknięcia siarkowodoru oddechy stały się płytsze, aby w 5 minut przejść w zupełny bezdech (*Apnoë*). Dopiero w 11 minucie wróciły oddechy na 2 minuty w ilości 9—10 na 1', potem bezdech trwał znowu przez 2½ minuty. Oddychanie wróciło na stałe dopiero po 15 minutach, a po 17 wyrównało się zupełnie.

Uwidacznia się tu wyraźnie działanie na ośrodek oddechowy, i to działanie porażające. Tylko dzięki trzykrotnemu wydzieleniu się prawdopodobnie adrenaliny z nadnerczy do krwiobiegu w czasie zaprzestania oddechów, czyli w czasie duszenia się, jak również dzięki podniesieniu się napięcia ośrodków naczynioruchowych — pies nie zginął. Ilustruje to krzywa Nr. 9.

Dawka siarkowodoru w ilości 50 cm<sup>3</sup>, jaką podaliśmy, jest dawką już silnie toksyczną dla psów wagi około 20 kg; 150 cm<sup>3</sup> zaś jest już zwykle dawką śmiertelną z jakiej tylko





Rys. 1. Krzywa Nr. 9 i 9 b.

Rys. 2. Krzywa Nr. 9 c.

z trudnością po założeniu sztucznego oddechania można zwierzę uratować.

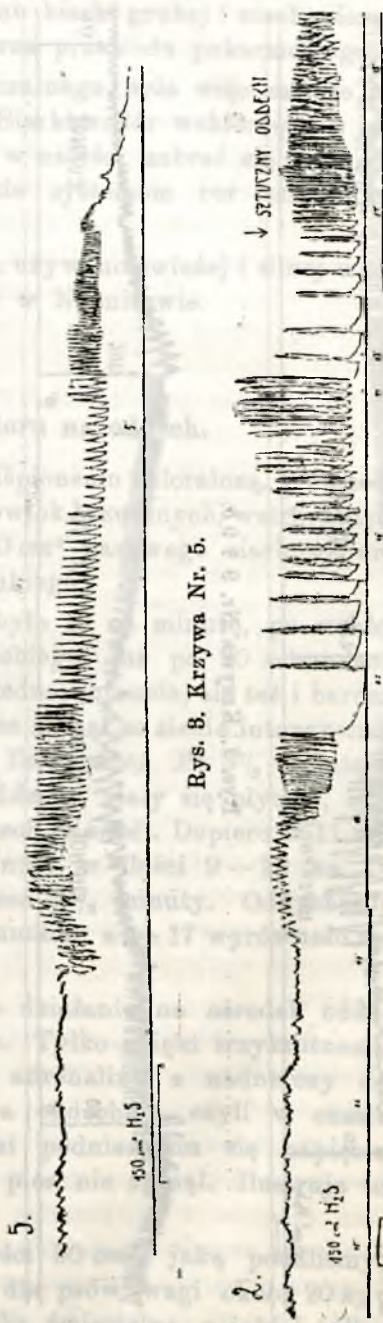
Krzywa Nr. 5 wyjaśnia działanie porażające siarkowodoru na ośrodek oddechowy. Psu ♂, wagi 14 kg wstrzyknęliśmy 150 cm<sup>3</sup> siarkowodoru do jelita cienkiego. Wstrzykiwanie trwało 45 sekund, a już po 30 sekundach oddechy pogłębiły się bardzo silnie na przeciąg 1/2 minuty, poczem nastąpił bezdech, a w 7 minut śmierć z powodu porażenia oddechu.

Że ma się tu do czynienia z porażeniem oddechu przedewszystkiem, dowodzą tego dwa następujące doświadczenia.

Małemu psu Nr. 2 ♀, 10 1/2 kg wagi wstrzyknięto w ciągu 1 minuty do żołądka 150 cm<sup>3</sup> siarkowodoru. Po 1 minucie wystąpiły głębokie oddechy, poczem natychmiastowo bezdech, a w 1 1/2 minuty działanie siarkowodoru na sam mięsień sercowy, charakteryzujące się zwolnieniem tętna i bardzo obszerną amplitudą skurczu. Po 8 minutach kiedy normalnie zwierzę ginie, założono sztuczny oddech, odtruło krew przez ekshalację siarkowodoru. i już po 6 mi-

nutach sztucznego oddechania wrócił samoistny oddech; a w 25 minut od podania siarkowodoru oddech był normalny, nieco tylko głębszy i nieco wolniejszy, przy niskim względnie ciśnieniu krwi, któreto ostatnie zjawisko wyjaśnimy poniżej.

Drugim dowodem nato, że siarkowódór działa na ośrodki oddechowe jest fakt, że po przecięciu rdzenia kręgowego pod rdzeniem przedłużonym i przy założeniu sztucznego oddechu u psa Nr. 14 ♂, 18 kg wagi, po iniekcji do jelita cienkiego w ciągu 40 sekund 200 cm<sup>3</sup> siarkowodoru, a więc dawki śmiertelnej, siarkowódór nie wpłynął na typ oddechania zupełnie, a tylko po 1½ minuty od podania siarkowodoru, wystąpiło działanie na sam mięsień sercowy, trwające również przez 1½ minuty, a charakteryzujące się zwolnieniem tętna i rozszerzeniem amplitudy skurczu serca. Efekt jednak nie był ani zbyt nasilony, ani długotrwały i wyrównał się sam zupełnie, powracając do normy po 3 minutach od zadziałania siarkowodoru. Podkreślić tu należy, że ciśnienie krwi utrzymało się bez zmian na stałej wysokości w czasie całego doświadczenia.

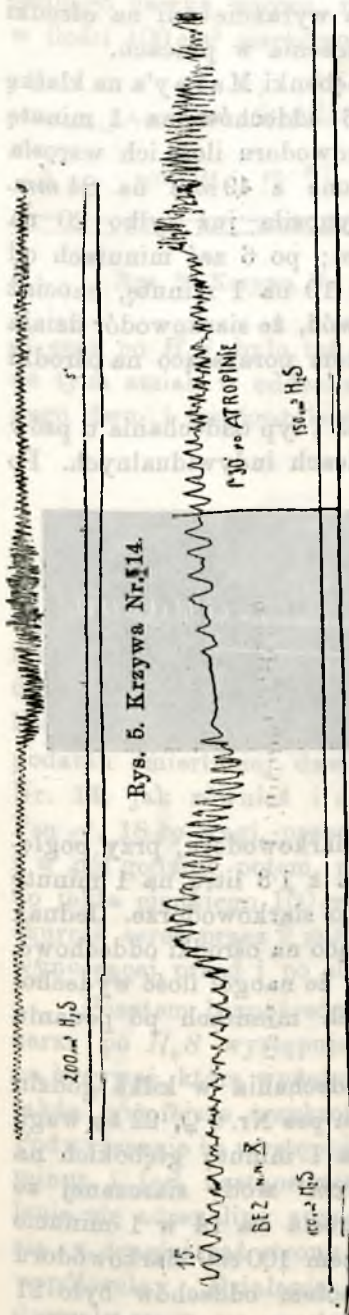


Rys. 5. Krzywa Nr. 5.

Rys. 4. Krzywa Nr. 2.



14.



Rys. 5. Krzywa Nr. 14.

Rys. 6. Krzywa Nr. 15.

Tak więc przerwanie łączności ośrodków oddechowych z obwodem, świadczy, że punkt zaczepienia dla siarkowodoru leży tam właśnie, a krzywa Nr. 14 objaśnia opisane zjawisko.

Ponieważ siarkowodor przy wydechu dostaje się na powierzchnię płuc z krwiobiegu i może działać na zakończenia nerwu błędnego, a drogą krwiobiegu również na jego ośrodki, celem wykluczenia tej możliwości przecinano oba nerwy błędne na szyji, a podawszy siarkowodor do jelita cienkiego obserwowano zachowanie się oddechu.

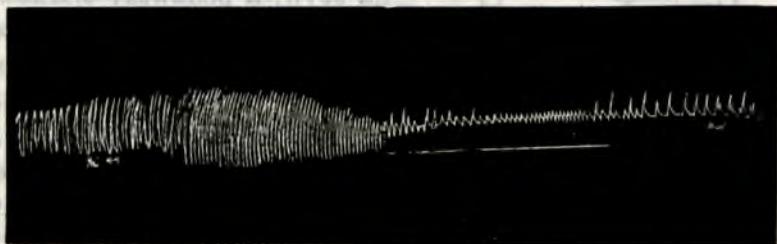
Otóż u psa Nr. 15 ♂, 15 kg wagi, mimo przecięcia obu nerwów błędnych, krzywa po 100  $cm^3$  siarkowodoru, miała obraz krzywej normalnej dla  $H_2S$ , jaką poznaliśmy np. w doświadczeniu Nr. 9.

Wstrzyknąwszy podskórnie 0.02 g atropiny temu psu, po wystąpieniu wszystkich objawów farmakologicznych działania atropiny, wyłączwszy w ten sposób zakończenia nerwu błędnego, podano do jelita cienkiego 150  $cm^3$  siarkowodoru i efekt był jak w doświadczeniu Nr. 9, czyli był zwykłym efektem farmakodynamicznym siarkowodoru, co objaśnia część krzywej Nr. 15.

A więc siarkowodór nie działa wyraźnie ani na ośrodki nerwów błędnych, ani na jego zakończenia w płucach.

Założywszy przy doświadczeniu bębenki Marey'a na klatkę piersiową otrzymano na krzywej 16 oddechów na 1 minutę w normie. (Rys. 7). Po podaniu siarkowodoru ilość ich wzrosła na 28, jak również pogłębiły się one z 49 *mm* na 84 *mm*. Po 3 jednak minutach ilość ich wynosiła już tylko 20 na 1 minutę, a głębokość zaledwie 11 *mm*; po 6 zaś minutach od podania siarkowodoru było oddechów 10 na 1 minutę, chociaż nieco głębszych, bo 22 *mm*. Jestto dowód, że siarkowodór działa krótki czas podniecająco, a zaraz potem porażająco na ośrodki oddechowe.

Ilość powietrza wydechowego jak i typ oddechania u psów waha się w bardzo obszernych granicach indywidualnych. Po



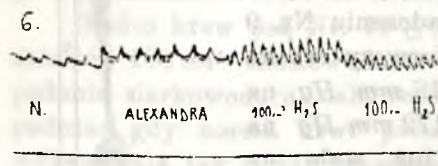
Rys. 7.

podaniu dawki małej, nietoksycznej siarkowodoru, przy pogłębieniu się oddechu ilość powietrza np. z 1-3 litra na 1 minutę wzrosła na 3-3 litra w pół godziny po siarkowodorze. Jednak siarkowodór działa tak łatwo porażająco na ośrodki oddechowe, tak łatwo występują okresy bezdechu, że naogół ilość wydechowego powietrza maleje w pierwszych minutach po podaniu siarkowodoru.

Inaczej przedstawia się okres oddechania w kilka godzin po siarkowodorze np. ilość oddechów u psa Nr. 6 ♀, 22 *kg* wagi, w normie wynosiła 8—9 oddechów na 1 minutę głębokich na 11 *mm*. W 5 godzin po podaniu 650 *cm*<sup>3</sup> wody siarczanej ze źródła Aleksandry ilość oddechów wzrosła na 14 w 1 minucie o 21 *mm* głębokości. Po podaniu dalszem 100 *cm*<sup>3</sup> siarkowodoru do jelita cienkiego, w 2½ godziny potem oddechów było 21 w 1 minucie, o głębokości 15 *mm* i mimo, że dodano do jelita



grubej dawce znowu nie śmiertelną, ale wysoko toksyczną, w ilości  $100\text{ cm}^3$  siarkowodoru, to w godzinę potem było dalej 19 oddechów w 1 minucie o głębokości  $20\text{ mm}$ . Dowodzi to łatwego odtruwania się ustroju z dawek toksycznych, nawet często stosowanych.



Rys. 8. Krzywa Nr. 6.

To pogłębienie i przyspieszenie oddechów w dłuższy czas po  $H_2S$  było też zawsze długotrwałe. Proporcjonalnie do tych zmian w oddechaniu, rosła i ilość powietrza wydechanego dwu- i trzykrotnie po 2—3—5 godzinach od podania  $H_2S$ .

### 3.

#### Wpływ siarkowodoru na narząd krążenia.

Siarkowódór ma wpływ bezpośredni na ośrodki naczynioruchowe w mózgu. Następuje bowiem zwykle krótkotrwałe podniesienie się ciśnienia krwi. Że jest ono pochodzenia centralnego dowodzi tego utrzymanie się wysokości ciśnienia krwi na jednakowej wysokości u psa z przeciętym rdzeniem kręgowym po podaniu śmiertelnej dawki siarkowodoru, co ilustruje krzywa Nr. 14, jak również i doświadczenie Nr. 13, które opiszemy. Psu  $\sigma$ ,  $18\text{ kg}$  wagi, przecięto rdzeń kręgowy pod przedłużonym i w pół godziny potem, po ustaleniu się ciśnienia, wstrzyknięto do jelita cienkiego  $150\text{ cm}^3$  siarkowodoru. Poza działaniem na skurcze serca przez 2 minuty ciśnienie krwi pozostało w normie, wynoszącej przed i po siarkowodorze  $50\text{ mm Hg}$ .

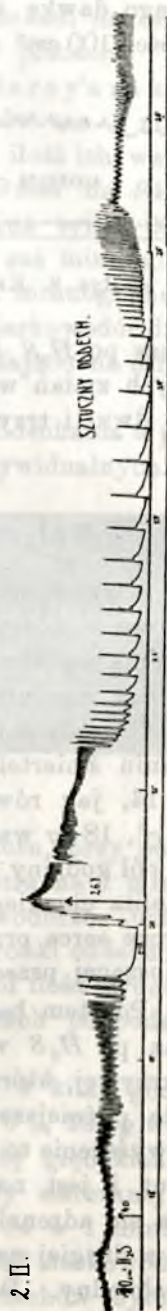
Pozatem bezpośredniem podniesieniem się ciśnienia krwi zaraz po  $H_2S$  występuje np. w doświadczeniu na psie Nr. 9 na krzywej, którą wyżej opisywaliśmy przy omawianiu oddechu, także późniejsze trzykrotne podwyższenie się ciśnienia krwi. Podwyższenie to występuje zawsze po ustaniu oddechów w 2—3 minut i jest następstwem zdaje się z jednej strony wyzwolenia się adrenaliny z nadnerczy do krwiobiegu przy duszeniu się, z drugiej zaś strony wyrazem wpływu na układ nerwowy współczulny. Działanie adrenaliny na sam mięsień sercowy pozwala sercu na przetrzymanie okresu krytycznego i powrót

oddechu, który jedynie zdolny jest odtruwać ustroj w czasie ostrego zatrucia siarkowodorem. I tak ciśnienie w doświadczeniu Nr. 9 podniosło się z 212 *mm Hg* pierwszy raz na 280 *mm Hg*; drugi raz z 216 *mm Hg* na 310 *mm Hg*, a trzeci raz z 172 *mm Hg* na 302 *mm Hg*, by pozostać już stale na 174 *mm Hg*.

A kiedyśmy u psa, ♀, 10<sup>1</sup>/<sub>2</sub> *kg* wagi Nr. 2 II. podali do żołądka i jelita cienkiego 172 *cm*<sup>3</sup> siarkowodoru, to ciśnienie z 40 *mm Hg*, a raczej po porażeniu prawie zupełnym mięśnia sercowego z 18 *mm Hg*, podniosło się typowo dla adrenaliny na wysokość 267 *mm Hg* w 3 minuty 20 sekund po siarkowodorze, a w 1 minutę 20 sekund po duszeniu się i bezdechu.

Ilość siarkowodoru była tu jednak dawką dla psa 10 *kg*, a więc małego podwójnie śmiertelną i mimo obrony ustroju zaczęło się porażenie mięśnia sercowego. Sztuczna dopiero ekshalacja aparatem oddechowym odtruła zwierzę i ciśnienie powoli zaczęło się poprawiać.

Że w całym szeregu doświadczeń z podwyższeniem się ciśnienia krwi przy bezdechu po siarkowodorze, mamy do czynienia także i z adrenaliną, dowodzą tego testy farmakologiczne. Krew psa Nr. 10 ♂, 10<sup>1</sup>/<sub>2</sub> *kg* wagi, pobrana z tętnicy udowej prawej tylnej po zatruciu siarkowodorem i po podniesieniu się ciśnienia krwi — została, po odwłóknieniu odwirowana. Odwirowane i kilkakrotnie przemyte czerwone ciała krwi po zhemolizowaniu ich i po rozpuszczeniu z fizjologicznym roztworem soli w stosunku 1:5 zostały wstrzyknięte dożylnie psu kontrolnemu. I rzeczywiście bezpośrednio po iniekcji tych 2 *cm*<sup>3</sup> ciałek czerwonych, ciśnienie krwi u psa



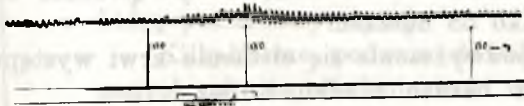
Rys. 9. Krzywa Nr. 2 II.



kontrolnego ze 150 *mm Hg* podniosło się na 180 *mm Hg*, by po 1 $\frac{1}{2}$  minucie wrócić do normy.

Nadto krew psa Nr. 11 ♂, 23 $\frac{1}{2}$  *kg* wagi, po dwukrotnem zatruciu 150 *cm*<sup>3</sup> siarkowodoru w 3 i 5 godzin od pierwszego podania siarkowodoru, dała reakcję adrenalinową na oku żaby, podczas gdy norma krwi podana przed doświadczeniem nie wykazywała tak silnego rozszerzenia źrenicy.

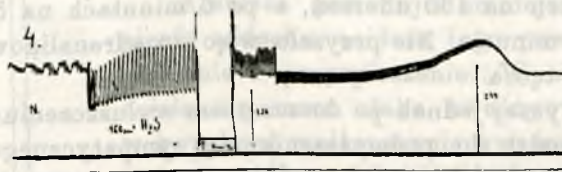
10 II



Rys. 10. Krzywa Nr. 10 II.

Ze mamy w podwyższeniu się ciśnienia krwi jednak mimo wszystko do czynienia także i z adrenaliną przemawia jeszcze i ten fakt, że mimo, iż zatrucie siarkowodorem działa na mięsień sercowy intensywnie porażająco, i mimo, że przychodzi do bardzo silnego zwolnienia tętna, to jednak często obserwuje się w doświadczeniu, fakt przyspieszania tętna po adrenalinowej podwyżce ciśnienia.

I tak w doświadczeniu Nr. 4 ze 120 uderzeń serca w 1 minucie w normie, po 160 *cm*<sup>3</sup> siarkowodoru nieomal zaraz nastąpiło zwolnienie (bradykardja) na 32 uderzeń w 1 minucie,



Rys. 11. Krzywa Nr. 4.

aby przy podniesieniu się ciśnienia krwi z 36 *mm* na 244 *mm Hg*, pod wpływem uwolnienia się adrenaliny, wzrósł najpierw na 150, a zaraz potem na 195 uderzeń serca w 1 minucie.

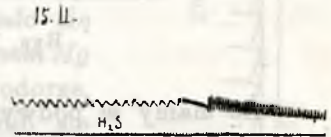
Jeśli zaś porażymy zakończenia nerwu błędnego w sercu atropiną to po siarkowodorze okres intoksykacji charakteryzuje się znanem zwolnieniem tętna, — dowodzi to, że siarkowodor

działa nie na zakończenia parasympatyczne podrażniająco, ale na sam mięsień sercowy porażająco; i tu jest drugi punkt uchwytu dla jego toksycznego działania.

To działanie siarkowodoru porażające sam mięsień sercowy, charakteryzuje się bradykardją i rozszerzeniem amplitudy skurczu serca, jest objawem silnego zatrucia siarkowodorowego. I rzeczywiście w doświadczeniu Nr. 15 II. po przecięciu obu nerwów błędnych, tętno ze 180, a po atropinie ze 190 uderzeń w 1 minucie, — po podaniu siarkowodoru wynosiło tylko 58 uderzeń.

Dalej podwyższenie się ciśnienia krwi występuje też czasem, chociaż bardzo rzadko, i bez wyzwolenia się adrenaliny, a pochodzi najprawdopodobniej ze strony układu współczulnego.

Różnica podwyższenia się ciśnienia krwi po własnej adrenalinie i ze strony układu sympatycznego bez adrenaliny wykazuje pewne różnice.



Rys. 12. Krzywa Nr. 15 II.

Po wycięciu obu nadnerczy psu Nr. 15 ♂, 15 kg wagi, po podaniu 220 cm<sup>3</sup> siarkowodoru, ciśnienie podniosło się powoli ze 70 mm Hg na 165 mm Hg, jednak nie ostro, natomiast ilość skurczów nie przyspieszyła się, nie wystąpiła tachykardja, ale przeciwnie tętno zwolniło się do typowej bradykardji; i to z ilości 180 tętna w 1 minucie, po 4 minutach od podania siarkowodoru na 130 uderzeń, a po 6 minutach na 52 uderzeń serca w 1 minucie. Nie przyszło więc do adrenalinowego przyspieszenia tętna.

Zazwyczaj jednak po doszczętnem wyluszczeniu nadnerczy nie przychodzi do podwyższenia się sympatycznego ciśnienia krwi po siarkowodorze jak w przytoczonym doświadczeniu.

I tak u psa Nr. 18 ♂, 9 kg 200 g wagi, po wyluszczeniu obu nadnerczy, wstrzyknięto do jelita cienkiego 120 cm<sup>3</sup> siarkowodoru. Ciśnienie nie podniosło się z powodu braku adrenaliny, oddechy ustały po 3 minutach, a działanie porażające sam mięsień sercowy wystąpiło w 4 minucie. Fala, którą widzimy na krzywej ciśnienia krwi, jest typową falą Traube-Heringa. Ciśnienie stale zaczęło opadać bez tendencji do podwyższenia. Widoczne w 7 minucie zaburzenie w akcji serca



pochodzi od przedśmiertnych zmian serca, wyczerpujących ostatnie siły rezerwowe. Doświadczenie to dowodzi, że usunięcie nadnerczy, a więc niemożność wyzwolenia się adrenaliny przy duszeniu, powoduje brak podniesienia się adrenalinowego ciśnienia krwi po siarkowodorze, charakterystycznego dla krzywych poprzednich.

Działanie porażające sam mięsień sercowy, uwydatnione jest zwłaszcza na krzywej Nr. 2, którą poznaliśmy wyżej.

Kilkakrotne podanie dawek silnie toksycznych, obniża ciśnienie krwi na stałe i długotrwale. Pochodzi to z jednej strony od działania na ośrodki naczynioruchowe w mózgu, jak i na ściany samych naczyń krwionośnych. Naczynia wszystkie po siarkowodorze, zwłaszcza w jamie brzusznej są silnie rozszerzone, a powierzchnia jelit staje się aksamitno-szkarłatna. To późne potoksyczne obniżenie się krwi występuje jednak tylko przy stosowaniu częstych i trujących dawek siarkowodoru.

## 4.

## a) Alkalozia i kwasica a siarkowodór.

Alkalozia powoduje zmniejszenie i zwolnienie oddechu, acidoza jego powiększenie, pogłębienie i przyspieszenie. W alkalozach wydziela się moczu słabo kwaśny lub zasadowy, w kwasicach zaś znacznie kwaśniejszy, niżli to jest prawidłowo, i może być pośrednią oceną dla stanu stężenia jonów wodorowych krwi.

Chcąc stworzyć warunki pełnego i osłabionego przewietrzenia płuc, zrobiliśmy sztuczną kwasicę i sztuczną alkalozę.

Psu Nr. 12. ♂, 24 $\frac{1}{2}$  kg wagi, daliśmy dwukrotnie w dniu poprzedzającym doświadczenie i raz rano przed eksperymentem, po 12 gr dwuwęglanu sodowego w formie wody alka-



Rys. 13. Krzywa Nr. 18.

licznej właściwej ze zdroju Zuberu w Krynicy. Mocz wykazywał zasadowość 83. Po przeprowadzeniu zwykłych przygotowań, podaliśmy do jelita cienkiego  $150\text{ cm}^3$  siarkowodoru. Objawy wystąpiły już po 30 sekundach, po  $1\frac{1}{2}$  minucie było widoczne bardzo silne działanie toksyczne na mięsień sercowy, i mimo, że po  $3\frac{1}{2}$  minutach założono sztuczne oddechanie, — wystąpiła śmierć w 9 minucie. Objaśnia to niżej podana krzywa.

Kwasicę sztuczną uzyskaliśmy podając  $6\text{ gr}$  chlorku amonowego wieczór jednego dnia,  $18\text{ gr}$  w 3 dawkach drugiego dnia, a  $12\text{ gr}$  dnia trzeciego rano przed doświadczeniem. Kwasota moczu w południe dnia drugiego wynosiła 16, rano dnia trzeciego 47, a mocz pobrany wprost z pęcherza po ukończeniu doświadczenia posiadał kwasotę 83. Psu temu Nr. 13. ♂,  $18\text{ kg}$  wagi, podaliśmy również do jelita cienkiego  $150\text{ cm}^3$  siarkowodoru. Oddechy pogłębione wystąpiły w formie niezbyt intensywnej później, bo dopiero po 1 minucie 20 sekundach; działanie zaś porażające mięsień sercowy dopiero po 3 minutach, a założone po 5 minutach sztuczne oddechanie przyprowadziło oddech w 2 minuty do równowagi. Ciśnienie krwi ze  $180\text{ mm Hg}$  nie spadło nigdy poniżej  $140\text{ mm Hg}$ .

Różnice we wpływie siarkowodoru przy kwasicy wykazuje krzywa Nr. 13.

Wynika z tego, że w alkalozie, gdzie czułość ośrodka oddechowego jest obniżona, przy bodźcu szybko porażającym, jakim jest nieątpliwie siarkowodór, śmierć występuje prędko; podczas gdy przy acidozie, ze sprawniejszym ośrodkiem oddechowym, zwierzę łatwiej się ratuje.



Rys. 14. Krzywa Nr. 12.



## b) Morfina a siarkowodór.

Chcąc porównać prawność ośrodka oddechowego w alkalozie i w narkozie, podaliśmy psu Nr. 17. ♂,  $11\frac{1}{2}$  kg wagi, 0.08 gr morfiny podskórnie. W głębokim śnie było 8 płytkich oddechów na 1 minutę; po podaniu  $100\text{ cm}^3$  siarkowodoru do

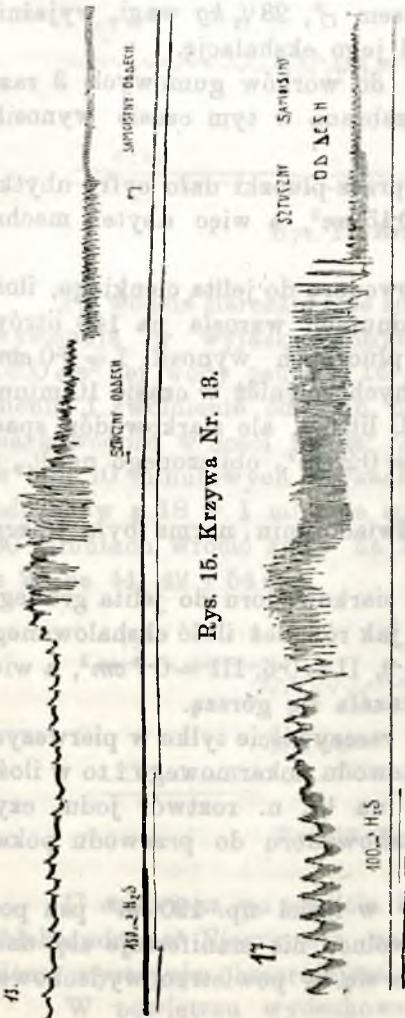
jelita cienkiego natychmiastowo zaobserwowano działanie na ośrodki naczynioruchowe, działanie cechujące się podniesieniem ciśnienia krwi. W ciągu 1 minuty wystąpiło działanie porażające ośrodki oddechowe i bezdech; a w 1 minutę 30 sekund działanie porażające mięsień sercowy, oraz spadek ciśnienia. Śmierć wystąpiłaby zaraz, gdyby nie założenie sztucznego oddechania. Sztuczne oddechanie trwało przeszło godzinę, zanim wystąpiły samoistne oddechy. Ciśnienie krwi w ciągu doświadczenia wyraźnie opadło.

5.

Ilość wydechanego siarkowodoru po resorbcji z jelit.

Siarkowodór z żołądka i jelit cienkich wchłania się łatwo i bardzo szybko, tak że po

kilku sekundach zjawia się już w powietrzu wydechowem. Z jelita grubego wsysa się trudniej i w mniejszej ilości.



Rys. 15. Krzywa Nr. 18.

Rys. 16. Krzywa Nr. 17.

Wogóle wchłanianie siarkowodoru z przewodu pokarmowego jest indywidualnie różne.

Podkreślić należy, że do ekshalacji siarkowodoru potrzeba minimum ciśnienia krwi, — które wynosi około 40 do 60 *mm Hg*. Przy niższym ciśnieniu siarkowodór nie zjawia się już w powietrzu wydechowem, o ile ciśnienie się nie podniesie.

Doświadczenie Nr. 11. z psem ♂, 23<sup>1</sup>/<sub>2</sub> *kg* wagi, wyjaśnia resorbcję siarkowodoru z jelit i jego ekshalację.

Pobrano normy powietrza do worków gumowych 3 razy po 10 minut. Ilość powietrza zebrana w tym czasie wynosiła po 40 do 50 litrów.

Powietrze przypuszczone przez płuczki dało cyfry ubytku jodu, I = 0·1, II = 0·25, III = 0·15 *cm*<sup>3</sup>, a więc ubytek mechaniczny w granicach błędu.

Po podaniu 150 *cm*<sup>3</sup> siarkowodoru do jelita cienkiego, ilość powietrza w pierwszych 10 minutach wzrosła na 140 litrów, a siarkowodór wyłapany w płuczkach wynosił 1 = 9·0 *cm*<sup>3</sup>. W dalszych workach wypełnionych również w czasie 10 minut, ilość powietrza wynosiła po 90 litrów, ale siarkowodór spadł w oznaczeniu 2 = 0·35, a w 3 = 0·2 *cm*<sup>3</sup>, obliczonego na <sup>1</sup>/<sub>10</sub> n. roztwór jodu.

W 3 godziny po tem doświadczeniu norma była jeszcze wysoka i wynosiła 0·9 *cm*<sup>3</sup>.

Podawszy znowu 150 *cm*<sup>3</sup> siarkowodoru do jelita grubego, ilość powietrza była mniejsza, jak również ilość ekshalowanego siarkowodoru wynosiła w I = 1·9, II = 0·6, III = 0·7 *cm*<sup>3</sup>, a więc i resorbcja z jelita grubego okazała się gorszą.

Siarkowodór ekshaluje się rzeczywiście tylko w pierwszych minutach po podaniu go do przewodu pokarmowego i to w ilości od 2·5 do 11 *cm*<sup>3</sup> obliczonych na <sup>1</sup>/<sub>10</sub> n. roztwór jodu, czyli w ilości 4—15% podanego siarkowodoru do przewodu pokarmowego.

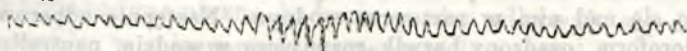
Siarkowodór wstrzyknięty w ilości np. 120 *cm*<sup>3</sup> psu podskórnie, wchłania się bardzo wolno, nie manifestuje się działaniem na oddech, ale znajduje się w powietrzu wydechowem w dość znacznej ilości.

Zmieszanie siarkowodoru tak z powietrzem, jak i z bezwodnikiem węglowym, nie wpływa wyraźnie na szybkość wchłaniania i ilość ekshalowanego siarkowodoru.



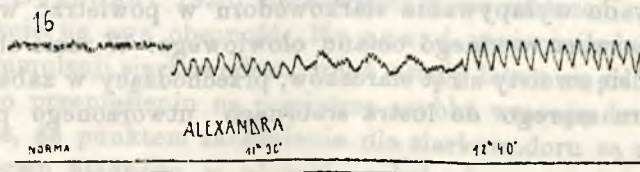
Małe dawki siarkowodoru wynoszące do  $10\text{ cm}^3$  ujawniają się słabo w powietrzu wydechowem i nie zaznaczają się na krzywej ciśnienia i oddechu dość wyraźnie. Dawki około  $15\text{ cm}^3$  siarkowodoru dają już wyraźne objawy ze strony oddechu (krzywa Nr. 19), a siarkowodór zjawia się w powietrzu wydechowem do  $1\text{ cm}^3\ \frac{1}{10}$  n. roztworu jodu, z oznaczenia 10 minutowego.

19.



Rys. 17. Krzywa Nr. 19.

Po wodzie siarczanej ze źródła Aleksandry w Niemirowie, występują w wyjaskrawionym eksperymencie po podaniu  $1400\text{ cm}^3$  tej wody psu Nr. 16. ♂,  $14\text{ kg}$  wagi, wyraźne pogłębienie i zwolnienie oddechu na krzywej, oraz pojawienie się siarkowodoru w ilości  $1.5\text{ cm}^3\ \frac{1}{10}$  n. roztworu jodu, obliczonego w obu 10 minutowych workach powietrza oddechowego. Ilość oddechów z 18 w 1 minucie spada na 12, potem na 5, aby po 30 minutach wrócić znów na 12. Głębokość natomiast rośnie z 20 na 44, 42 i  $54\text{ mm}$ .



Rys. 18. Krzywa Nr. 16.

U człowieka po wypiciu  $300\text{ gr}$  wody siarczanej ze źródła Aleksandry w Niemirowie, zawierającej duże ilości siarkowodoru, występuje obszerniejsza wentylacja płuc.

W powietrzu wydechowem zjawiają się ślady wolnego gazowego siarkowodoru.

Jako sprawdzianu chemicznego nżywano reakcyj chemicznych na siarkowodór.

Barwna reakcja Pittarelli'ego (1924) na siarkowodór nie jest reakcją specyficzną. Przygotowuje się ją w ten sposób, że do silnie rozcieńczonego i zakwaszonego kwasem solnym roztworu tiosiarczanu sodowego, wrzuca się kilka kryształków paramidofenolu; poczem dodaje się kroplami 10% roztworu chlorku żelazowego. W momencie kiedy wystąpi ciemno-pomarańczowe zabarwienie i zanim przejdzie ono w barwę fioletową, zalewa się roztwór chloroformem i barwik ten ekstrahuje, poczem w rozdzielaczu oddziela rozpuszczony w chloroformie barwik pomarańczowy od barwika fioletowego, unoszącego się nad nim w roztworze wodnym. Następnie odparowuje się chloroform, osadzony barwik rozpuszcza w wodzie, neutralizuje się 1 kroplą  $\frac{1}{10}$  n. roztworu sody. Barwa różowo-pomarańczowa przechodzi wtedy w zielono-niebieską. Przepuszczając siarkowodór przez roztwór tego wskaźnika, barwa zmienia się z powrotem na różowo-pomarańczową. Reakcja ta ma być wrażliwa na siarkowodór jeszcze w rozcieńczeniu 1:400.000.

Reakcja ta nie jest jednak specyficzną, gdyż powstaje przy każdym słabszym kwasie, a więc i kwasie węglowym i wystarczy 2 krople wody sodowej, albo jeden wydech by zmienić reakcję barwną w płucce lub zlewce podobnie, jak to robi siarkowodór.

Zmiana barwy niebieskiej na pomarańczową w reakcji Pittarelli'ego zależy od lekkiego zakwaszenia roztworu i jest proporcjonalna do zmiany stężenia jonów wodorowych. Reakcja ta jest bardzo czułą reakcją barwną.

Dalej jako reakcji chemicznej na większe ilości  $H_2S$  używaliśmy do wyłapywania siarkowodoru w powietrzu wydechem roztworu wodnego octanu ołowiowego. W razie obecności tworzył się swoisty strąk siarczków, przechodzący w zabarwieniu od koloru szarego do lustra srebrnego, utworzonego na szkle płuczki.

Podobnie tworzyły się brunatne strąty z azotanem bismutu, srebra, siarczanem srebra, żółto-pomarańczowe z winianem antymonu, żółto-zielonawe z tlenkiem antymonu i t. d.

Te ostatnie reakcje jednak nie są dość czułe na drobne ślady siarkowodoru.

## 6.

### Z literatury o siarkowodorze.

W sprawie wchłaniania siarkowodoru z jelit panują do dziś sprzeczne zapatrywania. Kato (1910) zaprzecza możli-



wości resorbcji siarkowodoru z jelit, ostatnio jednak H y m a n s v. d. Bergh i Engelke (1930) spotykali siarkowodorową hemoglobinę, która może pochodzić tylko z siarkowodoru wessanego z jelit.

Normalnie siarkowodór występuje w jelitach w ilości nieoznaczonej jako produkt gnicia. Sztucznie bywa doprowadzany tylko przy picciu wód siarczanych.

Farmakodynamiczne badanie gazów odbywało się dotychczas zwykle w mieszaninie procentowej z powietrzem drogą wdechania. Z działania na płuca oceniano działanie toksyczne. Tego rodzaju sposób postępowania wykluczał szereg możliwości. Ocena farmakodynamiczna środków gazowych przez podanie do światła jelit, staje się pełniejszą, gdy po resorbcji drogą krwionośną, — występuje ich działanie na odległość.

Howard Haggard w latach 1921—1925 pracując nad siarkowodorem stwierdził, że sulfhemoglobinemia powstaje właściwie dopiero po śmierci, lub za życia po dawkach wielokrotnie śmiertelnych. Dowodzi to, że hemoglobina normalnie nie jest ciałem przenoszącym zresorbowany siarkowodór. Osocze krwi po krótkim przewietrzeniu łatwo uwalnia się z siarkowodoru, rozpuszczonego w niem fizykalnie i daje negatywne reakcje chemiczne na siarkowodór. Natomiast z zasadami krwi, a więc z dwuwęglanami (Diakonoff i Pohl, Desgrez, Biery i Lescoeur 1925) siarkowodór mimo wietrzenia długo daje reakcję na swą obecność. Haggard stwierdził datej, że nie ma kumulacji siarkowodoru, gdyż ustrój łatwo się odtruwa; zatruci po przeniesieniu na powietrze szybko wracają do siebie. Sądził też, że punktem zaczepienia dla siarkowodoru są zakończenia nerwu błędnego w płucach, gdyż równocześnie z bezdechem następuje i zwolnienie tętna przy oddechaniu powietrzem zawierającym 0·08 do 0·2% siarkowodoru. Powyżej tego stężenia siarkowodór powoduje śmierć przez porażenie oddechu. Jako dowód, że siarkowodór jednak działa na zakończenia parasympatyczne, przecinał Haggard oba nerwy błędne. Małe dawki siarkowodoru zwiększały przed przecięciem nerwów pojemność oddechową, po przecięciu ilość powietrza wydechanego nie zmieniła się. Miało to być argumentem działania na zakończenia nerwu błędnego. Według niego siarkowodór zresorbo-

wany ma być w ustroju szybko utleniany, a produkty oksydacji stają się nie trujące.

Messini (1929) wstrzykiwał wśródźylnie siarkę i spotykał zjawianie się siarkowodoru zwłaszcza w przestrzeniach stawowych. Piéry, Bonnamour, Milhaud i Guignonet (1924) wstrzykiwali też do żyły usznej królika wodę siarczaną z Challes, po którym to wstrzyknięciu występowało natychmiastowe, ale krótkotrwałe wydzielanie się siarkowodoru przez płuca. W razie bezdechu siarkowódór nie wydzieliał się, gdy oddechy wracały zjawiał się i siarkowódór. Gasperino (1927), wstrzykiwał dożylnie podobnie wodę siarczaną z Castellamare dei Stabia i stwierdził również bardzo nieznaczne wydzielanie się siarkowodoru przez płuca. Wercilow, Frejdin i Szugan (1929) wbijali srebrne płytki królikowi w ciało, kąpali w wodzie siarczanej Macesta i obserwowali resorbcję siarkowodoru przez skórę. Uszyński (1927) stwierdzał pletyzmograficznie i elastometrycznie rozszerzenie się naczyń krwionośnych po kąpielach w wodach siarczanych.

Riesser i Simonson biorąc sami tygodniami po 0.4—5.0 mgr siarki dziennie stwierdzili wzmagającą się wentylację płuc i nierówny oddech, oznakę zatrucia ośrodka oddechowego.

Teschendorf (1922) przekonał się, że siarkowódór nawet zmieszany z powietrzem w stosunku 1:30 poraża jelita izolowane, nawet przy użyciu roztworu Tyroda i zmieszaniu go z siarkowodorem w nieznacznej ilości; a Tsumuraki (1927) przepuszczając z płynem odżywczym siarkowódór przez izolowane narządy królika, również po krótkiej przejściwej reakcji, otrzymywał zaraz porażenie tak jelita, jak i macicy i pęcherza. Natomiast Dadlez i Koskowski widzieli przy małych stężeniach wód siarczanych, zawierających siarkowódór, wpływ pobudzający skurcze jelita cienkiego i grubego, a hamujący skurcze macicy. Dalej Stern i Lokchina (1927) po zatruciu królika siarkowodorem, widzieli zwiększoną przepuszczalność *plexus chorioideus* dla koloidów, a niezmienną dla krystaloidów. W końcu Becher (1927) udowodnił, że cieczy ustrojowe *in vitro* niszczą siarkowódór przez oksydację i że tę siłę posiadają koloidy, a więc jego znikanie we krwi nie tylko polega na tworzeniu się sulfhemoglobiny.



Obecność siarkowodoru w jelitach (Ishikawa 1928) zwiększa również przepuszczalność jelit na obce białka, pepton i surowicę konia i wołu, powodując zjawienie się reakcji białkowej w moczu, czyli otwarcie filtra jelitowego dla białka.

Nadto wody siarczane zwiększają zdolność wydalania kwasu moczowego z ustroju (Dadlez i Koskowski 1929).

---

Reasumując, widzimy, że siarkowodór poraża najpierw ośrodek oddechowy, a następnie sam mięsień sercowy.

Zatrute zwierzę wraca do życia tylko przez ekshalację samoistną lub sztuczną nadmiaru siarkowodoru, rozpuszczonego we krwi.

Przy duszeniu się po siarkowodorze, wyzwała się adrenalina z nadnerczy.

Siarkowodór działa słabo podrażniająco na ośrodki naczynioruchowe tylko w pierwszej minucie po podaniu.

Siarkowodór niema wpływu ani na ośrodek nerwów błędnych, ani na jego zakończenia w płucach, jeśli siarkowodór został podany przez przewód pokarmowy i stąd zresorbował się do krwiobiegu.

Tylko 5–15% siarkowodoru podanego w nadmiarze do przewodu pokarmowego ekshaluje się drogą płuc.

Siarkowodór w ilościach, które nie porażają oddechu, powiększa wyraźnie wentylację płuc.

---

## PIŚMIENNICTWO.

1. Issaku Ishikawa: Experimentelle Studien über die Permeabilität des Darmkanals für heterologes Eiweiss. Japanese Journal of Medical Sciences IV. Pharmakology Volumen II. Tokyo 1928. Handbuch der normalen und pathologischen Physiologie, *Resorption und Exkretion*. Berlin 1929.
2. Hymans v. d. Bergh und Engelke. Klinische Wochenschrift 1930.
3. Erwin Becher. Münchener medizinische Wochenschrift 1927.
4. Piesser und Simonson 1925. Archiv für exp. Path. und Pharmakologie 111 B.

5. Teschendorf. Über die Wirkung von Gasen auf den isolierten Dünndarm des Kaninchens. 1922. Archiv f. exp. Path. und Pharmakologie.

6. Stern et Lokchina Soc. de Biologie 1927. 97 T.

7. Dadlez i Koskowski. O wpływie wody siarkowej na wydalanie kwasu moczowego z ustroju. Pol. Gaz. Lek. Nr. 33 i 34. 1929.

8. Heffter-Pohl. Schwefelwasserstoff. III T. 433 str. Springer 1927.

---

## Pharmacodynamie de l'hydrogène sulfuré

Sur la resorption de l'hydrogène sulfuré dans le tractus digestif

par

F. Kmietowicz jun.

L'hydrogène sulfuré, en grande quantité, paralyse les centres respiratoires et le muscle cardiaque. L'animal intoxiqué par les fortes doses de l'hydrogène sulfuré revient à l'état normal par l'exhalation spontanée ou par l'application de la respiration artificielle.

La phase d'asphyxie dans l'intoxication par l'hydrogène sulfuré est accompagnée de l'hyperadrénalinémie.

Dans la première minute le gaz introduit dans le tractus digestif excite les centres vasomoteurs. Il n'agit pas ni sur les centres du nerf vague ni sur ces terminaisons dans les poumons.

L'hydrogène sulfuré introduit dans le tractus digestif s'exhale par les poumons en quantité de 5 à 15 p. 100. Les petites quantités de gaz augmentent la ventilation pulmonaire.



WŁODZIMIERZ KOSKOWSKI

Z badań nad rolą fizjologiczną histaminy w ustroju  
i zjawisk z nią związanych

Kiedy zaczęto zajmować się sprawą t. zw. wstrząsów wyłoniło się znaczenie histaminy jako czynnej substancji działającej na ciśnienie krwi. Sądzono, że ona właśnie jest przyczyną charakterystycznych zjawisk, które składają się na typowy obraz wstrząsu. Badania jednak wykazały, że istota odczynów wstrząsowych nie zawsze łączy się z obecnością histaminy a nawet, że spadek ciśnienia krwi tak charakterystyczny dla działania histaminy, nie jest zjawiskiem istotnem wstrząsu. Od szeregu lat zatem histamina zaczyna być przedmiotem zainteresowania fizjologów. Znaczenie jej stale rośnie a przyczyniły się do tego w znacznej mierze badania Popielskiego, który poszukiwał odczynów biologicznych różniących histaminę od opisywanej przez niego wasodilatyny. Efektem poszukiwań Popielskiego było stwierdzenie ważnej właściwości a mianowicie wpływu histaminy na wydzielenie soku żołądkowego po podskórnem wprowadzeniu. Ciało to daje silny odczyn w postaci obfitego wydzielania soku żołądkowego a działanie to jest wynikiem bezpośredniego wpływu na komórki wydzielnicze żołądka. Dalsze badania uczniów Popielskiego stwierdziły tę właściwość dla szeregu gatunków zwierząt oraz dla innych gruczołów trawiennych.

W roku 1922 po raz pierwszy zastosowano histaminę dla badania sprawności wydzielniczej żołądka u człowieka (Carnot, Koskowski i Libert), czego wynikiem było

wprowadzenie t. zw. próby histaminowej i rozpowszechnienie jej w klinice jako środka dajagnostycznego a częściowo i leczniczego w cierpieniach żołądka.

W badaniach nad właściwościami resorbcyjnymi histaminy powstającej w warunkach prawidłowych w przewodzie pokarmowym, mieliśmy możność stwierdzić, że histamina wchłania się bardzo dobrze, że zatem jej rola jako substancji tam powstającej nie może ograniczać się jedynie do miejsca powstawania. I rzeczywiście jeśli obserwować wydzielanie soku żołądkowego pod wpływem histaminy wprowadzonej do przetoki кишки grubej, to można się przekonać, że wydzielanie soku trwa tak długo, jak długo histamina, po wchłonięciu, znajduje się we krwi. Stężenie jej we krwi określane wpływem na macicę dziewiczej świnki morskiej wynosi w takich wypadkach około 1:10,000.000. Niewątpliwie zatem histamina musi odgrywać pewną rolę w działaniu bodźców fizjologicznych dla wydzielania soku żołądkowego a być może i jelitowego w czasie trawienia, jako czynnik przechodzący do krwi i wywierający tą drogą wpływ na gruczoły trawienne. Bierze zatem udział w fazie jelitowej czy kiszkowej wydzielania soku żołądkowego.

#### **Właściwości dynamiczne krwi w czasie trawienia.**

W badaniach naszych nad właściwościami dynamicznymi krwi w czasie trawienia stwierdziliśmy, że krew zwierzęcia albo człowieka wzięta w kilka godzin po przyjęciu pokarmów nabierać zaczyna pewnych właściwości, które nazwaliśmy właściwościami dynamicznymi krwi w czasie trawienia. Miarą biologiczną tych właściwości jest wybitny wpływ skurczowy na macicę izolowaną dziewiczej świnki morskiej. Krew wzięta naczczo nie wykazuje tych własności. Ewakuacja przewodu pokarmowego naturalna lub przez użycie środków przeczyszczających powoduje znikanie właściwości dynamicznych krwi w ciągu względnie krótkiego okresu czasu. Środki działające ściągająco na błonę śluzową jelita i utrudniające wskutek tego wchłanianie nie dopuszczają do powstania właściwości dynamicznych krwi. Również zastosowanie środków silnie adsorbujących jak aktywny węgiel drzewny lub kaolin przeszkadza w wystąpieniu właściwości dynamicznych krwi nawet po



przyjęciu olbrzymich ilości pokarmów białkowych (n. p. 1 kg mięsa przez psa kilkunastokilogramowego).

Substancje dostające się do krwi w czasie trawienia i działające na macię izolowaną dziewiczej świnki morskiej nie zatrzymują się w ciekłych składnikach krwi lecz dążą do czerwonych ciałek krwi i tam się magazynują. Wydobywają się stamtąd najprawdopodobniej głównie przez rozpad czerwonych ciałek krwi. Transport zatem ciał powstających w czasie trawienia odbywa się w znacznej przynajmniej mierze, w czerwonych ciałkach krwi. Wśród ciał chemicznych, które w mechanizmie dynamiki krwi w czasie trawienia wchodzi w grę, histamina wysuwa się na czoło jako substancja niezwykle czynna i w małych już działających ilościach.

### **Właściwości dynamiczne krwi jako kryterjum sprawności trawienia.**

Właściwości dynamiczne krwi, przedstawiać mogą sprawdzian biologiczny warunków trawienia względnie warunków wchłaniania pokarmów, przede wszystkim białkowych w ustroju. Siłą faktów nasuwało się zagadnienie stworzenia pewnego sprawdzianu dla oceny zdolności trawiennych i resorpcyjnych w stanach patologicznych ustroju. Wspólnie z Kubikowskim rozpoczęliśmy doświadczenia mające na celu przede wszystkim wyjaśnienie, jak się zachowują właściwości dynamiczne krwi w czasie trawienia w okresie gorączki eksperymentalnej. Ocena zdolności trawiennych w gorączce jest trudna. Ograniczano się dawniej do badania własności soku żołądkowego w różnych chorobach gorączkowych, przyczem stwierdzano obniżenie zdolności trawiennych soku, co niektórzy badacze przypisywali równoległemu obniżaniu się kwasoty i ilości pepsyny, inni zaś odnosili to do zmniejszenia się jedynie ilości kwasu solnego i w następstwie zmniejszenia siły proteolitycznej zależnej od zmiany środowiska. Wyniki badań tego rodzaju niekiedy nawet sprzecznych, nie dają oczywiście podstawy do oceny stanu czynnościowego przewodu pokarmowego według sprawdzianu, który mógłby być stały. Badanie właściwości dynamicznych krwi rozpoczęliśmy przeto na psach, u których wywołano sztuczną gorączkę i które karmiono po-

karmami białkowymi. Gorączkę otrzymywaliśmy przez wprowadzanie zwierząt do pomieszczenia ogrzanego do 37—40° C lub przez wstrzykiwanie substancyj mających własność podwyższania ciepłoty ciała jak n. p.  $\beta$ -tetrahydraftylamina. Po zbadaniu właściwości dynamicznych krwi w gorączce — naczcho, podawaliśmy mleko lub mięso końskie w ilości 500,0 do 1 kg i w ustalonych odstępach czasu badaliśmy działanie krwi odwłóknionej na macicę świnki morskiej. Okazało się z tych doświadczeń, że podwyższenie ciepłoty ciała u zwierząt badanych powodowało znaczne opóźnienie i nieregularność w zjawianiu się właściwości dynamicznych krwi po przyjęciu pokarmów białkowych. I jeżeli podanie mleka u zwierząt normalnych powodowało zjawianie się reakcji już po 1 godzinie, tutaj niekiedy przy ciepłocie psa mierzonej w odbyticy a wynoszącej 40° C, odczyn zjawiał się dopiero po 5 godzinach. Podanie mięsa u zwierząt normalnych powoduje odczyn dynamiczny krwi po 2 do 3 godzinach. W czasie podwyższonej ciepłoty początek zjawiania się odczynu przesuwają się znacznie n. p. do ośmiu i więcej godzin. Odczyn jest nieregularny i utrzymuje się w słabszym nasileniu przez kilkadziesiąt godzin, ponieważ trawienie białka postępuje powoli. U jednego z badanych psów trzymany w ciepłocie około 40° C przez 13 godzin znaleziono jeszcze po 30 godzinach od chwili spożycia 1 kg mięsa w żołądku, opróżnionym przez wymioty, 245 gr mięsa w kawałkach niestrawionych o przenikliwej woni gnilnej, z odczynem na lakmus i Kongo ujemnym. Z doświadczeń tych wynika, że gorączka eksperymentalna powoduje znaczne upośledzenie trawienia pokarmów białkowych, co przejawia się również i w opóźnieniu zjawiania się we krwi właściwości dynamicznych związanych z trawieniem.

### Histamina i czerwone ciała krwi.

Histamina ulega łatwo absorpcji przez czerwone ciała krwi i to w ustroju i *in vitro*. Krwinki dobrze przemyte i pozostawione przez 15 do 30 minut w cieplarni lub przez kilka godzin w lodowni, chłoną histaminę w bardzo znacznym stopniu. Przekonać się o tem można przez zastosowanie metod biologicznych, które pozwalają wykryć obecność histaminy w danem środowisku. Jeżeli zatem czerwone ciała krwi im-



pregnowane przedtem histaminą zhemolizować, po poprzednim dokładnem przemyciu, a następnie badać wpływ hemolizatu na ciśnienie krwi lub macicę izolowaną dziewiczej świnki morskiej, to można się przekonać, że hemolizaty impregnowanych czerwonych ciałek dają obniżenie ciśnienia lub też skurcz tętnowy macicy. Ciałka krwi zwierząt kontrolnych, głodzonych, nie dają takich efektów.

W ustroju może histamina wchodzić również do czerwonych ciałek krwi, znikając szybko z ciekłych jej składników. Po wstrzyknięciu podskórnem lub wprowadzeniu do przetoki stałej jelita cienkiego lub kiszki grubej, można znaleźć histaminę we krwi. Czynna jest tam w rozcieńczeniu około 1:10,000,000. Po podaniu pokarmów białkowych zjawiające się t. zw. własności dynamiczne krwi zależą w znacznej mierze, acz nie jedynie, od histaminy.

Poszukiwanie histaminy w czerwonych ciałkach krwi poza metodą narządów izolowanych (wpływ na macicę) lub poza badaniem wpływu hemolizatów na ciśnienie krwi, może odbywać się i inną drogą. Zastosowaliśmy tutaj wspólnie z Gedroyciem metodę opierającą się na właściwościach i różnicach grupowych czerwonych ciałek krwi różnych gatunków zwierząt. Gdy wstrzykiwać dożylnie czerwone ciałka krwi *in toto* temu samemu zwierzęciu lub należącemu do tej samej grupy, to czerwone ciałka krwi zasadniczo nie ulegają rozpadowi. Jeżeli natomiast czerwone ciałka krwi innej grupy lub innego gatunku zwierząt wstrzyknąć w całości dożylnie, to wówczas ulegną one w środowisku ciekłym obcej krwi hemolizie i wyzwolą znajdujące się w nich ciała czynne. Czerwone ciałka krwi psa zatem impregnowane histaminą wprowadziliśmy temu samemu zwierzęciu, nie otrzymując wpływu na ciśnienie krwi. Wstrzyknięte do żyły krwinki impregnowane przedtem histaminą 1:1.000 przez jedną godzinę w ciepłarce, dały zaledwie minimalny wpływ obniżający na ciśnienie krwi u tego samego psa. Te same ciałka jednak przed wstrzyknięciem poddane hemolizie dawały po wprowadzeniu dożylnem bardzo znaczny spadek ciśnienia, bo n. p. z 186 *mm Hg* na 14 *mm Hg*.

Efekt wyzwalań się histaminy z czerwonych ciałek krwi można uzyskać w formie znacznie wyraźniejszej, jeżeli wstrzy-

kiwać impregnowane uprzednio krwinki *in toto* zwierzęciu innego gatunku, względnie innej grupy krwi.

Jeżeli zatem impregnować histaminą czerwone ciała krwi królika a następnie wstrzyknąć je *in toto* psu, to można zauważyć natychmiast znaczny spadek ciśnienia powstający wskutek działania wyzwalającej się przy rozpadzie histaminy. W doświadczeniach naszych otrzymywaliśmy po wstrzyknięciu n. p. 4 *ccm* czerwonych ciałek krwi królika, impregnowanych histaminą w rozcieńczeniu 1:1.000 przez jedną godzinę, spadek ciśnienia krwi n. p. ze 192 *mm Hg* na 14 *mm Hg*.

Czy w warunkach prawidłowych ustroju fakty te mogą mieć jakiegokolwiek znaczenie praktyczne? Czy histamina powstająca w przewodzie pokarmowym w prawidłowych warunkach trawienia i dostająca się łatwo przez wchłanianie do krwi przechodzi jedynie biernie swój etap w wędrówce do śródowisk, w których ulega dalszym przemianom lub zamagazynowaniu, czy też dzięki swym wybitnym własnościom farmakodynamicznym spełnia przytem pewną rolę fizjologiczną. Wspominaliśmy już wyżej o możliwości odgrywania przez histaminę roli jako bodźca gruczołów trawiennych w czasie późniejszych faz trawienia. Obecność histaminy we krwi wpływa niewątpliwie na pobudzenie sekrecji gruczołów żołądkowych a być może i jelitowych. Poza tem jednak istnieje wpływ regulujący na ciśnienie krwi, i to w ścisłym związku z działaniem adrenaliny. Losy histaminy i losy adrenaliny w ustroju wiążą się ze sobą ze względu na ich stały antagonistyczny wpływ. Nadmiar jednej substancji powoduje natychmiast przeciwwagę drugiej we wzajemnem przeciwdziałaniu na naczynia krwionośne i najprawdopodobniej wzajemnem wyzwaniu.

### Losy adrenaliny w ustroju.

Kwestja losów adrenaliny w ustroju przedstawia zagadnienie, które oddawna interesuje fizjologów. Wiadomo, że wstrzyknięcie dożylnie adrenaliny w roztworach 1:1.000 lub bardziej rozcieńczonych powoduje podwyższenie ciśnienia krwi, które trwa przez kilka minut a następnie ciśnienie wraca do stanu normalnego. Fakt stosunkowo szybkiego spadku ciśnienia do normy, po okresie podwyższenia, był powodem pow-



stania szeregu przypuszczeń co do losów adrenaliny w momencie, kiedy ciśnienie wraca do stanu poprzedniego i kiedy kończy się jej wpływ na naczynia krwionośne. Różne wypowiedziano przypuszczenia. Trendelenburg jeszcze w r. 1910 wyraził pogląd, że równocześnie ze spadkiem ciśnienia krwi adrenalina ulega zniszczeniu i z chwilą powrotu ciśnienia do normy, całkowicie znika z krwiobiegu. Miejscem, gdzie adrenalina ulega zniszczeniu, mają być w pierwszym rzędzie naczynia włoskowate, albowiem tutaj ruch cieczy jest najpowolniejszy. T a t u m wyraził pogląd, że w tętnicach znajduje się swoisty ferment niszczący adrenalinę, inni sądzili natomiast, że ulega ona chemicznemu rozkładowi w naczyniach włoskowatych.

Podnoszony przez wielu badaczy pogląd o utlenianiu adrenaliny nie znalazł oparcia w faktach. Coraz więcej przytaczano dowodów na to, że jednak adrenalina nie ulega utlenianiu w ustroju. Przekonano się, że konserwuje się dobrze w obecności krwi całej, że wstrzyknięta pod skórę ramienia, na którym założono opaskę, nie ulega zniszczeniu, lecz po zdjęciu opaski, po upływie 20 minut, wywołuje zupełnie podobny wpływ na ciśnienie krwi, jak w doświadczeniu kontrolnym, bez opaski. Wstrzykiwanie jodu, azotynu sodowego, wody utlenionej nie zmniejsza działania adrenaliny na ciśnienie. Zatrucie zwierząt tlenkiem węgla nie daje znów przedłużenia działania, czego należało się spodziewać, gdyby istotnie proces utleniania był przyczyną znikania adrenaliny. Zatem nie utlenianie również jest powodem znikania adrenaliny ze krwi.

### Adrenalina i czerwone ciała krwi.

Nasuwało się więc odrazu przypuszczenie, że analogicznie z wchłanianiem histaminy przez czerwone ciała krwi istnieje również ten sam proces wobec adrenaliny. Na poparcie tego przypuszczenia otrzymaliśmy z Gedroyciem dowody eksperymentalne podobne jak w badaniach zjawisk absorbcyjnych wobec histaminy. W doświadczeniach używaliśmy rozcieńczeń adrenaliny 1:25.000 do 1:100.000 roztwory bowiem silniejsze (1:2 000) dają hemolizę.

Czerwone ciała krwi impregnowane przez 15 do 30 minut adrenaliną w cieplarni lub przez kilka godzin w lodowni dają, po zhemolizowaniu i wstrzyknięciu dożylnym wybitne podwyższenie ciśnienia krwi n. p. z 140 mm Hg na 236 mm Hg, ze 132 mm Hg na 206 mm Hg, ze 172 mm Hg na 300 mm Hg. i t. p. Doświadczenia kontrolne, wykonywane każdorazowo, nie dawały żadnych skutków działania zhemolizowanych ciałek krwi na ciśnienie. Podobnie zresztą kontrolowany był zawsze płyn opłóczynowy na ciśnienie krwi i na oku izolowanym żaby.

Nie ograniczono się jednak do wstrzykiwania zhemolizowanych czerwonych ciałek krwi po poprzednim impregnowaniu ich adrenaliną lecz, analogicznie jak w doświadczeniach z histaminą, zastosowano wstrzykiwanie krwinek *in toto*. Ciała krwi były przedtem impregnowane adrenaliną. Okazuje się z tych doświadczeń, że wstrzykiwanie dożylnie psu homologicznych ciałek krwi impregnowanych nawet olbrzymimi ilościami adrenaliny nie powoduje charakterystycznego wzrostu ciśnienia krwi. Po wstrzyknięciu dożylnym następuje minimalne podwyższenie ciśnienia krwi, najwyżej o 10 mm Hg. Jeżeli natomiast czerwone ciała krwi, impregnowane w tej samej serji adrenaliną, wstrzyknąć dożylnie po ich uprzednim rozpuszczeniu, to następuje wybitne podwyższenie ciśnienia krwi n. p. ze 188 mm Hg na 280 mm Hg.

Wstrzykiwanie natomiast dożylnie psu czerwonych ciałek krwi królika, impregnowanych uprzednio adrenaliną, powoduje ich rozpad, wyzwolenie zaabsorbowanej przez nie adrenaliny i w następstwie silny wzrost ciśnienia krwi.

Rozpad czerwonych ciałek krwi królika we krwi psa powoduje wyzwolenie adrenaliny i jej wpływ na naczynia krwionośne. Ciśnienie krwi wzrasta n. p. ze 170 mm Hg na 262 mm Hg.

Pragnąc jednak zbliżyć bardziej warunki doświadczenia do zjawisk, które występują w stanach fizjologicznych w ustroju, wprowadzaliśmy roztwory adrenaliny 1:100.000 i to w taki sposób, by ciśnienie niezbyt silnie podwyższone utrzymywało się na jednym poziomie. Można to uzyskać, jeżeli adrenalinę wprowadzać do krwi w niesłychanie wolnym tempie, jak to



czynili Kretchmer, Straub i Ritzmann. W momencie ustalonego, a niezbyt silnie podwyższonego ciśnienia brano krew, odwirowywano czerwone ciała krwi, hemolizowano je i wprowadzano dożylnie celem stwierdzenia wpływu na ciśnienie krwi. Otrzymywano zawsze podwyższenie ciśnienia krwi n. p. ze 126 *mm Hg* na 160 *mm Hg* oraz rozszerzenie źrenicy oka izolowanego żaby, charakterystyczne dla działania adrenaliny.

Następnie zmodyfikowano doświadczenia w ten sposób, że po określeniu w stanie prawidłowym i naczczo od kilku dni u psa wpływ zhemolizowanych czerwonych ciałek krwi na ciśnienie i na źrenicę oka żaby, drażniono prądem indukcyjnym gałązki nerwu trzewnego, idące do nadnerczy, względnie stosowano masaż nadnerczy. Efekt drażnienia nerwu trzewnego oraz wpływ masażu był kontrolowany na ciśnieniu krwi. Czerwone ciała pobierane w tych warunkach hemolizowano i wstrzykiwano dożylnie, obserwując skutek działania na ciśnienie krwi oraz badano wpływ na źrenicę oka żaby. Z doświadczeń tych okazuje się, że czerwone ciała krwi w tych warunkach uzyskane, wstrzyknięte dożylnie po poprzednim zhemolizowaniu, powodują podwyższenie ciśnienia krwi n. p. ze 152 *mm Hg* na 168 *mm Hg* oraz wywołują rozszerzenie źrenicy oka żaby.

Chodziło również o oznaczenie zachowania się adrenaliny w okresie duszenia. Czubalski w r. 1913 udowodnił, że w czasie duszenia następuje podwyższenie ciśnienia krwi, które jest następstwem wyrzucania większych ilości adrenaliny z nadnerczy. Celem przekonania się, czy w okresie duszenia wyzwolana adrenalina przejdzie do czerwonych ciałek krwi, wykonaliśmy szereg doświadczeń na psach. Czerwone ciała pobierano w okresie bezpośrednim po powrocie ciśnienia krwi do stanu normalnego po fazie podwyższenia wywołanego duszeniem. Po zhemolizowaniu krwinek i po ich wstrzyknięciu dożylnym otrzymaliśmy zawsze wyraźnie podwyższenie ciśnienia krwi n. p. ze 158 *mm Hg* na 198 *mm Hg*. Ciśnienie krwi podwyższa się powoli i pozostaje przez pewien czas na tym samym poziomie, prawdopodobnie wskutek dalszego rozpadania się niezupełnie jeszcze przedtem zhemolizowanych ciałek.

### Transport niektórych ciał czynnych w ustroju.

Właściwości sorbcyjne czerwonych ciałek krwi i znaczenie fizjologiczne tego zjawiska próbowaliśmy ująć przedewszystkiem z punktu widzenia ważności tego procesu dla transportu ciał odżywczych, następnie hormonalnych i w końcu leczniczych. Sądzymy, że fakt absorpcji n. p. adrenaliny przez czerwone ciała krwi i możliwość jej wykazania tam właśnie wyjaśnia zawilą dotychczas sprawę losów adrenaliny w ustroju, przynajmniej jeżeli chodzi o jej znikanie względnie krążenie. Adrenalina nie ulega zatem łatwo utlenieniu już w kilku minutach po wstrzyknięciu, jak sądzono dawniej, nie niszczy jej również specjalny ferment, lecz znika z ciekłych składników krwi i usadawia się w krwinkach. Razem ze znikaniem w czerwonych ciałkach znika jej wpływ na naczynia krwionośne. I nic dziwnego, że proces ten odbywa się przedewszystkiem w naczyniach włoskowatych, gdzie ruch cieczy i postaciowych składników krwi jest bardzo zwolniony w porównaniu z innymi naczyniami.

Na podstawie dotychczasowych wyników można wypowiedzieć przypuszczenie, że rola czerwonych ciałek krwi nie ogranicza się jedynie w stanach fizjologicznych do przenoszenia tlenu, lecz dzięki specjalnym właściwościom fizykochemicznym rozszerza się i na inne dziedziny w prawidłowej czy patologicznej funkcji ustroju. Jeżeli czerwone ciała krwi mają niewątpliwą zdolność absorpcji ostatecznych produktów powstających przy rozpadzie białka i zatrzymywania, jeżeli nie wszystkich, to przynajmniej niektórych kwasów aminowych przez dłuższy okres czasu, to bezsprzecznie rola transportowa czerwonych ciałek krwi dla tych składników ustroju jest niewątpliwa. Jeżeli czerwone ciała krwi chłoną adrenalinę i inne ciała hormonalne, to sprawa transportu oraz regulacji działających ilości staje się również bardzo prawdopodobna. Niektóre leki w działaniu podobne do adrenaliny wchodzić mogą również do czerwonych ciałek krwi, a odnosi się to prawdopodobnie i do innych środków leczniczych. Rozmieszczenie zatem i regulacja chemicznych ciał czynnych dostających się z zewnątrz do ustroju, również winna być brana pod uwagę. Ciała działające na ciśnienie krwi nawet antagonistycznie i przez



to regulujące je znajdują swe pomieszczenie w czerwonych ciałkach krwi. Ciałka krwi chłoną bowiem równie dobrze histaminę, obniżając ciśnienie, jak i adrenalinę, podwyższając ją.

Badania francuskie wykazały niedawno (6), że czerwone ciała krwi absorbują też u konia toksynę błoniczą i tężcową. Jeżeli istotnie ten proces odbywa się również w ustroju ludzkim to czerwone ciała krwi *ipso facto* spełniają u człowieka rolę desintoksykacyjną, przynajmniej na pewien czas i w pewnym zakresie. Przemawia zatem zresztą i fakt wychwytywania przez czerwone ciała krwi nadmiaru substancyj czynnych dostających się do krwi. Nawet jeżeli to są ciała fizjologiczne, to nadmiar ich może mieć wpływ toksyczny i tutaj czerwone ciała krwi spełniają w pewnej mierze rolę regulującą. Na odwrót deficyt tych substancyj w ustroju może być częściowo pokrywany z zapasów dostarczanych przez czerwone ciała krwi. Czynniki regulacji ze względu na mechanizm działania olbrzymiej powierzchni chłonnej czerwonych ciałek krwi, bo wynoszącej u człowieka około  $3,382 m^2$ , a n. p. u konia  $22.500 m^2$ , musi w tym względzie odgrywać olbrzymią rolę.

Szczegółne trudności przedstawia jeszcze wytłumaczenie zagadnienia odnoszącego się do zjawiska znikania, względnie opuszczania ciałek czerwonych przez substancje odżywcze czy hormonalne, które się tam dostały. Nie mamy dowodów na to, by istniał ruch zwrotny i by ciała takie jak adrenalina czy histamina wychodziły z czerwonych ciałek krwi bez ich uprzedniego uszkodzenia. Dla praktycznych względów mechanizm ten nawet, gdyby istniał, nie przedstawia większego znaczenia wobec zjawiska stałego rozpadania się czerwonych ciałek krwi i wyzwiania tą drogą zawartych w nich czynnych substancyj. Czerwone ciała krwi, jak wiadomo rozpadają się przez fragmentację i progressywne rozpuszczanie się fragmentów. Bliższy mechanizm tego zjawiska nie jest dotychczas znany. Chodzi jednak o stwierdzenie, jakie ilości czerwonych ciałek krwi ulegają procesowi rozpadu w jednostce czasu i czy wyzwolone tą drogą substancje wywrzeć mogą wpływ na ustrój. Jeżeli obliczać długość życia czerwonych ciałek krwi człowieka, to można się przekonać, że żyją one

od 20 do 60 dni. Jeżeli przyjmiemy, że żyją 30 dni, to z rachunku wyniknie, że w  $1\text{ cm}^3$  krwi rozpada się 200.000 na 1 minutę, czyli w 5 litrach krwi około jednego miljarda, — 60,000,000.000 na godzinę, — a około 1,500,000,000.000 na dobę, co czyni około  $290\text{ cm}^3$  czerwonych ciałek krwi.

Przypuszczamy zatem, że rozpadanie się czerwonych ciałek krwi w ustroju jest zjawiskiem wyzwalamcem ciała czynne związane ze składnikami krwinek. Substancje wyzwolone przechodzą do ciekłych składników krwi i wywierają mogą odpowiednie efekty działania.

Jakie mogą być teraz efekty działania z chwilą wyzwalań adrenaliny i histaminy z czerwonych ciałek krwi. Adrenalina wywierać będzie oczywiście wpływ na ciśnienie krwi zależnie od jej ilości. Dostawanie się adrenaliny do krwi w ilościach niewielkich — nie zbyt małych jednak — a przez dłuższy okres czasu, powoduje podwyżkę ciśnienia krwi, która nie jest wielka, jednak trwa przez tak długi okres czasu, jak długo adrenalina dostaje się do krwi.

Histamina wyzwolona z czerwonych ciałek krwi wywierać może wpływ na naczynia krwionośne kompensując działanie adrenaliny. Jednakże wpływ histaminy na naczynia krwionośne może być zupełnie paradoksalny. W wielu wypadkach w eksperymencie na wymóżdżonym kocie wykazano, że wstrzyknięcie  $0,01\text{ mgr}$  histaminy powoduje najpierw obniżenie ciśnienia krwi a następnie długotrwałe podwyższenie ciśnienia. To wtórne podwyższenie ciśnienia może być działaniem głównym i dawać wzrost ciśnienia przekraczający znacznie ciśnienie pierwotne. (Hogben, Schlapp i Macdonald — 1924). Najlepsze rezultaty eksperymentalne uzyskać można wtedy, jeżeli zmniejszyć obszar naczyniowy przez usunięcie żołądka i jelit i wyłączenie wątroby z krążenia (Burn i Dale — 1926). Ten wzrost ciśnienia krwi po wprowadzonej dożylnie histaminie jest następstwem wydobywania się adrenaliny z nadnerczy. Świadczą o tem badania Burn'a i Dale'a, z których wynika, że usunięcie nadnerczy usuwa ten wpływ. Wstrzyknięcie histaminy zwierzętom z usuniętymi poprzednic nadnerczami powoduje jedynie spadek ciśnienia. Istnieją też dowody farmakologiczne świadczące o tem, iż właśnie adrenalina wchodzi tutaj w grę. Jeżeli zastosować



najpierw ergotaminę a następnie wprowadzić dożylnie histaminę to w tych warunkach nastąpi spadek ciśnienia krwi, utrzymujący się dość długo. Fakt ten jest następstwem działania rozszerzającego naczynia krwionośne przez adrenalinę u kotów, którym uprzednio wstrzyknięto ergotoksynę (Dale 1906 r.).

Istnieje zatem funkcjonalna zależność pomiędzy histaminą a adrenaliną. Nie jest nieprawdopodobne, w świetle nowszych badań, że adrenalina może wywierać wpływ analogiczny na wydzielanie histaminy i powodować wyzwalenie jej z płuc lub innych narządów, w których histamina znajduje się w znaczniejszej ilości. Odczyny funkcjonalne odbywać się mogą na terenie samej krwi, w której czerwone ciała przede wszystkim stanowią olbrzymi magazyn dla jednej i drugiej substancji.

Czy w stanach fizjologicznych mechanizmy te wchodzą w grę trudno jest rozstrzygnąć, znaczenie ich rośnie najprawdopodobniej w zjawiskach nadczynności i stanach patologicznych ustroju.

### Dynamika krwi a nadciśnienie tętnicze.

Januszkiewicz w wyczerpującej pracy o nadciśnieniu tętniczym ogłoszonej w Polskim Archiwum Medycyny Wewnętrznej (1929), mówi między innymi o poglądach o teorii nadnerczowego pochodzenia nadciśnienia, stwierdzając, że nie została ona dotychczas dowiedziona. Zmian żadnych w samych nadnerczach nie znaleziono. Metodą Laeven-Trendelenburga nie ujawniono we krwi tętniczej hipertonicznych ciał zwężających naczynia krwionośne (Hülse i Hess). Powstało zatem przypuszczenie — pisze Januszkiewicz — że nie nadmiar hormonu lecz jakieś ciało uczulające naczynia na ten hormon odgrywa tutaj rolę. Wskazywano na cholesterynę, jednak spotykane są wypadki hipertencji z prawidłową ilością cholesteryny we krwi, i z nadmiarem jej w stanach prawidłowych ciśnienia. Hülse i Strauss zwrócili uwagę na peptony we krwi, Becher na ciała aromatyczne pochodne fenolu. Inni znajdowali produkty przemiany białkowej a Billigheimer z kliniki Bergmanna zwrócił uwagę na pokarm mięsny, który uczula na adrenalinę w porównaniu z po-

karmem węglowodanowym (cyt. wedł. Januszkiewicza). Bienstock w obserwacjach na sobie (1929) zwraca uwagę na przewlekłą toksykozę białkową, jako przyczynę hipertencji. „Białko zwierzęce stanowi ewentualny, nieznany czynnik etjologiczny hipertencji“ — pisze ten autor, podkreślając fakt pokrywania się klinicznych objawów toksykozy z objawami hipertencji.

Z drugiej jednak strony są autorzy, którzy „nie wierzą w t. zw. uczulanie adrenliny przez ciała peptonowe“ (prof. Stuber 1931) i twierdzą, że adrenalina na pewno nie odgrywa żadnej roli w zjawisku hipertencji. Ta sprawa wydaje się natomiast innym nierozstrzygnięta (Handowsky 1931).

Przytoczyliśmy tutaj niektóre opinie i w związku z nimi przedstawimy fakty, które mogłyby mieć znaczenie w tłumaczeniu zjawisk hipertencji w zależności od przyjmowania pokarmów białkowych.

W badaniach nad zjawiskami właściwości dynamicznych krwi w czasie trawienia wykazaliśmy, że po spożyciu pokarmów białkowych zjawiają się we krwi własności charakteryzujące się wpływem krwi odwłóknionej na macicę izolowaną dziewiczej świnki morskiej. Macica ulega silnemu skurczowi tężcowemu pod wpływem krwi osobników lub zwierząt nakarmionych. Krew zwierząt lub ludzi wzięta naczemno własności tych nie posiada. Ciała, które wywołują tę biologiczną reakcję usadawiają się w czerwonych ciałkach krwi, w których mogą przebywać przez dłuższy okres czasu. Wśród substancji, które tutaj wchodzi w grę na plan pierwszy wysuwa się histamina ze względu na jej najbardziej zdecydowane własności farmakodynamiczne.

Przyjmowanie zatem zwierzęcych pokarmów białkowych (mięso, mleko) w znacznej ilości, powoduje wytworzenie się dużej ilości histaminy i krążenie jej we krwi, przedewszystkiem w jej elementach morfotycznych. Źródłem, w którym się ona wytwarza jest jelito, magazynem, z którego mogą być czerpane jej zapasy, są czerwone ciałka krwi. Im bardziej obfity pokarm, tem więcej histaminy nagromadzi się we krwi. I jeżeli teraz zestawimy te wyniki z doświadczeniami, z których dowiedziono, że powolne wstrzykiwanie histaminy daje podwyższenie się ciśnienia krwi wskutek wydzielania adrena-



liny, to możnaby w ten sposób tłumaczyć „uczulanie“ pokarmu mięsnego na adrenalinę.

W jaki sposób natomiast można ograniczyć dowóz histaminy do krwi i w następstwie zmniejszyć jej wpływ na nadnercza? Przedewszystkiem przez odpowiednią dietę ograniczającą zwierzęce pokarmy białkowe a następnie przez ułatwienie ewakuacji jelit. W czasie trawienia w jelicie a szczególnie w czasie gnicia w kiszce grubej powstają bowiem bardzo duże ilości histaminy, która łatwo wchłania się w przewodzie pokarmowym. Jeżeli badać krew u osób, które cierpią na zaparcie, to można się przekonać, że właściwości dynamiczne krwi u nich są duże i znikają po energicznych zabiegach ewakuacyjnych. W doświadczeniu na zwierzętach i na ludziach przeprowadzonych przez nas zdołaliśmy stwierdzić, że środki przeczyszczające lub naodwrot środki utrudniające wchłanianie w przewodzie pokarmowym, takie jak preparaty taninowe lub adsorbujące jak węgiel aktywny lub kaolin, powodują znikanie lub zmniejszanie się właściwości dynamicznych krwi po pokarmach białkowych.

Ewakuacja przewodu pokarmowego zatem powoduje usuwanie ciał czynnych i przez to uniemożliwia dostawania się ich, a przedewszystkiem histaminy do krwi. Ciała adsorbujące lub pokrywające wiążą ją lub uniemożliwiają wchłanianie powodując nieprzedostawanie się histaminy do krwi. W tem właśnie leży uzasadnienie eksperymentalne dla stosowania środków ewakuacyjnych w związku z cierpieniami związanymi z zaparciem przewlekłym, w tem mechanizmie możnaby również dopatrywać się dobrego wpływu stosowania środków przeczyszczających w hipertonji. Zmniejszanie dopływu histaminy do krwi da w następstwie zmniejszenie wydzielania adrenaliny.

Wchodzi tutaj jednak w grę jeszcze jeden czynnik regulacyjny, na który zwróciliśmy uwagę wspólnie z Gedroyciem, a mianowicie czerwone ciała krwi. Mechanizmu regulacji czynnościowej pomiędzy adrenaliną a histaminą nie można szukać jedynie w ciekłych składnikach krwi. Czerwone ciała krwi bowiem absorbują równie dobrze histaminę jak i adrenalinę. I dlatego w ocenie działania obu tych substancji i ich wzajemnej zależności trzeba i czynnik ten brać zawsze pod uwagę. Poszukiwanie adrenaliny w ciekłych składnikach

krwi może być bezowocne natomiast w tych samych wypadkach dać może rezultaty dodatnie, jeżeli jej szukać w czerwonych ciałkach.

Poszukiwanie znanymi metodami adrenaliny w czerwonych ciałkach krwi świni, a więc zwierzęcia dobrze odkarmionego, daje wyniki zawsze bardzo wyraźne. Gedroyć w doświadczeniach przeprowadzonych na kotach wstrzykując czerwone ciała krwi świni po ich zhemolizowaniu kotu otrzymywał powyższe ciśnienie krwi np. z 90 mm Hg na 144 mm Hg. Jednocześnie krew ta dawała maksymalne rozszerzenie źrenicy oka izolowanego żaby. U zwierząt głodzonych znikają ciała czynne z czerwonych ciałek krwi, znika histamina, znikają aglutyniny, znikają również ciała hormonalne między nimi i adrenalina. Czerwone ciała krwi zwierząt głodzonych po zhemolizowaniu nie dają odczynów charakterystycznych na adrenalinę (rozszerzenie źrenicy oka żaby) lub też odczyny te są w porównaniu z krwią zwierząt nakarmionych bardzo słabe.

Czynnik głodzenia zatem usuwa z elementów morfotycznych krwi podobnie jak i z tkanek ciała czynne natury odżywczej lub hormonalnej, względnie odpornościowej.

### Wyciągi z narządów.

Problem wpływu fizjologicznego histaminy na ustrój łączy się z zagadnieniem niezwykle aktualnem działania wyciągów z narządów i ciał czynnych z nich otrzymywanych. T. zw. hormony tkankowe działać mają podobnie do histaminy względnie acetylocholino. Fizjologja tych ciał jest dzisiaj przedmiotem badań, zastosowanie lecznicze znajduje coraz więcej farmakodynamicznego uzasadnienia. Poszukiwanie chemizmu czynnych substancyj, określenia roli lokalnej czy ogólnej, wykrywania podobieństwa lub różnic pomiędzy znanymi chemicznie ciałami i odkrywanymi substancjami, zaprzęta dzisiaj uwagę badaczy. Jak zwykle jednak kierunek badań wykazuje gdzieś zbytek daleko posuniętą jednostronność. Kiedy określono własności dynamiczne histaminy zbyt wiele odczynów ustrojowych obserwowanych starano się przypisać tej właśnie substancji. Dzisiaj działanie substancyj „podobnych do histaminy“ zbyt może jednostronnie przypisywać zaczynają nie-



którzy badacze adenozyne i kwasowi adenozyno-fosforowemu. Nie można zaprzeczyć, iż substancje te odgrywać mogą rolę w działaniu wyciągów z narządów, stwierdza się jednak zbyt wiele różnic dynamicznych w działaniu różnych wyciągów, by można przypisać tym substancjom znaczenie istotne w działaniu wyciągów tkankowych.

W doświadczeniach, które wspólnie z Dadlezem przeprowadziliśmy nad wyciągami z narządów zdołaliśmy stwierdzić pewne różnice w ich zachowaniu się. Z tkanki płucnej np. otrzymać można czynną substancję, wolną od histaminy, nie dającą żadnych odczynów na białko, która nie posiada wpływu na ciśnienie krwi, działa jednak na macię izolowaną, daje silny odczyn melanoforowy u żaby, oraz posiada wyraźny wpływ diuretyczny u człowieka. Przez odpowiednie zabiegi chemiczne lub przez zastosowanie czerwonych ciałek krwi jako czynników absorbcyjnych otrzymać można z tkanki płucnej ciało hipertenzyjne, przyczem inne właściwości nie ulegają żadnej widocznej zmianie. Popielski zresztą a potem Collip (1928) otrzymał z różnych narządów zwierzęcych i tkanek ciała hipertenzyjne, przyspieszające akcję serca, zmniejszające objętość nerek tak jak adrenalina, jednak w przeciwieństwie do niej, powodujące wzmożenie czynności jelita.

Z mięśni prążkowanych i z serca otrzymana przez nas substancja daje silne rozszerzenie naczyń krwionośnych i spadek ciśnienia krwi, przyczem amplituda serca ciepłokrwistych *in situ* i izolowane żaby ulega znacznemu wzmożeniu. Odczyn melanoforowy wyciągów z mięśni jest słaby w porównaniu z wyciągami z płuc, te ostatnie zaś nie wykazują wpływu na pracę serca.

Już z tego doświadczenia własnego i innych, można wyciągnąć wnioski o niejednorodności działających czynników w wyciągach z narządów. Także krew sama jako tkanka zawiera różnorodne substancje o niekiedy bardzo rozbieżnych efektach działania.

W ocenie działania wyciągów z tkanek jak eutononu, lakarnolu, hormocardiolu, kalikreiny czy angioxyłu opierano się w doświadczeniach na zwierzętach głównie na wpływie na układ krążenia, stwierdzając, że substancje te nawet w dawkach bardzo małych nie były obojętne dla krążenia. Działanie ich jest podobne czyli wnioskowano, że efekt zależy od tego

samego ciała czynnego, otrzymywanego jedynie w różnych miejscach ustroju. Ponieważ histamina, której dawniej przypisywano tutaj wpływ nie jest substancją czynną, poszukiwano ciała innego. W lakarnolu czynny ma być kwas adenozyńnosforowy, lecz najprawdopodobniej nie jest jedyną substancją działającą. W kalikreinie, jak podają Hochrein i Keller (1931) kwasu tego dotychczas nie znaleziono. Przy przygotowywaniu wyciągów przytem można się przekonać, że w czasie preparatyki przedstawiają one pewne różnice, a w różnych odczynach farmakologicznych niekiedy wykazują znaczną rozbieżność. Dlatego też — sądzimy — iż mimo, że sprawa chemizmu ciał czynnych w wyciągach z narządów nie jest rozwiązana, trudno jest na podstawie wyników znanych a głównie na podstawie wpływu wspólnego na ciśnienie krwi mówić o jednolitości wchodzącego tutaj w grę czynnika.

Histamina jako substancja czynna nie wchodzi w wyciągach z narządów w grę, przynajmniej w dawkach, których badanie dostępne jest metodom farmakologicznym. Jaka jej jest natomiast rola w narządach, w których fizjologicznie znajduje się w ilościach znacznych; czy jest ograniczona do wpływów miejscowych czy też rozszerza swe działanie poza narządy, w których się gromadzi, trudno jest na podstawie znanych badań orzec. Trudno jest rozstrzygnąć, jakie bodźce powodują uwalnianie się histaminy, względnie „substancji podobnej“ w narządach ustroju. Histamina znajduje się bowiem w tkance płucnej, w skórze, naskórku, śledzionie, mięśniach prądkowanych, wątrobie, trzustce, nadnerczach i innych gruczołach o t. zw. wydzielaniu wewnętrznem. Narządy płodów histaminy nie zawierają.

\* \* \*

Znaczenie fizjologiczne i farmakodynamiczne histaminy jest duże. Doświadczenia ostatnich czasów coraz więcej dostarczają dowodów na to, że wiele wzajemnych regulacyj w ustroju zwierzęcym zależy od ciał chemicznych, które w działaniu swem podobne są do histaminy lub drugiego ciała o ważnej roli fizjologicznej a mianowicie acetylocholino. Istnieją zatem w wielu wypadkach korelacje chemiczne dzięki „hormonom tkankowym“, jak je nazywają Feldbeg i Schilf. Metodyka



badania farmakologicznych ciał czynnych musi polegać na skojarzonych badaniach chemicznych i farmakodynamicznych, które dają podstawę oceny charakteru działania i różnic ilościowych.

---

---

## PIŚMIENNICTWO.

1. Dr. Bienstock. Die Hypertonie. Münch. Med. Woch., str. 665, 1929.
2. J. Dadlez i W. Koskowski. O substancji czynnej płuc. Polska Gazeta Lekarska. Nr. 9. 1931.
3. Feldberg u. Schilt. Histamin. J. Springer, 1930.
4. M. Gedroyć i W. Koskowski. O transporcie niektórych substancji odżywczych i hormonalnych w ustroju. Polska Gazeta Lekarska. Nr. 13, 1931.
5. H. Handowsky. Pharmakologie in ihren modernen Problemstellungen. Steinkopf, 1931.
6. Hochrein u. Keller. Die Beinflussung des Kreislaufes durch Organextrakte. Arch. f. exp. Pathologie u. Pharmakologie. Bd. 159. Hft. 4, 1931.
7. A. Januszkiewicz. Nadciśnienie tętnicze. Polskie Arch. Medycyny Wewn. T. VII. Z. 3 (Zeszyt Zjazdowy). 1929.
8. W. Koskowski. Właściwości dynamiczne krwi w czasie trawienia. Kosmos A. T. 55. Z. I—II., str. 149, 1930.
9. W. Koskowski et P. Kubikowski. L'état dynamique du sang comme critérium de l'état de la digestion pendant la fièvre expérimentale. C R. de la Soc. de biologie. T. CIV, p. 531, 1930.
10. B. Stuber. Klinische Physiologie, J. F. Bergman, 1931.

---

---

## Expériences sur le rôle de l'histamine en rapport avec quelques phénomènes pharmacodynamiques

par

W. Koskowski

Le rôle de l'histamine est incontestable dans l'action dynamique du sang au cours de la digestion. L'histamine est bien resorbée dans le tractus digestif et apparait dans le sang, où sa présence peut être déterminée, même en petite quantité,

par son action sur l'utérus isolé du Cobaye. Dans le sang elle est absorbée par les hématies. Les corpuscules rouges du sang présentent un moyen de transport des certaines substances nutritives et hormonales dans l'organisme.

Dans la fièvre expérimentale on constate un retard considérable de l'apparition de l'état dynamique du sang au cours de la digestion des corps albuminoïdes. Ce phénomène pourrait servir comme critérium de l'état de digestion dans le tractus digestif au cours de différents états fébriles.

Les hématies possèdent la propriété d'accumuler l'histamine *in vitro*. Elles absorbent aussi l'adrénaline et d'autres substances hormonales. Les hématies absorbent de même l'adrénaline *in vivo*. Après son injection intraveineuse, ou bien après la décharge de l'adrénaline des surrénales elle disparaît pendant quelques minutes dans les hématies.

L'histamine injectée lentement dans le sang provoque l'augmentation de la pression. Chez les animaux ayant les surrénales extirpées on constate dans les mêmes conditions expérimentales la chute de la pression sanguine. Il y a donc une action de l'histamine sur les surrénales d'où il résulte la décharge de l'adrénaline.

La présence prolongée alors de l'histamine dans le sang provoque l'augmentation de la quantité de l'adrénaline dans le sang et par conséquent l'augmentation de la pression sanguine.

Les certains cas de l'hypertonie pourraient trouver dans ce mécanisme leur explication. Les certains auteurs soulignent l'influence „sensibilatrice“ des aliments albuminoïdes (viande) sur l'adrénaline. L'auteur a montré, que pendant la digestion des substances albuminoïdes apparaissent dans le sang les propriétés dynamiques. L'histamine joue un rôle prépondérant dans l'apparition de ces propriétés. On pourrait alors chercher la relation causale entre l'apparition au moins de certaines formes de l'hypertonie et l'augmentation dans le sang de la quantité de substances provenant de la dégradation de l'albumine, en premier lieu de l'histamine, qui forment les propriétés dynamiques du sang au cours de la digestion. L'histamine pénétrant dans le sang et étant absorbée par les hématies persiste longtemps dans ce milieu et peut influencer la sécrétion de l'adrénaline.



L'histamine se trouve dans différents organes. Les extraits des organes ont l'action semblable à celle de l'histamine, surtout en ce qui concerne leur action sur les vaisseaux et certains auteurs même attribuaient cette influence pharmacodynamique à l'histamine. L'analyse plus détaillée d'ailleurs permet à la séparation de l'action de l'histamine de celle des substances actives des extraits. L'influence dynamique des extraits des organes et tissus est du reste très compliquée. Leur rôle n'est pas borné seulement à l'action sur la pression du sang mais aussi les extraits des certains organes provoquent d'autres phénomènes pharmacodynamiques.

E. MAIGRE

## Oxydacje i redukcje biologiczne

(Oxydations et réductions biologiques)

Na podstawie obszernej literatury omawia autor znaczenie oxydacji i redukcji w biologji.

---

---

## Oxydations et réductions biologiques

par

E. MAIGRE

Bien que lentement attaqués par l'oxygène moléculaire aux températures et aux pH des êtres vivants, nombre de composés, notamment ceux qui résultent du catabolisme digestif, s'oxydent vite dans les tissus ou au contact de leurs extraits. Rappelons que les glucides et les lipides peuvent être brûlés jusqu'à leur transformation en acide carbonique et en eau, et que, si des déchets, comme l'urée, l'acide urique, l'acide hippurique, le sont fort incomplètement puisqu'ils ne renferment pas le quart de l'oxygène qu'exige leur combustion complète, les protides, dont ils dérivent, n'en renferment que le neuvième environ.

Les substances aisément oxydées par les organismes ne perdent pas, non plus, spontanément, d'hydrogène, in vitro, aux températures et aux pH compatibles avec la vie. Ce second mode d'oxydation, comme le premier, exige que soit réduite la stabilité de certaines molécules. Vers 1900, il n'était guère envisagé: on s'efforçait d'expliquer les combustions biologiques par des ca-

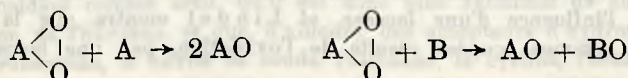


talyses où l'oxygène seul était rendu plus actif. Bertrand avait publié ses recherches sur la laccase; Bourquelot et Bertrand étudiaient la tyrosinase; Loew caractérisait les peroxydases et les catalases. Ces substances exigeaient pour agir la présence d'oxygène moléculaire ou de peroxydes, et leurs effets s'expliquaient par la théorie, généralement admise, de Bach, Engler et Wild, sur l'activation de l'oxygène.

D'après Helmholtz, Richarz et Bach, la molécule d'oxygène demeure inerte, tant que n'est pas libérée au moins une valence de ses atomes. L'énergie et le rythme de leurs mouvements électroniques, permettraient aux substances aisément oxydables d'effectuer cette dissociation partielle; pour les autres, l'ébranlement devrait être communiqué par une énergie extérieure.

Nombre de réactions couplées sont connues, où l'oxydation directe d'un corps *A* entraîne celle d'un autre, *B*, non directement oxydable. Ainsi, une solution d'indigo, qui résiste à l'oxygène libre, se décolore quand on l'agite avec de l'essence de térébenthine préalablement exposée à l'air. Par fixation d'oxygène dans les tissus végétaux, se produisent des composés instables, dont le potentiel d'oxydation est supérieur à celui de l'oxygène atmosphérique, puisqu'ils bleussent la teinture de gaïac, transforment l'hydroquinone en quinone, libèrent l'iode des iodures, etc.

Bach suppose que le corps autoxydable dissocie incomplètement les atomes de l'oxygène atmosphérique, en formant un peroxyde, qui renferme de l'oxygène actif, et peut le céder, soit à un excès du corps autoxydable, soit à un accepteur:



Si l'oxyde *AO* est instable au contact de *B*, une très petite quantité de *A* suffit pour transformer une grande masse de l'accepteur; il y a catalyse. Job, par exemple, oxydant à l'air une solution d'oxyde cérique dans un carbonate alcalin, obtint, le peroxyde rouge  $CeO^3$ , très instable, ayant une vive tendance à se transformer en oxyde cérique jaune  $CeO^2$ . Mais en présence d'un accepteur d'oxygène, comme le glucose, le peroxyde passe, au contraire, à l'état d'oxyde cérique  $Ce^2O^3$ , qui, de nouveau, capte

de l'oxygène, le cède au glucose, et ainsi de suite jusqu'à oxydation complète de celui-ci, qu'une trace d'oxyde céréeux suffit à réaliser <sup>1)</sup>).

B a c h assimilait les diastases oxydantes à ces corps auto-oxydables dont les peroxydes se décomposent aisément. D'autres substances, les peroxydases, ont le pouvoir d'accélérer ces décompositions. Parmi elles, on peut citer des composés métalliques: sels de fer, de cuivre et de manganèse, puis l'hémoglobine, le lait, les leucocytes et à peu près tous les tissus. B a c h admettait donc dans ceux-ci l'existence:

1° d'oxydases pouvant former des peroxydes avec l'oxygène moléculaire;

2° de peroxydases facilitant le transfert de l'oxygène ainsi fixé.

Dès 1883, Y o s h i d a avait découvert dans le latex de l'arbre à laque, *Rhus vernicifera*, un de ces agents capables de fixer l'oxygène moléculaire sur des corps qu'il ne peut directement attaquer. Par addition d'alcool, ce latex donne un précipité, inaltérable à l'air comme le filtrat; leur mélange reste sans modification à l'abri de l'oxygène, mais noircit à son contact.

Les produits extraits, en 1894, par B e r t r a n d, du latex de *Rhus succedanea*, sont un polyphénol, le laccol, et une substance capable de l'oxyder à l'air humide. **la laccase**, dont il admit la nature diastasique. Il montra que la laccase fixe rapidement l'oxygène sur les ortho et para di-phénols, n'agit qu'avec lenteur sur ceux dont les oxhydryles se trouvent en position méta, et conserve son pouvoir oxydant lorsqu'ils sont remplacés par des groupes amidogènes.

Nombre de végétaux produisent des substances analogues. Ainsi, dans les bolets dont la pulpe bleuit à l'air, B o u r q u e l o t et B e r t r a n d isolèrent un corps cristallisable, le bolétole, qui se colore au contact de l'oxygène sous l'influence d'une laccase, et L i n d e t montra que la couleur brune des pommes coupées résulte de l'oxydation, par une laccase, d'un tanin.

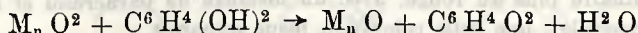
Toutes ces oxydases renferment du manganèse, et fixent d'autant plus vite qu'elles en possèdent davantage, l'oxygène sur l'hydroquinone ou le laccol. Peu active, celle de la luzerne, où l'on n'en trouve que des traces, le devient beaucoup plus par addition d'une quantité, même très faible, d'un sel de ce métal. Comme les sels de manganèse, surtout ceux des acides organiques, accélèrent l'oxydation spontanée de l'hydroquinone et d'autres

<sup>1)</sup> Il n'y a pas, a priori, de raison pour qu'il n'en soit pas de même dans le plasma sanguin, en particulier au niveau du poumon. Le traitement du diabète par l'oxyde céréeux pourrait être tenté.



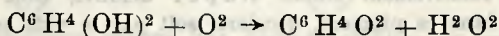
phénols, Bertrand admit qu'ils sont le principe actif de la laccase, où la matière organique (gomme et corps azoté) n'en serait que le support, nullement indispensable.

Pourtant la faculté oxydante du même poids de manganèse, bien que très variable d'un sel à l'autre, et, par exemple, quinze fois plus forte dans le succinate, que dans le nitrate, reste très inférieure à ce qu'elle devient dans la laccase, où elle peut être 50.000 fois plus forte que dans le dernier sel. D'où l'hypothèse, dans celle-ci, d'une „complémentaire activante“, accélérant la transformation du composé métallique en protoxyde  $MnO$  capable de se suroxyder à l'air, et de réagir ensuite sur l'hydroquinone:



ou encore, activant, comme une peroxydase, l'oxygène de ce composé métallique. Bach et Chodat assimilent, en effet, le manganèse de la laccase à une „oxygénase“, vecteur d'oxygène donnant au contact de l'air un peroxyde, dont l'oxygène serait activé par le reste de la diastase. Ils notent, d'ailleurs, que le manganèse ne joue pas toujours ce rôle, car la peroxydase du raifort, aussi purifiée que possible à l'époque de leurs recherches (en 1902), en contenait, et pourtant ne bleuissait pas la teinture de gaïac.

Inversement, Euler et Bolin constatèrent que les citrates, malates et mésoxalates de chaux, contenus dans la laccase, thermostable, de la luzerne, oxydent l'hydroquinone. Et Wieland et Fischer ne purent déceler ni fer ni manganèse dans l'oxydase du champignon *Lactarius vellereus*, thermostable à ce point que sa solution aqueuse ne perd presque rien de son pouvoir après être resté à  $100^{\circ}$  pendant 20 minutes. Après addition d'une faible quantité d'acide cyanhydrique, destinée à paralyser au besoin des traces de catalase, cette substance transforme l'hydroquinone en parabenzoquinone et eau oxygénée:



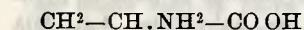
Wieland et Fischer admettent qu'elle active l'hydrogène, et oxyde par deshydrogénation. Raper objecte que, dans l'hydroquinone et dans la pyrocatechine, qui sont des réducteurs, l'hydrogène des oxhydryles doit déjà être considéré comme actif, qu'il est donc plus rationnel de supposer une activation de l'oxygène, et que, d'ailleurs, des accepteurs d'hydrogène comme le dinitrobenzène, le nitrite de soude, l'alloxane, la cystine, l'acide dithioglycolique, le bleu de méthylène, l'eau oxygénée, n'étant pas réduits par l'hydroquinone en présence de cette oxydase, l'activation de l'oxygène en devient d'autant plus probable.

**Une tyrosinase** a été découverte, en 1895, par Bertrand et Bourquelot. Ils trouvèrent dans le champignon *Russula nigricans*, un chromogène se colorant en noir, à l'air, sous l'influence d'un agent d'oxydation autre que la laccase, laquelle reste sans effet. L'année suivante, Bertrand reconnut que ce chromogène est un acide aminé phénolique, la tyrosine.

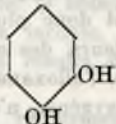
Très répandues dans les végétaux, les tyrosinases existent chez nombre d'invertébrés. Verne, notamment, a décelé, dans les cellules à pigment de crustacés décapodes, de la tyrosine qui joue le rôle de chromogène. Les tyrosinases font passer, en présence d'oxygène moléculaire, la couleur des solutions de tyrosine au rouge, puis au brun, puis au noir, avec, presque toujours, précipitation d'une mélanine, insoluble dans l'eau, soluble dans les alcalis, amorphe, colloïdale, formée par oxydation d'un amino-acide phénolique, avec perte de la fonction amidogène et polymérisation. Sous l'influence de ces agents, plusieurs composés phénoliques se colorent en jaune, en rouge ou en brun. Par addition d'acides aminés, ces teintes virent d'ordinaire plus au rouge; avec un mélange de paracrésol et d'alanine (ou de glycolle), une belle coloration bleue apparaît.

Certaines tyrosinases résistent à 80°. Pour les isoler, on utilise cette propriété de l'alcool, de les précipiter avant les peroxydases. Raper et Wormall ont montré qu'elles sont très sensibles aux variations du *pH*. Par exemple, celle de la pomme de terre n'est active qu'entre les valeurs extrêmes 6 et 8. Pour un *pH* égal à 6, la tyrosine se colore vite en rouge, mais ne brunit qu'avec lenteur; pour un *pH* égal à 8, la production de mélanine est beaucoup plus rapide. Il y a donc, dans ce processus, au moins deux temps, que favorisent des acidités différentes. De toute une série d'expériences, Raper et Wormall concluent, que la formation de mélanine, à partir de la tyrosine, s'effectue par oxydation, d'abord en un pigment rouge, qui se décolore (sans doute par transformation tautomérique), puis est oxydé et devient noir. La diastase ne serait indispensable que pour la première oxydation.

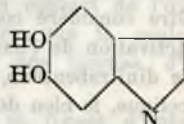
Les vers de farine, *Tenebrio molitor*, renferment une tyrosinase que les acides dilués précipitent. Par ce moyen, son action peut être interrompue à tout moment. Pour un *pH* égal à 6, le pigment rouge, premier produit perceptible est relativement stable. Raper acidifie, isole par filtration la diastase, et, dans ce pigment, décoloré, soit par le vide soit par un peu d'acide sulfurique, trouve de la 3, 4, dioxyphénylalanine, du 5, 6, dioxyindol, et de l'acide 5, 6, dioxyindol-2, carboxylique:



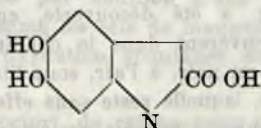
tyrosine  
(para-oxyphénylalanine)



3, 4, dioxyphénylalanine  
(dopa)



5, 6, dioxyindol

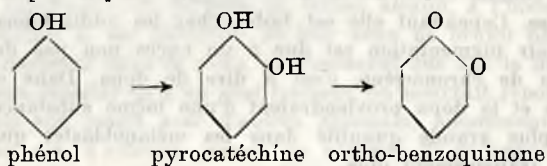


acide 5, 6, dioxyindol - 2, carboxylique

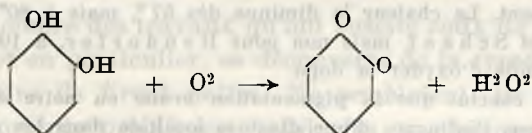


La dioxyphénylalanine, oxydée par la tyrosinase plus vite que la tyrosine, donne les mêmes dérivés avec l'indol. Elle paraît donc être le premier produit de cette oxydation.

La tyrosinase oxyde certains phénols. De son action sur l'acide phénique, le paracrésol et la pyrocatechine, résultent des produits capables de faire perdre aux acides aminés leur fonction amidogène. Ce sont probablement des orthoquinones trop instables pour être isolées. Mais en ajoutant de l'aniline, on peut séparer sous forme de cristaux rouges, solubles dans l'acétone, les composés qu'elles donnent avec ce corps:



Le mécanisme de ces oxydations reste mal connu. L'absence de peroxydase a été constatée par Choda t; d'ailleurs en présence d'eau oxygénée, les peroxydases n'oxydent pas la tyrosine. Il ne semble donc pas que la tyrosinase contienne un facteur autoxydable, formant un peroxyde au contact de l'air, puis cédant son oxygène. Rien n'indique, non plus, dans ces oxydations, que l'oxygène peut être remplacé par un accepteur d'hydrogène. Dans une atmosphère de ce gaz ou dans le vide, la tyrosine n'est pas oxydée, en présence de bleu de méthylène, par la tyrosinase de la pomme de terre. Oxydant la pyrocatechine par cette diastase, Onslow et Robinson trouvèrent que de l'eau oxygénée se forme. D'après eux la réaction:



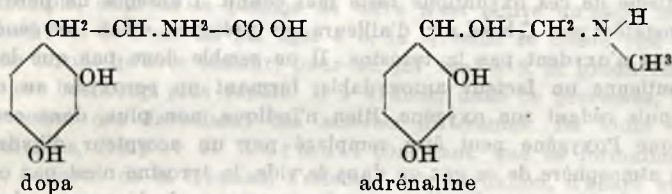
devrait être considérée comme une deshydrogénation, et ce serait l'hydrogène qu'activerait l'oxydase. Mais Raper trouve plus probable que c'est l'oxygène, d'autres accepteurs d'hydrogène ne pouvant le remplacer.

Le rôle que jouent les tyrosinases est encore mal précisé. Elles se trouvent en quantités considérables chez certains invertébrés, grands producteurs de mélanine, et les recherches de von Furth et Schneider, confirmées par Przibram et Brecher, sur les lépidoptères, celles de Verne sur les crustacés, ont montré que, dans ces organismes, la tyrosine est la substance-mère du pigment. Mais rien ne prouve que la mélanine des animaux supérieurs a la même provenance.

Les tyrosinases pourraient contribuer à la production de composés de la pyrocatechine, ou à celle de l'adrénaline, à partir de la tyrosine. Mais on n'a pu déceler une tyrosinase, chez les animaux supérieurs, où, même les mélanoblastes n'en contiennent pas.

**La dopase ou dopa-oxydase** transforme sélectivement la 3, 4, dioxyphénylalanine ou dopa, en pigment mélanique. Les mélanoblastes de l'épiderme en seraient pourvus. Une coupe de peau, fixée par le formol,

ayant été immergée pendant 24 heures, soit à la température du laboratoire, soit à 37°, dans une solution à 1/1000 de 3, 4, dioxiphénylalanine dont le pH restait entre 7,3 et 7,4, Bruno Bloch constata que les mélanoblastes, devenus noirs, portaient des grains paraissant identiques à ceux de la mélanine naturelle. Les cellules basales de l'épiderme donnent seules la réaction; les mélanophores restent inaltérés. De plus, il y a parallélisme entre la pigmentation (actuelle ou potentielle) d'un fragment d'épiderme et sa faculté d'oxyder la dopa. Cette faculté manque, notamment, aux plages épidermiques, comme celles atteintes de vitiligo, qui ont perdu le pouvoir de mélanogénèse. Cependant elle est faible chez les addisoniens. Bloch suppose que leur pigmentation est due à un excès non pas de diastase oxydante, mais de chromogène, c'est à dire de dopa. Dans cette hypothèse, l'adrénaline et la dopa proviendraient d'une même substance, qui se déposerait en plus grande quantité dans les mélanoblastes quand les surrénales ne la transforment plus.



Les radiations violettes et ultraviolettes, et, très intensément, celles du thorium X, augmentent la dopa-réactions. L'acide cyanhydrique, l'hydrogène sulfuré, l'inhibent. La chaleur la diminue dès 57°, mais à 80° elle persiste. Pour Bloch et Schaaf, mais non pour Heudorfer, à 100° les cellules perdent la faculté d'oxyder la dopa.

Bloch conclut que la pigmentation brune ou noire des téguments est produite sous l'influence d'une diastase localisée dans les mélanoblastes. Bloch et Schaaf n'ont réussi à l'extraire que de l'épiderme de lapins âgés de quelques jours. Son action serait spécifique: il n'est pas possible d'obtenir de la mélanine en immergeant les coupes dans une série de corps voisins de la dopa. Il semble que si l'on modifie, soit le noyau, soit la chaîne latérale de la 3, 4, dioxiphénylalanine, la réaction devient impossible. D'après Raper, cette stricte spécificité, et la difficulté d'extraire la dopa des cellules qui la renferment, porte à admettre une combinaison ou une adsorption élective du substrat, par une substance contenue dans les mélanoblastes, sur laquelle serait fixée la diastase.

L'oxydation de la tyrosine par la tyrosinase, donnant, sans doute, comme premier produit la dopa, il semble probable que la formation de mélanine à partir de l'un et de l'autre chromogène s'effectue de la même manière. En tout cas, la 3, 4, dioxiphénylalanine, plus vite oxydée que la tyrosine par la tyrosinase, en est le révélateur le plus sensible. On pourrait donc admettre que, dans les expériences de Bloch, elle permet d'en déceler des quantités trop faibles pour agir sur la tyrosine. Mais la tyrosinase s'obtient sans difficulté. Comment expliquer qu'on n'ait jamais réussi à en



trouver dans l'épiderme? L'extrait obtenu par O n s l o w ne colorait la tyrosine qu'après addition d'eau oxygénée, ce qui semble exclure la tyrosinase, à moins que, pour l'obtenir, n'ait été ajouté, ou libéré, un corps capable d'empêcher la réaction entre la tyrosinase et la tyrosine, mais attaqué par l'eau oxygénée.

Edifier une théorie sur un ferment non extractible, et sur un chromogène que l'on n'a jamais décelé in situ, semble fort hasardeux à D e j u s t. Jamais il n'a été trouvé de dopa dans l'épiderme de l'homme ou dans celui des animaux supérieurs; et, de plus, en milieu alcalin, à l'inverse de la 3.4 dioxypénylalanine, le suc cellulaire de leur peau ne brunit pas. Existe-t-il une diastase, contenue dans la peau, et n'agissant que sur la dopa? Si cette substance n'était sensible qu'à un seul ferment, on pourrait répondre par l'affirmative. Mais elle réagit avec d'autres diastases, notamment avec la tyrosinase (qu'on n'a, d'ailleurs, jamais pu extraire de la peau).

L i g n a c ayant plongé pendant dix minutes des fragments d'épiderme dans de l'eau bouillante, a constaté qu'ils étaient encore capables de se pigmenter sous l'influence des radiations ultraviolettes. Dans des coupes d'aussi faible épaisseur, il paraît impossible qu'une diastase résiste pendant dix minutes à 100°. Il faut donc, dans ce cas, admettre que le pigment se forme par une action non diastasique. Dans des conditions analogues, D e j u s t a constaté que la tyrosine n'est pas oxydée; mais un corps plus sensible qu'elle, en solution aqueuse, aux rayons ultraviolets, peut être en cause; enfin l'expérience de L i g n a c n'exclut évidemment pas la possibilité de la présence, dans l'épiderme normal, d'une diastase mélanogénique.

Le nombre des travaux qu'ont suscité ceux de Gabriel B e r t r a n d, et en particulier, sa découverte de la tyrosinase, montre quels espoirs ils firent naître. Ne semblaient-ils pas résoudre deux importants problèmes: celui des oxydations et celui des pigmentations biologiques? J. D u c l a u x le souligne: l'analogie est grande entre les phénomènes essentiels de la respiration et certains effets de la laccase. Celle-ci fixe de l'oxygène sur le pyrogallol, l'acide gallique, le tanin, et en même temps de l'acide carbonique se dégage. Dans certains cas, pour 4 volumes d'oxygène absorbés, 3 volumes d'acide carbonique s'éliminent. Comme, globalement, la respiration se réduit à une absorption d'oxygène, et à un dégagement de gaz carbonique, en volumes à peu près égaux, il était naturel d'espérer que les oxydases donneraient la clé de ce processus.

Toutefois, la laccase n'agit que sur certains corps, de structure particulière, qui sont loin d'être assez répandus pour permettre d'expliquer la respiration. Autre difficulté: les oxydations qu'elle réalise sont bien moins complètes que celles effectuées dans les organismes. Si la tyrosinase attaque nombre de corps, et si,

comme la tyrosine, certains d'entre eux existent chez tous les êtres vivants, par contre, plus encore que la laccase, elle semble incapable d'effectuer des combustions complètes. Son aptitude à former des composés colorés l'indique déjà, la coloration d'une substance organique étant un signe de complexité moléculaire. Il en résulte que nombre de biologistes réduisent son rôle à la production de pigments.

D'autres vont plus loin encore. Parce que certains extraits de végétaux, en oxydant d'autres extraits, provoquent des colorations, il fut admis que les premiers jouent le même rôle *in vivo*, et on prétendit expliquer toute pigmentation, chez un être vivant, par l'action d'une diastase oxydante sur un chromogène. C'était, dit *Combes*, conclure trop vite. Par exemple, il a été reconnu qu'en présence d'eau et d'oxygène, un corps extrait de bolets, la laccase, fait apparaître une coloration bleue au contact d'un autre corps extrait des mêmes tissus, le bolétole. Il a, de plus, été démontré qu'un phénomène d'oxydation se produit alors. Mais peut-on déduire de ces faits, que le premier de ces constituants cellulaires joue le rôle d'oxydant dans le métabolisme normal ? Au moment où l'on sectionne un chapeau de bolet, aucune cellule ne renferme de substance bleue. Cela n'exclut évidemment pas la possibilité, dans l'économie cellulaire normale, d'oxydations portant sur d'autres corps que le bolétole, lesquels fixeraient l'oxygène sans changer de couleur. Mais rien ne prouve, ni n'indique, qu'il en est ainsi. De même, le latex de l'arbre à laque, au moment où il sort des cellules, est blanc et non noir, et la surface de section d'une pomme n'est pas brune, etc.

On ne peut donc considérer comme établie l'hypothèse suivant laquelle les diastases, dites oxydantes, effectuent normalement des oxydations. C'est possible, mais les faits ne sont pas démonstratifs. Et pourtant, il fut encore admis que les pigments se forment par l'action d'une de ces diastases sur un chromogène. Ce qui, dans le cas des anthocyanines, est déjà reconnu inexact. Les recherches de *Combes*, confirmées par *Watson* et *Sen, Everest, Willstätter, Mascré*, prouvent que, si les tissus où apparaissent ces pigments contiennent des oxydases et fixent plus d'oxygène que ceux qui restent incolores, cependant, les anthocyanines diffèrent des glucosides oxyflavoniques

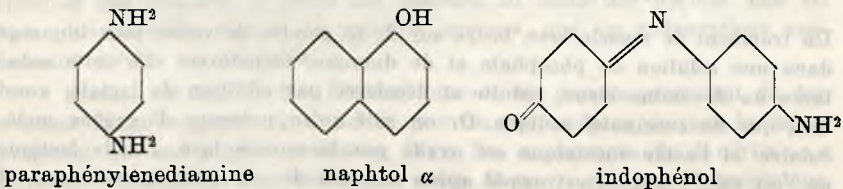


qui les précèdent, par un atome d'oxygène en moins, et peuvent être obtenus en réduisant ces glucosides.

Chez les animaux, on suppose toujours l'existence d'oxydases ou de peroxydases dans les tissus capables de se pigmenter, bien que la caractérisation d'une diastase oxydante n'ait pu être faite dans le plus grand nombre des cas. Même si la présence d'une telle diastase était reconnue, et s'il était prouvé que les tissus, incapables de se mélaniser, en l'absence d'oxygène, en finissent davantage pendant la formation des mélanines, il serait encore trop tôt pour affirmer que ces pigments sont formés dans la cellule par oxydation diastasique d'un chromogène. Il faudrait extraire ce chromogène, extraire la mélanine, montrer qu'elle est un produit d'oxydation de ce corps, et qu'elle se crée sous l'influence de la diastase.

Comme on l'a souvent remarqué, c'est la propriété de donner à l'air des colorations qui a mis sur la trace des oxydases. Or il n'y a nul motif pour qu'elle se révèle toutes ainsi; le contraire est bien plus probable. La découverte d'un de ces agents devient alors plus difficile; il ne suffit plus d'observer; des expériences sont nécessaires. Dès 1885 une de ces expériences fut réalisée par Ehrlich.

On sait que le mélange d'une paradiamine et d'un phénol donne, par oxydation, des colorants indophénoliques, bleus. Injectant à des animaux un mélange de paraphénylènediamine et de naphтол  $\alpha$ , Ehrlich vit apparaître, in vivo, cette coloration bleue.



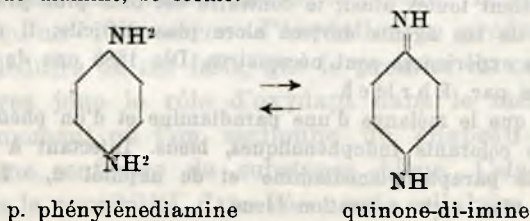
En 1895 Rohmann et Spitzer reprirent in vitro cette étude, avec les mêmes réactifs. Le mélange des deux solutions alcalines diluées, qui bleuit lentement à l'air, se colorant beaucoup plus vite au contact de la plupart des tissus ou de leurs extraits aqueux, et les précipités obtenus par addition d'alcool à ces extraits, conservant pendant une année au moins ce pouvoir d'oxydation, ils admirèrent l'existence dans l'organisme animal d'une diastase oxydante, qui y serait très répandue, l'**indophénol-oxydase**.

Pohl, l'année suivante, constata la même réaction avec des tissus végétaux; Battelli et Stern évaluèrent le pouvoir oxydant par la quantité d'oxygène fixé. Ils rangèrent ainsi les tissus des animaux supérieurs dans l'ordre suivant d'activité décroissante: cerveau, hématies, cœur, muscle strié, rein, foie, pancréas, rate, poumon. Cette faculté d'oxy-

dation n'est pas due au sang, car les coupes, faites au microtome, la conservent après avoir été lavées. L'hémoglobine oxyde la paraphénylènediamine au contact d'eau oxygénée, mais l'action des tissus lavés ne peut lui être attribuée, ni à une autre peroxydase, puisque l'alcool et l'acétone, qui ne détruisent pas les peroxydases, font perdre à ces tissus leur pouvoir d'oxydation, qu'ils ne récupèrent pas quand on ajoute de l'eau oxygénée. Chauffés à 60° pendant dix minutes, ils deviennent inactifs.

Pour Battelli et Stern, la cause de ces phénomènes est donc une diastase oxydante. Ils ont constaté qu'elle diffère de l'oxydase contenue dans la substance cérébrale, qui transforme l'acide succinique en acide fumarique.

Szent-Györgyi s'est demandé si cette indophénol-oxydase exerce une influence analogue à celle que Palladin attribue aux oxydases végétales. Celles-ci n'agiraient pas directement sur des corps destinés à subir une oxydation irréversible, mais sur des composés phénoliques, transformés en quinones, c'est à dire, en accepteurs d'hydrogène. Szent-Györgyi a tenté de prouver que l'indophénol-oxydase agit de cette manière sur la paraphénylènediamine, lorsque l'acide lactique est oxydé dans le muscle. Dans ce cas, au lieu d'une quinone, une di-imine, réductible à l'état de diamine, se forme:



Un fragment de muscle lavé, broyé sur de la poudre de verre, puis immergé dans une solution de phosphate et de diamine, transforme vite cette substance en di-imine bleue, réduite et décolorée par addition de lactate, aussi bien que de succinate, sodique. Or on sait qu'en présence d'oxygène moléculaire, si l'acide succinique est oxydé par le muscle lavé, l'acide lactique ne l'est pas. Puisqu'il est oxydé après addition de paraphénylènediamine, et puisqu'il l'est aussi dans le muscle vivant, Szent-Györgyi suppose qu'une co-diastrase joue, in vivo, le rôle de la diamine.

Handowski n'a pu confirmer ces résultats, que lorsqu'il broyait sur de la poudre de verre les fragments de muscle lavé. Il attribue donc un grand rôle à l'adsorption de l'acide lactique et de la diamine par le verre, ayant d'ailleurs reconnu que le charbon catalyse l'oxydation de la diamine à peu près aussi bien que le muscle.

Mais Warburg a prouvé que les catalyses d'oxydation réalisées au contact du charbon, sont provoquées par les traces de fer qu'il retient. D'autre part, l'oxyde de carbone n'inhibe plus la respiration de la levure exposée aux rayons lumineux. Ce qui rend probable, lorsqu'il l'inhibe, sa fixation sur un complexe contenant du fer. étant donnée l'influence de la



lumière sur ses combinaisons avec les composés organiques, comme l'hémoglobine, qui renferment ce métal.

Les cyanures et l'oxyde de carbone, empêchant d'agir l'indophénol-oxydase du muscle strié, aussi bien que celle de la levure, on peut concevoir l'oxydation de la paraphénylènediamine comme due à la présence d'un ou de plusieurs corps contenant du fer, et capables d'activer l'oxygène. Les indophénol-oxydases pourraient donc être (ou contenir) des composés organiques renfermant ce métal. Très répandues, elles semblent jouer un grand rôle dans la respiration des cellules.

**Les peroxydases** doivent leur nom à Linossier qui étudia celle des globules du pus. Schönbein avait déjà décrit, chez les plantes et les animaux, des substances possédant les propriétés des ferments, et capables d'activer les peroxydes. Entr'autres réactifs, la teinture de gaïac lui permettait de les déceler. Les catalases furent séparées par Loew de ce groupe.

Sauf dans certaines plantes, comme le raifort, les tissus contiennent à la fois des peroxydases et des oxydases. On s'est donc servi surtout de ces plantes pour étudier les premières. Leur isolement par adsorption sélective permit à Willstätter d'obtenir des produits extrêmement actifs. L'indice purpurogallique est le nombre de mgr. de purpurogalline produit en 5 minutes par 1 mg de diastase, agissant, à une température et une réaction de milieu invariables, sur un mélange de pyrogallol et d'eau oxygénée. Cet indice a pu être élevé de 0,25 à 4,9, pour la peroxydase du raifort.

Cette peroxydase, ainsi purifiée, ne donne plus les réactions caractéristiques des protides, ni celles des glucides, ni celles des pyrrols. Elle est bien plus instable, surtout en solution aqueuse, que les préparations renfermant encore un glucoside.

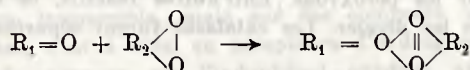
Comme les sels de fer, l'hémoglobine et ses dérivés contenant du fer, activent l'eau oxygénée, on a admis que les peroxydases doivent la même propriété au fer qu'elles possèdent. Mais les expériences de Robinson prouvent l'existence d'au moins un autre facteur, puisque l'hémoglobine, la méthémoglobine et l'hémimine, ont sur l'oxydation à l'air de l'huile de lin, un effet catalytique bien plus grand que celui des sels inorganiques renfermant la même quantité de fer. A mesure qu'on les purifie, et que leur activité augmente, les peroxydases en contiennent de moins en moins (0,04% par exemple); toutefois la question n'est pas résolue, car on n'a pas encore isolé de peroxydase exempte de fer. Des traces de ce métal pourraient être nécessaires et suffisantes; ou encore, sans être indispensables, pourraient augmenter l'activité des peroxydases, comme elles catalysent énormément l'autoxydation de la cystéine et celle du glutathion réduit.

La peroxydase du raifort est plus active en milieu légèrement acide. Le *pH* optimum varie quelque peu suivant le substrat; pour le gaïacol il est entre 4,5 et 6,5; pour l'ortho-crésol entre 3,5 et 5.

Les analyses élémentaires des produits les plus purs donnent environ 7% de cendres, et 4,9% de carbone, 6,9 à 8,6% d'hydrogène, 9,37 à 13,57% d'oxygène.

Dans l'oxydation du pyrogallol, catalysée par une peroxydase, Bach et Chodat ont reconnu qu'un excès d'eau oxygénée inhibe la réaction. Ils croyaient la diastase alors détruite. Willstätter et Weber ont montré qu'il n'en est rien, et qu'elle se combine à l'eau oxygénée.

Pour Kastle et Löwenhard, les substances qui activent l'eau oxygénée, provoqueraient la formation d'oxydes plus élevés, instables, cédant aisément de l'oxygène à ces accepteurs. Gallagher insiste sur ce que les molécules, minérales ou organiques, capables d'agir comme les peroxydases, sont très généralement du type  $R_1=O$ . Il suppose que les peroxydes forment avec elles des composés d'addition très instables, où l'oxygène est tétravalent:



De ses recherches, Willstätter conclut que les peroxydases donnent plutôt deux combinaisons avec l'eau oxygénée, l'une où l'oxygène est plus actif, l'autre où il est moins actif, que dans ce peroxyde. La seconde se formerait surtout en présence d'un excès d'eau oxygénée, d'où cette inhibition qui disparaît quand on ajoute une catalase ou augmente la quantité du substrat.

Les peroxydases agissent sur les phénols, sur les diamines aromatiques et leurs dérivés, transforment les nitrites en nitrates. Elles peuvent induire d'autres oxydations. Ainsi, l'oxygène fixé sous l'influence d'une oxydo-réductase, peut déterminer une oxydation secondaire, en présence d'une peroxydase, s'il se forme de l'eau oxygénée ou un autre peroxyde au cours de la réaction. Lorsque la xanthine-oxydase du lait agit sur la xanthine ou sur l'hypoxanthine en présence d'oxygène moléculaire, l'eau oxygénée qui se forme constitue avec la peroxydase du lait, un couple oxydant, capable, comme Harrison et Thurlow l'ont reconnu, de changer un nitrite en nitrate, et d'oxyder un constituant du lait soluble dans l'éther, qui est sans doute un acide gras éthylénique. Enfin, en présence d'un sel de fer, l'oxydation de l'acide lactique et celle de l'acide  $\beta$ -oxybutyrique peuvent être effectuées par les peroxydases. Il est extrêmement probable que toutes ces réactions existent chez les êtres vivants.

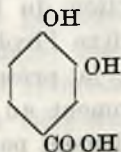
Nous venons de rappeler que le lait renferme une peroxydase. Le sang donne aussi les réactions caractéristiques par son hémoglobine, qui est thermostable, et, peut-être, par une peroxydase thermostable. Depuis 1925, Keilin a reconnu l'existence, dans toutes les cellules (sauf dans les bactéries anaérobies) d'un pigment respiratoire contenant du fer, et possédant les propriétés d'une peroxydase thermostable, le cytochrome.

Par des précipitations fractionnées du suc de *Lactarius vellereus*, traité par l'alcool, Bach et Chodat avaient obtenu deux substances,

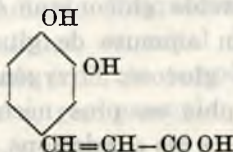


dont l'une oxydait peu la teinture de gaïac, l'autre étant inactive, et dont le mélange la colorait fortement. La deuxième substance avait les propriétés d'une peroxydase. La première, considérée comme formant un peroxyde à l'air, avait été nommée par eux **oxygénase**.

D'après *Onslow*, sans addition d'eau oxygénée, les sucres de la plupart des phanérogames bleussent la teinture de gaïac. Traités par l'alcool, ils donnent un précipité diastasiqne et un substrat soluble, tous deux inactifs, tandis que leur mélange colore la teinture. Comme le substrat verdit en présence de chlorure ferrique, il contient probablement un dérivé de la pyrocatechine. De fait, il peut être remplacé, non seulement par ce diphenol, mais par nombre de ses dérivés, dont l'acide protocatechique et l'acide caféique.



acide protocatechique



acide caféique (3, 4, dioxycinnamique)

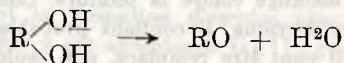
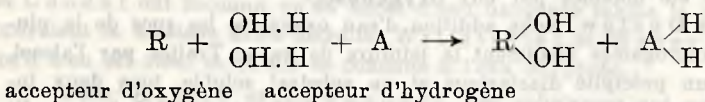
Les solutions aqueuses de ces ortho-diphénols s'autoxydent à l'air, avec formation d'un pigment brun et d'un peroxyde, qui peut être l'eau oxygénée. Une diastase catalyserait ces oxydations. *Onslow* la nomme oxygénase, et soutient que celle de *Bach* et *Chodat* n'est que le mélange d'un composé pyrocatechique et de cette diastase, non isolée.

Comme l'orthoquinone bleuit le gaïac, *Szent-Györgyi* préfère admettre que des composés phénoliques sont transformés en quinones par les oxydases végétales. *Pugh* et *Raper* ont montré que la tyrosinase donne cette réaction; *Wieland* et *Fischer*, que l'oxydase extraite par eux de *Lactarius vellereus*, transforme respectivement en para et ortho-quinone, l'hydroquinone et la pyrocatechine. Il semble donc, que l'oxygénase d'*Onslow* sera identifiée, soit à une tyrosinase, soit à une polyphénolase telle que la laccase. Son nom ne saurait être retenu, comme désignant un nouveau type de catalyseurs, que si on ne décèle ni tyrosinase ni laccase, dans les sucres qui activent l'oxydation de la pyrocatechine. Ce qui semble fort improbable, vu la diffusion de ces agents.

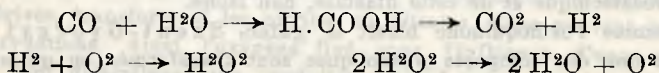
Les pages précédentes résument à grands traits nos connaissances sur les diastases, qui, n'exigeant la présence d'aucun accepteur d'hydrogène pour agir, paraissent activer directement l'oxygène. On peut remarquer qu'elles provoquent surtout la transformation de substances, comme les phénols et les polyphénols, douées de propriétés réductrices, c'est à dire dont une partie au moins de l'hydrogène est déjà, actif.

Une des propriétés les plus frappantes des tissus et d'un grand nombre de leurs extraits, est de provoquer des oxydations

en l'absence d'oxygène libre. Une condition nécessaire de ces phénomènes est évidemment la présence d'un corps réductible. B a c h les expliquait par la décomposition de molécules d'eau:



Nombre de réactions de ce type sont connues. On prépare, par exemple, l'acide gluconique  $\text{C}^6\text{H}^{12}\text{O}^7$  par action du brome sur une solution aqueuse de glucose: le brome fixe l'hydrogène de l'eau, et le glucose, l'oxygène. D'autre part, la présence d'eau semble de plus en plus nécessaire, à un moment au moins de presque toutes les oxydations, et cela, non seulement parce qu'elle provoque des ionisations, mais encore parce qu'elle forme, avec les corps dissous, des complexes, composés d'addition capables de changements intramoléculaires. W a r t e n b e r g et S i e g ont prouvé que la combustion de l'oxyde de carbone s'effectue par les réactions:



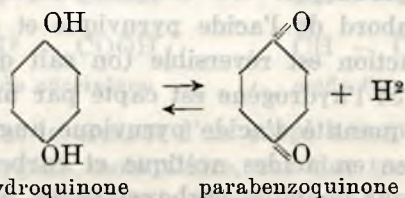
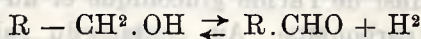
Un phénomène a priori aussi simple que  $\text{CO} + \text{O} \rightarrow \text{CO}^2$ , impliquant cette série de réactions, il n'y a rien d'étrange à ce qu'en biochimie la distinction entre les oxydations directes et indirectes tende à s'atténuer. De plus, dans les réactions précédentes, le départ de l'hydrogène est le fait essentiel. Il en est ainsi dans nombre d'oxydations, où le facile abandon de cet élément semble une condition nécessaire, et qu'il faudrait considérer surtout comme des deshydrogénations. La plupart même des catalyseurs biologiques n'activerait pas l'oxygène, mais certains atomes d'hydrogène qui se fixeraient sur des accepteurs. Les travaux de W i e l a n d et ceux de T h u n b e r g ont prouvé qu'il en est souvent ainsi: les oxydations de nombreux corps organiques, celles notamment qui ont la plus grande importance en physiologie, seraient caractérisées par un départ d'hydrogène, et s'il y a, en dernier lieu, addition d'oxygène, celui-ci provient le plus souvent de l'eau.



Toutes les oxydations qui s'accomplissent en „anaérobie“ seraient de ce type. Une hydrogénation s'effectuerait simultanément, ce que l'on exprime en indiquant la présence d'un couple oxydo - réducteur.

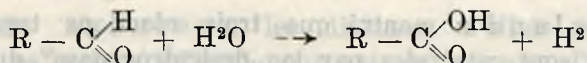
L'hydrogène activé doit être capté par un accepteur convenable, qui est, soit l'oxygène, soit un autre corps aisément réductible. Les composés quinoniques, le bleu de méthylène, par exemple, peuvent jouer ce rôle, et l'on sait depuis longtemps qu'il existe dans les tissus des corps avides d'hydrogène.

Les premières recherches de Wieland ont porté sur les catalyses provoquées par le palladium. Fréquemment employé pour réduire des composés organiques, ce métal déclenche des réactions réversibles, non seulement à haute température, mais encore à celle du laboratoire. On a, par exemple:



Ces phénomènes s'effectuant malgré l'absence d'oxygène libre, il faut bien admettre que l'apparente oxydation résulte du départ d'hydrogène labile capté par le palladium. Et ces réactions peuvent se poursuivre dans le sens d'une oxydation, pourvu qu'un accepteur d'hydrogène en dépossède le métal. L'influence du palladium s'exerce donc parce qu'il active, non pas l'oxygène pour donner un peroxyde, mais certains atomes d'hydrogène.

L'interprétation des faits reste analogue dans nombre de cas où l'oxygène se fixe sur une molécule, et, par exemple, lorsque les aldéhydes, sous forme de leurs hydrates, donnent des acides en présence de palladium et d'un accepteur d'hydrogène:



Cette sorte de réaction, si elle exige pour se poursuivre la présence d'un corps aisément réductible, exige pour s'amorcer un catalyseur convenable. Dans l'exemple précédent, ni les aldéhydes ne sont oxydés, ni le bleu de méthylène réduit, tant qu'on

n'ajoute pas de palladium. C'est donc ce métal qui active l'hydrogène.

Dans les organismes, l'existence de réactions de cet ordre semble hors de doute. Mais cela n'exclut pas la possibilité d'autres oxydations, et Dakin rappelle justement, que, dans des conditions il est vrai différentes, Baeyer et Villiger ont vu des aldéhydes s'oxyder après formation d'un peroxyde.

Pour pouvoir appliquer en biochimie la théorie de Wieland, une condition préalable est que les composés auxquels les organismes empruntent de l'énergie puissent subir des deshydrogénations. En particulier, les produits du catabolisme digestif doivent être, anaérobiquement, oxydables par le palladium en présence d'un accepteur d'hydrogène.

Il en est ainsi de l'acide gluconique et du glucose, oxydés jusqu'à l'acide carbonique. Au contact du palladium, l'acide lactique donne d'abord de l'acide pyruvique et de l'hydrogène; à ce stade, la réaction est réversible (on sait qu'elle s'effectue dans l'économie). Si l'hydrogène est capté par un accepteur, tel que l'oxygène, la quantité d'acide pyruvique augmente, puis cet acide se décompose en acides acétique et carbonique. Résultat semblable à celui que donne la carboxylase de Neuberger, qui transforme l'acide pyruvique en acétaldéhyde et acide carbonique, l'hydrate de l'aldéhyde étant ensuite deshydrogéné en acide acétique. Peut-être y a-t-il, dans l'un et l'autre cas, identité d'action.

Nombre d'autres phénomènes, considérés jusqu'alors comme caractéristiques de l'action d'oxydases, purent être obtenus, en l'absence d'oxygène libre, par deshydrogénation. Soit la réaction de Scharfingger: la réduction du bleu de méthylène par le lait s'accélère beaucoup en présence d'une aldéhyde; elle n'a plus lieu quand le lait a été bouilli. Un catalyseur thermolabile la conditionne donc; à son contact l'aldéhyde libère de l'hydrogène qui transforme le colorant en leucodérivé.

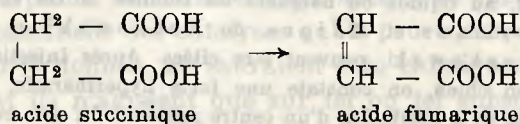
Wieland a montré que trois réactions typiques des aldéhydes sont catalysées par la „deshydrogénase“ du lait non bouilli: leur oxydation par l'oxygène moléculaire, la réduction de colorants quinonoïdes comme le bleu de méthylène, la réaction de Cannizzaro. Ces trois actions catalytiques, qui avaient été attribuées à une oxydase, à une réductase et à une aldéhydo-



mutase, sont l'oeuvre d'un seul ferment, **une deshydrogénase ou déhydrase**, fonctionnant comme le palladium.

Remplaçant ce métal par le mycoderme du vinaigre, vivant ou mort, c'est à dire par la diastase qu'il sécrète, et employant le bleu de méthylène ou une quinone comme accepteur d'hydrogène, Wieland a pu transformer de l'alcool éthylique en acide acétique, et montrer que le poids de l'acide est proportionnel à celui du colorant réduit.

Des séries de phénomènes, attribués à des oxydases ou à des réductases, s'intègrent dans les réactions amorcées par des déhydrases, dont ils sont un des stades. Parfois deux sortes de catalyseurs paraissent agir. Sous l'influence de la succinoxydase, avec laquelle il se combine très probablement, l'acide succinique, devenu réducteur passe à l'état d'acide fumarique:



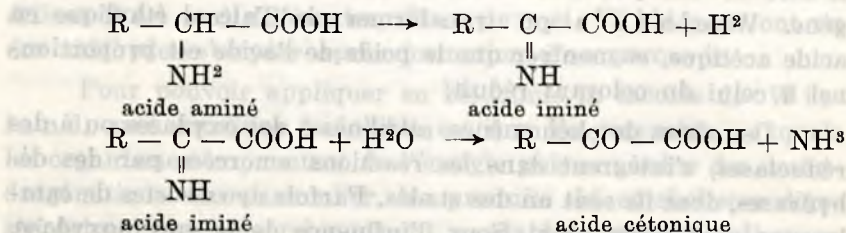
Mais il faut le contact d'un corps assez réductible. Tel ne semble pas l'oxygène moléculaire, car des traces d'un cyanure suffisent pour en empêcher la réduction, sans qu'elles paraissent agir sur le complexe acide-oxydase, qui continue à décolorer le bleu de méthylène. Il est probable, et généralement admis, que le cyanure paralyse un activateur d'oxygène. Pour que l'acide succinique soit oxydé dans les tissus, il faut donc, non seulement qu'il s'y transforme en réducteur actif, mais encore qu'il y rencontre de l'oxygène activé ou un autre corps très réductible. En particulier, le glutathion, pourtant très aisément réduit, n'est pas assez instable pour jouer le rôle de cet accepteur d'hydrogène.

Ce qui précède s'applique vraisemblablement à l'oxydation des autres acides gras saturés.

D'après Thunberg, les diastases d'effets analogues à ceux du palladium, exigent pour agir la présence d'un corps oxydable, dont l'hydrogène est activé, et d'un accepteur, que l'hydrogène activé réduit. L'existence, dans les tissus vivants, **d'oxydo-réductases ou déhydrases** de cette espèce, a été prouvée; elles y sont très répandues. On les décèle par leur propriété de

provoquer l'oxydation d'un substrat, en présence d'un accepteur d'hydrogène, et à l'abri de l'oxygène.

Leur rôle serait extrêmement important. Wieland et Bergel leur attribuent même la désamination, dans l'économie, des acides aminés, et leur transformation en acides cétoniques:



Une épreuve de la théorie de Wieland pourrait être cherchée pour chaque classe d'organismes, en ajoutant un accepteur d'hydrogène assez inoffensif, au liquide où baignent les cellules. A cet égard, les expériences de Heymans et Maigre, de Koskowski et Maigre, de Dadlez et Koskowski, peuvent être citées. Après injection de bleu de méthylène, à un chien, on constate une forte hyperthermie, qui n'est due ni à la paralysie ni à excitation d'un centre nerveux. In vivo comme in vitro, l'accepteur d'hydrogène semble donc rendre possibles, ou intensifier, des oxydations.

L'analyse des phénomènes montre une causalité plus complexe. Le colorant paralyse les terminaisons des nerfs parasympathiques, parmi lesquels se rangent, très probablement, les thermo-inhibiteurs; sans doute en résulte-t-il une plus forte élévation de la température. Le système parasympathique du foie s'opposant à la transformation du glycogène en glucose, sous l'influence du bleu de méthylène de l'hyperglycémie se constate, comme il était facile de le prévoir. Et l'excès de combustion s'effectue bien aux dépens du glucose, puisqu'après quelques jours de jeûne, la réserve de glycogène étant épuisée, les injections n'ont plus d'effet thermique. Toutefois le sucre n'est pas complètement brûlé. Sous forme de glycogène, il s'accumule dans les muscles, en quantité d'autant plus grande que la circulation y est plus active. Au cours de ces expériences, où, les animaux restent calmes, il n'y a pas de travail musculaire (sauf celui qu'exige la polypnée), un excès d'oxygène dans le sang ne paraît pas suffire pour que s'effectue la combustion complète du glucose. Cela semble conforme à la théorie de Wieland.

L'hyperthermie n'est pas immédiate, mais commence vingt à trente minutes après la première injection, quand la respiration est devenue plus profonde et plus rapide. Quand, exceptionnellement, le rythme de celle-ci ne se modifie pas, il n'y a pas d'élévation de la température. Toutefois, ces modifications respiratoires (qui augmentent l'absorption d'oxygène et rendent les combustions plus massives ou plus complètes) sont précédées et causées par une accumulation dans le sang d'acide lactique et d'autres



produits de la destruction des glucides, qui agissent sur les centres respiratoires. Avant tout appel d'oxygène, il y a donc eu combustion, plus ou moins parfaite, mais certainement plus grande, de ces corps.

Enfin, l'injection d'autres paralysants du système parasympathique même quand leur puissance est supérieure à celle du bleu de méthylène, provoque une hyperthermie beaucoup moins forte que celle due à ce colorant. Celle-ci ne semble donc pas pouvoir être entièrement attribuée au trouble du système nerveux.

Les espèces chimiques qui déclenchent ou accélèrent, dans la cellule vivante, les processus d'oxydo-réduction, doivent être de plusieurs ordres. Parmi ces agents, les uns semblent se trouver dans les phases semi-liquides des cellules, et posséder les caractères des diastases; les autres, comme *W a r b u r g* l'a montré, sont plus étroitement associés aux parties solides, peut-être parce que des adsorptions ou d'autres phénomènes de surface, forment une partie essentielle des catalyses qu'ils provoquent. Ceux même d'une catégorie donnée, ne sauraient être chimiquement semblables. Souvent ils n'agissent que sur tel ou tel substrat; de plus, *Battelli* et *Stern*, *Thunberg*, d'autres biologistes, ont trouvé de grandes différences dans leur stabilité. Lorsqu'ils sont thermostables on ne saurait les considérer comme des ferments.

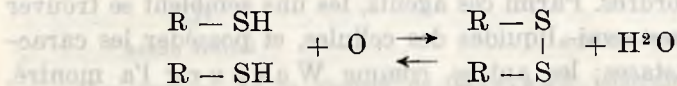
Tels sont les vecteurs des groupements disulfure et thiol: **le couple cystine-cystéine, et surtout les deux formes du glutathion**, solubles dans l'eau, qui, pour ce motif, doivent subir plus aisément des oxydations réversibles.

Reprenant, en 1888, des expériences de *J. B. Dumas*, de *Rey-Pailhade* découvrit que les cellules de levure et leurs extraits aqueux transforment le soufre en hydrogène sulfuré. Cette hydrogénation du soufre à froid, phénomène exceptionnel, comparable seulement à l'action de l'acide iodhydrique, s'effectue au contact de nombreux tissus. Ceux qui produisent le plus d'hydrogène sulfuré, sont aussi ceux qui consomment le plus d'oxygène. Un lien apparaissant ainsi entre les deux faits, de *Rey-Pailhade* put soutenir que l'hydrogène labile des tissus joue un rôle essentiel dans la respiration. Il nomma **phiothion** le vecteur de cet hydrogène.

En 1907, *Heffter*, frappé de l'analogie que le pouvoir réducteur des tissus animaux offre avec celui de la cystéine,

et ceux des acides thioglycolique et thiolactique, constatata par la réaction du nitroprussiate la présence dans ces tissus d'un radical sulfhydryle actif<sup>1</sup>). Il supposa que les propriétés réductrices du protoplasme sont dues, au moins en partie, à des groupes — SH, et que les groupes — S—S — qui résultent de leur deshydrogénation, avides d'hydrogène, peuvent, en le fixant, oxyder certains corps.

Pour qu'il en soit ainsi, il faut évidemment que l'oxydation spontanée de deux de ces groupes thiol en un groupement disulfure, soit une réaction réversible:



La cystine pouvant être réduite en cystéine par le sulfite de soude, H e f f t e r admit, dans les cellules, l'existence d'un accepteur d'oxygène, qui, comme le sulfite, décompose une molécule d'eau et en fixe l'oxygène, l'hydrogène mis en liberté réduisant le groupe disulfure.

Comme des extraits de tissus ne contenant pas de protéines, donnent souvent une vive coloration avec le nitroprussiate, A r n o l d en conclut que de la cystéine s'y trouve libre, et lui attribua les phénomènes supposés par H e f f t e r. Mais rien ne prouvait la présence de cystéine libre dans les cellules. Et, pour suggestives qu'elles fussent, les considérations précédentes restèrent hypothétiques, tant qu'un composé bien défini, réagissant au nitroprussiate, n'eut pas été extrait des tissus. H o p k i n s parvint à le séparer.

En 1921 il isola, de la levure, puis du muscle et du foie, un corps, le glutathion, qui existe dans tous les tissus de vie active. Le plasma sanguin en renferme tout au plus des traces, ce qui confirme l'opinion, de mieux en mieux établie, qu'il ne s'y passe aucune oxydation importante.

<sup>1</sup>) Rappelons que cette réaction, très délicate, servit en 1901 à M ö r n e r pour déceler la cystéine. Une coloration pourpre-permanganate apparaît lorsqu'on ajoute à l'extrait du tissu (ou au liquide où celui-ci se trouve plongé) quelques gouttes d'une solution à 5% de nitroprussiate de potasse, puis un excès d'ammoniaque.

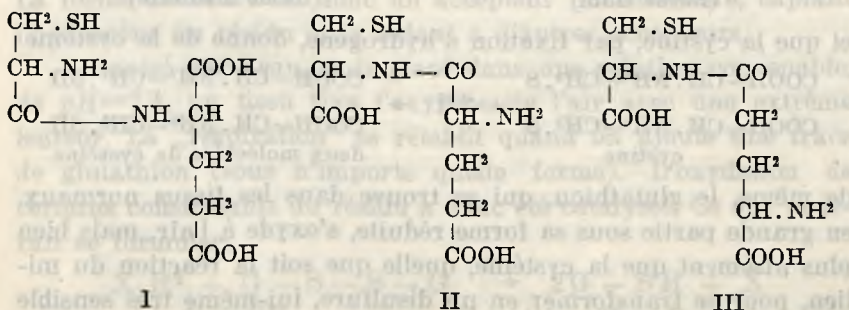


Un extrait aqueux de levure obtenu par ébullition et presque neutralisé par la soude est traité par l'acétate de plomb, et le précipité repris par l'acide sulfurique jusqu'à absence de coloration avec le nitroprussiate. On ajoute au liquide obtenu de l'acétate d'urane puis de la baryte, et on sépare le baryum, du filtrat, par l'acide sulfurique en léger excès. Ainsi se trouvent éliminés tout l'acide phosphorique, et la plupart des peptides précipités par le plomb. Après une nouvelle précipitation par le sulfate mercurique on décompose le précipité par  $H^2S$  dont un courant d'air chasse l'excès. On ajoute de l'acide sulfurique demi-normal et de l'acide phosphotungstique dissous dans cet acide; on filtre, élimine l'acide phosphotungstique par la baryte, et précipite le baryum à l'état de sulfate. Nouvelle précipitation par le sulfate mercurique, et décomposition du précipité par  $H^2S$ . On ajoute un excès d'hydrate cuivrique récemment préparé, puis de la soude jusqu'à complète précipitation. Le précipité est décomposé par  $H^2S$ , et de la baryte versée jusqu'à alcalinisation légère. On oxyde enfin par un courant d'air jusqu'à qu'il n'y ait plus de coloration avec le nitroprussiate. On débarrasse du baryum et de l'acide sulfurique, si nécessaire, concentre sous pression réduite, et abandonne dans l'alcool absolu jusqu'à obtention d'un produit anhydre, friable.

Un kilo de levure ou de muscle en fournit 0,1 *gr* à 0,15 *gr*; le foie, le rein et la rate, en donnent, davantage; les surrénales en contiennent le plus. D'après Holden, la quantité de glutathion contenue dans les globules rouges dépasse 0,05 *gr* par litre de sang.

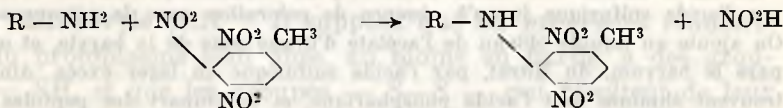
Tunncliffe dose le glutathion d'un tissu en le broyant et en l'épuisant par une solution aqueuse d'acide trichloracétique à 10/100 jusqu'à absence de coloration avec le nitroprussiate, puis titrant avec une solution d'iode centinormale, en présence d'empois d'amidon. Chaque cc. employé correspond à 2,5 mg de glutathion réduit.

L'analyse élémentaire de ce composé donne la formule  $C^6H^{14}O^5N^2S$ . Par hydrolyse acide, il se décompose en acide glutamique et cystine. La cystéine remplace le cystine dans ce dipeptide, quand il n'est pas oxydé. Sa structure se représente alors nécessairement par une des formules:



Quastel, Stewart et Tunncliffe, ont démontré que la formule III est celle du glutathion. Ils ont d'abord prouvé que la liaison peptidique se fait par le groupement amidogène de la cystéine, et non par celui de

l'acide. Ainsi, le 2, 3, 4, trinitrotoluène possède le pouvoir de se combiner avec les groupes amidogènes:



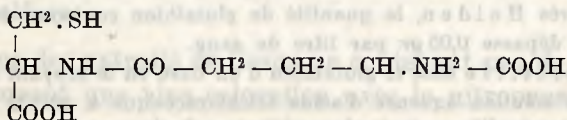
Son produit d'addition avec le dipeptide donne, après hydrolyse, de la cystéine libre: le trinitrotoluène a réagi avec le groupement amidogène de l'acide, qui se trouvait donc libre dans le glutathion, et la formule I doit être éliminée.

Pour savoir lequel des deux carboxyles a réagi avec le groupe amidogène de la cystéine, Quastel, Stewart et Tunnicliffe ont utilisé une réaction décrite en 1905 par Dakin. Oxydés par l'eau oxygénée, en présence d'une trace de fer, les acides aminés donnent les acides gras immédiatement inférieurs:

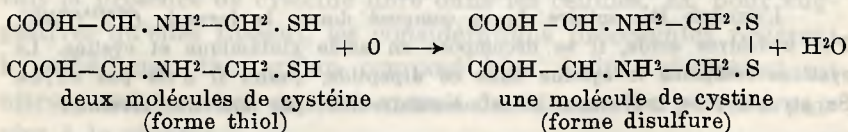


Ainsi l'acide glutamique se décompose avec formation d'acide succinique.

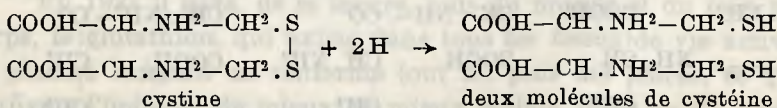
Attaqué par l'eau oxygénée, le glutathion, après hydrolyse du produit obtenu, donne de l'acide succinique libre. Sa formule est donc la formule III:



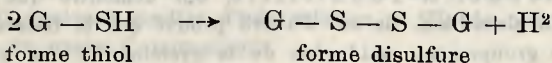
De même que la cystéine se change en cystine par oxydation:



et que la cystine, par fixation d'hydrogène, donne de la cystéine:



de même, le glutathion, qui se trouve dans les tissus normaux, en grande partie sous sa forme réduite, s'oxyde à l'air, mais bien plus aisément que la cystéine, quelle que soit la réaction du milieu, pour se transformer en un disulfure, lui-même très sensible aux réducteurs:







Le glutathion réduit serait alors, dans la cellule, un formateur de peroxydes. Des expériences de Thurlow semblent le démontrer: après addition de glutathion-disulfure, quis d'une peroxydase à un tissu lavé, les nitrites sont transformés en nitrates. De l'eau oxygénée a dû se former sous l'influence du glutathion réduit.

Sans doute est-ce par l'intermédiaire de ce peroxyde que le glutathion-thiol accélère beaucoup l'oxydation des acides gras non saturés, soit combinés à la glycérine, soit engagés dans des combinaisons du type des lécithines, l'oxygène fixé étant en quantité directement proportionnelle au poids du glutathion ajouté. Dès que celui-ci est, tout entier, ramené à la forme disulfure, l'oxydation redevient très lente. Les tissus épuisés par l'eau n'ont aucune influence sur ce processus. Mais, pour lui donner une intensité considérable, il suffit de leur adjoindre une trace de glutathion, même sous la forme disulfure. Il semble difficile de rapporter ce phénomène à une autre cause que la réduction continue de  $G-S-S-G$  par  $X.H^2$ . C'est elle qui permettrait de comprendre nombre d'oxydations intracellulaires.

Il est probable que le glutathion joue un rôle dans la dégradation du glucose ou dans les transformations que subissent certains de ses dérivés, comme l'acide lactique. En milieu neutre ou alcalin, des protéines renfermant le groupe thiol peuvent être oxydées par ce dipeptide. Tous ces phénomènes dépendent, en effet, du  $pH$ . Par exemple, dans un milieu où sa valeur est 6,8, les tissus réduisent très imparfaitement le bleu de méthylène; dès qu'elle atteint 7,4, la réaction s'accélère. Ce qui semble indiquer, qu'en milieu acide le groupe disulfure agit à peu près uniquement comme accepteur d'hydrogène, le composé formé exigeant un milieu neutre ou légèrement alcalin, pour devenir assez instable, et céder aisément son hydrogène à un autre accepteur.

Même en présence de glutathion réduit, les tissus épuisés par l'eau n'accélèrent pas l'oxydation des acides gras saturés, notamment celle de l'acide succinique.

D'après Warburg et Sakuma, la transformation de la cystéine en cystine par l'oxygène atmosphérique, n'aurait lieu qu'en présence de fer. D'après Hopkins, Harrison et Thurlow, l'autoxydation de  $G-SH$  en  $G-S-S-G$  serait pre-



sque inexistante en son absence, ou encore lorsqu'il est capté par un cyanure. D'après T o d a, la présence de fer serait indispensable pour que la cystéine réduise le bleu de méthylène. S'il en est bien ainsi, ces faits apportent à la théorie de W a r b u r g une confirmation inattendue.

Dans des cellules en large contact avec l'air, comme les globules rouges et les oeufs d'animaux aquatiques, W a r b u r g avait trouvé que la partie de la cellule où les oxydations s'effectuent avec le plus d'intensité, est aussi la moins fluide. Par exemple, les globules rouges des oiseaux captent beaucoup plus d'oxygène que ceux des mammifères. Après hémolyse, et forte centrifugation, l'hémoglobine et le protoplasme semi-liquide se trouvent à la surface, les parties plus solides, notamment les noyaux, dans la couche profonde, qui, seule, respire. Les globules ont-ils été broyés, la respiration cesse complètement, ce qui semble bien indiquer que la structure des cellules n'est pas négligeable.

Comme le noir animal catalyse de la même manière que les cellules les oxydations de l'acide oxalique, de la leucine, de la cystéine, d'autres composés, et comme les narcotiques, par exemple l'alcool et l'uréthane, entravent d'une manière analogue toutes ces réactions, leur pouvoir inhibiteur étant proportionnel à leur capacité d'être adsorbés, pour W a r b u r g le catalyseur de ces phénomènes ne peut être que le fer.

L'acide cyanhydrique, à très faible concentration, empêche l'oxydation par les cellules, aussi nettement que celle provoquée par le noir: ce serait la conséquence d'une action chimique sur les surfaces, où le fer passerait à l'état de cyanure. W a r b u r g se représente ces surfaces comme formées de particules tantôt riches en fer, tantôt dépourvues de ce métal, les premières, seules, étant capables de déclencher les oxydations. Une très petite quantité d'acide cyanhydrique suffirait pour les paralyser. Il conclut que la respiration se produit à la surface, parsemée de fer, des constituants solides de la cellule. C'est, dit-il, un phénomène de surface, catalysé par le fer.

Conclusion sans doute trop absolue, et critiquée par W i e l a n d, qui, notamment, rappelle que le fer ne semble pas agir sur nombre de corps, tels que le glucose et les acides gras, dont l'oxydation s'effectue pourtant dans les organismes. De plus, l'acide cyanhydrique n'inhibe pas que des catalyses d'oxyda-

tion; son influence anticatalytique est un fait général, qui ne peut être expliqué par la formation d'un composé métallique.

Dixon et Thurlow ayant reconnu que ni les cyanures, ni les pyrophosphates, ne gênent l'action de la xanthine-oxydase, concluent aussi qu'il se trouve, dans les cellules, des catalyseurs d'oxydation exempts de fer.

La preuve de sa théorie n'a donc pas été donnée par Warburg.

Depuis 1925, Keilin, reprenant les recherches spectroscopiques de MacMunn, a mis en évidence, dans tous les tissus des vertébrés, des invertébrés et des plantes supérieures, dans les protozoaires, les levures, les bactéries aérobies, un pigment, le **cytochrome**, qui contient du fer, et passe très aisément d'une forme oxydée à une forme réduite, celle-ci présentant un spectre caractéristique, à quatre bandes, dont la position varie très peu, quelle que soit l'origine du pigment. Les bactéries anaérobies ne possèdent pas de cytochrome.

A l'inverse de celui de l'hémoglobine, le spectre de ce corps est surtout net lorsqu'il est à l'état réduit. Au maximum d'intensité, les positions des bandes sont:  $a=6046$ ,  $b=5665$ ,  $c=5502$ ,  $d=5210$ , cette dernière étant décomposable en trois parties. Après oxydation, le spectre, à peine perceptible, montre deux bandes.

Divers facteurs retardent l'oxydation ou la réduction du pigment. Parmi les premiers sont les cyanures de potassium et d'éthyle; parmi les seconds, l'uréthane, l'alcool, les aldéhydes, l'abaissement de la température.

Le cytochrome n'a pas été isolé. Les modifications de son spectre dans diverses circonstances permettent même d'affirmer qu'il est constitué par le mélange de trois hémochromogènes, capables de s'oxyder et de se réduire d'une manière indépendante et sans doute formés par combinaisons d'hématine intracellulaire libre avec des composés azotés. Keilin, en effet, a constaté qu'une telle hématine existe chez les êtres vivants les plus divers, excepté chez les anaérobies.

Cette hématine libre se décèle par le microspectroscope. Après réduction, elle donne avec la pyridine, un hémochromogène dont les bandes d'absorption sont très nettes. Pour obtenir un composé ayant un spectre d'absorption semblable à celui du cytochrome, il suffit de réduire un hémochromogène formé par la combinaison d'hématine avec la pyridine, la globine ou la nicotine.

Lorsque, sous l'influence des alcalis et de la pyridine, les constituants du cytochrome ont été transformés, ils peuvent se combiner à l'oxyde de carbone.





se forme seulement  $CuS$ ,  $NaCl$  et  $H^2O$ , on voit apparaître, dans l'épaisseur de la paroi, un précipité de sulfure cuivrique  $CuS$ ; dans la solution sulfurée des polysulfures dont quelques-uns sont stables, ce qui implique, à côté de  $Na^2S^2$  et de  $Na^2S^3$ , des molécules de  $Na^2S^4$  et, peut-être, de  $Na^2S^5$ ; dans la solution cuivrique du chlorure cuivreux, ainsi que du cuivre métallique adhérent à la paroi, et du soufre amorphe, précipité sans que la présence de composés oxygénés soit appréciable. Cette expérience, dite phénomène de César Becquerel, reproduite dans le vide par Girard et Platard, réussit avec d'autres sels de cuivre (nitrate, sulfate, acétate), avec des sels d'argent, de zinc et d'étain; parfois, comme c'est le cas pour le fer, la réduction ne dépasse pas le stade correspondant au sel de protoxyde.

La cause des anomalies observées ne peut être que la propriété de la paroi d'être inégalement perméable aux ions des deux milieux. Girard les explique ainsi:

Dans l'exemple précédent, le septum, où s'est déposé un précipité de sulfure cuivrique, devient imperméable aux ions  $Cu^{++}$ , mais laisse passer les ions  $Cl^-$  vers la solution sulfurée. Inversement, il ne passe pas d'ions  $S^{--}$  vers le chlorure, le soufre qu'on trouve dans cette solution étant amorphe. Quant au passage des ions  $Na^+$ , il dépend des concentrations (équimoléculaires dans l'expérience), la perméabilité ne commençant à devenir notable qu'à partir des dilutions N/20. Les variations du  $pH$  dans la solution cuivrique, montrent les quantités d'hydrogène diffusées sous forme d'ions  $H^+$  environ mille fois moindres que celles qui auraient été équivalentes au chlore diffusé vers la solution du sulfure sous forme d'ions  $Cl^-$ . Cette quantité d'ions  $H^+$  renseigne sur la quantité d'ions  $OH^-$  qui passe en sens inverse, puisque l'analyse ne laisse supposer aucun corps autre que l'eau, où figurent des ions  $OH^-$ .

L'imperméabilité de la paroi aux ions  $Cu^{++}$ , le passage vers la solution sulfurée d'ions  $Cl^-$ , tandis qu'en sens inverse il ne diffuse pas d'ions  $S^{--}$ , devrait avoir pour conséquence, puisque la compensation ne se fait pas par l'échange d'autres ions, l'apparition dans la solution sulfurée, d'un excès de charges négatives, et, dans la solution chlorurée, d'un excès de charges positives. Comme un déséquilibre électrostatique est impossible, un mécanisme compensateur doit intervenir.

Cette compensation, les faits chimiques la révèlent. Lorsque les anions  $S^{--}$  du monosulfure passent à l'état de soufre amorphe, ou sont engagés à l'état de soufre neutre dans des molécules de polysulfure, de la zone électronique externe de ces anions, deux électrons se détachent. Ce sont eux qui neutralisent l'excès des charges positives apparaissant dans la solution chlorurée sous la forme d'ions  $Cu^{++}$ . Sur une partie de ces cations, deux électrons se placent dans la zone électronique externe, d'où dépôt de cuivre métallique. Sur une autre partie, un seul électron se place dans cette zone,

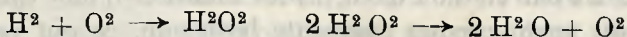


d'où les cations  $Cu^+$  monovalents qui figurent dans les molécules  $Cu^2Cl^2$ . La compensation du déséquilibre électrostatique, que tend à provoquer l'inégale perméabilité du septum, s'effectue par le passage d'électrons de certains anions sur certains cations. Elle n'est pas ionique, c'est à dire établie par échange d'ions, mais électronique. Les modifications de valence et même de polarité (un anion  $S^{---}$  devient un cation  $S^{++++}$ ) commandent l'apparition de molécules nouvelles ( $Na^2S^4$ ,  $Cu^2Cl^2$ ) et les oxydations-réductions constatées s'expliquent par des passages d'électrons.

Que l'interprétation soit celle de Girard ou toute autre, le phénomène de Becquerel n'en reste pas moins suggestif, la perméabilité sélective des parois vivantes semblant être une de leurs propriétés essentielles. Elle a été prouvée dans certains cas. Hamburger, notamment, a reconnu que, d'ordinaire, les métaux et les radicaux acides pénètrent à l'intérieur des hématies dans des proportions différentes. Girard, Mestrezat et Morax, ont expérimenté sur la cornée et les vaisseaux ciliaires de l'oeil vivant. Une solution isotonique d'un sel neutre baignait l'épithélium externe de la cornée; dans l'humeur aqueuse recueillie par ponction, les anions et les cations de ce sel étaient dosés, ce qui montrait une différence, le plus souvent considérable, dans les vitesses de passage.

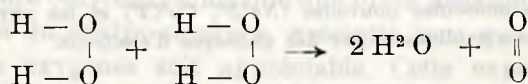
Ainsi, les surfaces de certaines cellules et de certains tissus, et, vraisemblablement celles de toutes les cellules, se comportent comme les septums qui provoquent le phénomène de Becquerel, et, comme eux, doivent amorcer des oxydations et les réductions corrélatives, ou réciproquement.

Alors même qu'elle doit être décomposée tout de suite, comme dans la réaction explosive des gaz oxygène et hydrogène, de l'eau oxygénée se forme:



Elle serait toujours le premier terme de la combinaison des deux corps. Schönbein, en tout cas, l'a trouvée dans toutes les oxydations lentes, à l'air humide, qu'il a étudiées. Elle doit aussi se former dans les tissus, notamment lorsque de l'hydrogène actif se fixe sur une molécule d'oxygène. MacLeod et Gordon, par exemple, ont prouvé que la substance qui arrête le développement des cultures bien aérées de pneumocoque, n'est autre que l'eau oxygénée qui s'y produit.

Ce peroxyde détruirait donc les cellules et même la plupart des diastases, si les organismes n'en neutralisaient pas les effets. Ils le font, très généralement, par l'intermédiaire de **catalases** qui décomposent l'eau oxygénée en eau et oxygène incapable de bleuir la teinture de gaïac :



Thénard, en 1818, avait étudié cette réaction; Schönbain en avait fait le prototype des catalyses. Elle est déclenchée par tous les tissus des animaux, et par presque tous ceux des végétaux, d'ailleurs très inégalement actifs. Ainsi, chez le cheval, d'après Battelli et Stern, le foie serait 60 fois plus riche que le muscle en catalase.

Oscar Loew, qui découvrit les catalases végétales, les considérait comme des diastases dédoublables en une nucléine, soluble dans les alcalis dilués, précipitée par l'acide acétique, et une albumose, soluble dans l'eau, précipitée par le sulfate d'ammonium à saturation. Pour Spitzer, c'étaient des nucléoprotéides contenant du fer. Morgulis et Leggett, en purifiant la catalase du foie, précipitée de l'extrait aqueux par l'acétone, obtinrent un produit très actif, renfermant du soufre, du phosphore et du fer, et qui, n'étant pas précipitable à ébullition par l'acide acétique étendu, ne donnait aucune des réactions des albumines ou des bases puriques, ni même la réaction du biuret.

Toutes les recherches faites depuis 1910 ont confirmé la conclusion de Loew. Ces diastases semblent bien n'exercer qu'une fonction protectrice. Par exemple, dans les expériences de MacLeod et Gordon, après addition d'une catalase, la vitalité du pneumocoque augmente beaucoup, ce qui permet de supposer que la substance contenue dans les extraits de tissus, qui active les cultures de ce microbe, n'est autre que leur catalase. De même, quand une base purique est attaquée par l'oxygène moléculaire sous l'influence de la xanthine-oxydase, Dixon trouve celle-ci peu à peu détruite par l'eau oxygénée qui se forme dans la réaction, tandis que la présence d'une catalase, d'ailleurs inactive sur le substrat, suffit pour qu'il soit entièrement transformé en acide urique.



Harrison et Thurlow ont insisté sur ce que, s'il s'y trouve aussi une peroxydase, la catalase d'un tissu n'empêche pas l'eau oxygénée de provoquer des oxydations. Chodat et Pasmnik ont, en effet, constaté que chacune des diastases agit alors sur une partie du peroxyde, et Thurlow, qu'en présence d'une peroxydase, l'addition d'une catalase n'inhibe pas complètement l'oxydation secondaire des nitrites, par l'eau oxygénée, qui se forme au cours de certaines oxydations diastasiques et non diastasiques.

Des recherches de Rywosch et de celles de Callow, il résulte que les microbes strictement anaérobies ne produisent pas de catalase, que les aérobies en possèdent, ce qui explique leur plus grande résistance à l'eau oxygénée.

In vitro, les catalases sont extrêmement sensibles à l'acide cyanhydrique. Cela porte à admettre que le fer est, chez elles, l'élément actif. Elles semblent bien ne décomposer que l'eau oxygénée, et n'agir sur aucun peroxyde organique. Cette stricte spécificité est en faveur d'une grande analogie, sinon d'une identité, de formule.

D'après Moureux et Dufraisse, c'est en catalysant la destruction du composé formé, que les **antioxygènes** s'opposent à la transformation des substances autoxydables. Les catalases peuvent donc être rangées parmi ces agents, avec les phénols (une molécule d'hydroquinone stabilise 40.000 molécules d'acroléine) et nombre de dérivés de l'iode et du soufre.

Le destruction mutuelle de peroxydes, réaction à la fois très rapide et très complète, permettrait de se représenter le mécanisme de ce processus. Moureux et Dufraisse en concluent que tout corps autoxydable doit pouvoir, dans certaines conditions, jouer un rôle antioxygène. De plus, disent-ils, si à la masse d'un corps autoxydable  $A$ , on ajoute une petite quantité d'un corps susceptible de réagir sur  $AO^2$  pour lui soustraire de l'oxygène actif, en donnant à côté de  $AO$  un peroxyde  $BO$ , deux phénomènes peuvent se produire: ou  $BO$  réagit sur  $AO$  avec réduction mutuelle des deux peroxydes, ou  $BO$  se laisse attaquer par  $A$ . Le composé  $BO$  se trouve sollicité par deux réactions. On observe un ralentissement de l'oxydation de  $A$ , si c'est la pre-

mière qui se produit, une accélération, si c'est la seconde. Le même catalyseur pourra donc fonctionner comme antioxygène ou comme pro-oxygène, et l'on conçoit que de faibles changements dans le milieu puissent suffire pour inverser son action. Dans certains cas, les deux réactions doivent s'effectuer simultanément. Le sens apparent du phénomène est alors donné par l'effet global de deux catalyses inverses.

De la très complète étude qu'ont faite M o u r e u et D u f r a i s s e de la fonction antioxygène, il faut surtout retenir, croyons-nous, non pas la critique des idées d' H o p k i n s sur le glutathion, qu'ils ont mal interprétées, mais la possibilité, et même la probabilité de l'existence d'antioxygènes dans les tissus, où les composés soufrés et phénoliques ne manquent pas, et cette notion, importante pour la pharmacodynamie de ce corps, que l'atome d'iode donne aux molécules un pouvoir catalytique souvent considérable, souvent antioxygène, et particulièrement inhibiteur de l'oxydation du phosphore.

M o u r e u et D u f r a i s s e ont admis, que, dans les cellules végétales, les tanins, phénol naturels, doivent modérer les oxydations. W o l f f avait déjà constaté, sur des tranches récemment sectionnées de fruits, qu'ils inhibent les phénomènes oxydasiqes. L u t z, qui retrouva ce fait chez les champignons hyméno-mycètes, l'attribue à l'oxydabilité des tanins par les oxydases végétales, qui serait supérieure à celle de tous les autres catalyseurs négatifs d'oxygène.

Sans aller jusqu'à inverser le problème, et soutenir, avec D e l é p i n e, que les substances organiques brûleraient spontanément à l'air, si elles n'étaient leurs propres antioxygènes, c'est à dire, si leur oxydation ne formait pas deux peroxydes antagonistes, on ne saurait négliger les catalyses négatives, capables, par exemple, d'empêcher dans les organismes des polymérisations sous l'influence de l'oxygène, et par conséquent des condensations en produits insolubles.

Souvent associées à des processus d'oxydation qu'elles permettent, les réductions biologiques ne sont pas moins importantes que ceux-ci. La synthèse de graisses à partir d'hydrocarbonés, qui s'effectue sur une grande échelle dans l'organisme animal, est un exemple souvent cité de ces phénomènes.



Leur mécanisme se conçoit aisément. Soit activé par une déshydrase, soit libéré dans une oxydo-réduction, l'hydrogène se porte sur le corps le plus réductible, et la formation de composés hydrogénés autres que l'eau prouve qu'il existe, dans certaines cellules, des systèmes dont le pouvoir de réduction l'emporte sur celui de l'oxygène.

On a tenté d'évaluer cette capacité de réduction des cellules, et celle de certaines de leurs parties.

La différence de potentiel entre une lame de platine, recouverte de noir de platine saturé d'hydrogène, et la solution où elle est plongée, permet d'en mesurer aisément le  $pH$ , si la pression partielle de l'hydrogène au voisinage de l'électrode est égale à une atmosphère. S'il n'en est pas ainsi, comme la différence de potentiel dépend de cette pression, réciproquement, celle-ci peut être calculée quand le  $pH$  et la différence de potentiel sont connus.

On désigne par  **$rH$  ou potentiel de réduction**, le logarithme népérien de l'inverse de cette pression d'hydrogène. Un  $rH$  élevé signifie que le milieu capte aisément ce gaz.

Le méthode électrométrique ne peut permettre de déterminer le potentiel de réduction des cellules. Mais Clark a établi une échelle de colorants, de plus en plus réductibles, dont la forme réduite n'a pas la même teinte que la forme oxydée. Etalonnés électriquement pour un  $pH$  égal à celui du milieu qu'on étudie, les virages de ces indicateurs permettent d'en mesurer le potentiel de réduction.

Injectant ces colorants dans les cellules, J. et D. Needham, Wurmser et Rapkine, entr'autres expérimentateurs, mesurent approximativement le  $rH$ . La valeur de ce potentiel serait la même dans le cytoplasme et dans le noyau, ce qui indiquerait que celui-ci n'est pas le siège d'oxydations plus énergiques. Chez le cobaye, le lapin et le chien, les cellules hépatiques et rénales, et les fibres musculaires, auraient un  $rH$  sensiblement égal à 20 en milieu anaérobie, variant entre 11 et 12 en présence d'oxygène. Le potentiel de réduction d'une cellule changerait très peu, ce qui permet de supposer l'existence d'un mécanisme régulateur.

## Indications bibliographiques.

- (1) Anson and Mirsky: Hemoglobin, the heme pigments and cellular respiration. (Physiological Reviews, 1930, t. 10, p. 506).
- (2) Battelli und Stern: Die Oxydation der Bernsteinsäure durch Tiergewebe. (Bioch. Zeitschr., 1911, t. 30, p. 172).  
Oxydation des p. Phenylendiamins durch die Tiergewebe. (Ibid. 1912, t. 46, pp. 317 et 343).
- (3) Clark: The determination of Hydrogen Ions. 3<sup>e</sup> édit., 1928, Baltimore, Williams and Wilkins.
- (4) Cole: Practical physiological chemistry. 8<sup>e</sup> édit., 1928, Cambridge, Heffer.
- (5) Dadlez et Koskowski: Les critères biochimiques dans la classification de la fièvre expér. (Arch. Int. Pharmacodynamie et de Thérapie, 1930, t. 38, p. 363).
- (6) Dakin: Physiological oxidations. (Physiological Reviews, 1921, t. 1, p. 394).
- (7) Delépine: Autoxydation des composés sulfurés. (Bulletin de la Société chimique de Belgique, 1924, t. 33, p. 339).
- (8) Dejust, Verne, Combes, Parat, Urbain, Dujarric de la Rivière, de Saint Rat: Etudes sur la chimie physiologique de la peau, 1928, Paris, Legrand.
- (9) Dixon: Studies on xanthine-oxidase. The specificity of the system. (Bioch. Journ. 1926, t. 20, p. 703). The function of catalase. (Ibid. 1925, t. 19, p. 507).
- (10) Dixon and Thurlow: Studies on xanthine-oxidase. A cell oxidation system independent of iron. (Bioch. Journ., 1925, t. 19, p. 672).
- (11) Duclaux: La chimie de la matière vivante, 1910, Paris, Alcan.
- (12) Estrade: Le philothion. Thèse de Toulouse, 1928.
- (13) Fabre: Les méthodes actuelles de purification des enzymes par adsorption. (Bulletin de la Soc. de Chimie Biol., 1923, t. 5, p. 432).
- (14) Fleury: Rapport entre l'activité diastasique et la réaction du milieu. (Bull. Soc. Chimie Biol., 1924, t. 6, p. 536). Recherches sur la laccase. Action de l'acide cyanhydrique. (Ibid., 1925, t. 7, p. 797).
- (15) Gallhager: Mechanism of oxidation in the plant. An investigation of substances capable of behaving as peroxidases. (Bioch. Journ., 1924, t. 18, p. 29).
- (16) Girard: Les processus biochimiques d'oxydation et de réduction et l'activation catalytique. (Bull. Soc. Chimie Biol., 1925, t. 7, p. 75).
- (17) Harrison: The catalytic action of traces of iron on the oxidation of cysteine and glutathione. (Bioch. Journ., 1924, t. 18, p. 1009).
- (18) Harrison and Thurlow: The secondary oxidation of some substances of physiological interest. (Bioch. Journ., 1926, t. 20, p. 217).
- (19) Heffter: Die reduzierenden Bestandteile der Zellen. (Medizinisch-naturwissensch. Aarch., 1908, t. 1, p. 81).
- (20) Holden: A note on the presence of glutathione in the corpuscles of mammalian blood. (Bioch. Journ., 1925, t. 19, p. 727).



(21) Hopkins: On an autoxidisable constituent of the cell. (Bioch Journ., 1921, t. 15, p. 286).

Les mécanismes des oxydations dans l'organisme vivant. (Bull. Soc. Chimie Biol., 1923, t. 5, p. 761).

Glutathione. Its influence on the oxidation of fats and protein. (Bioch. Journ., 1925, t. 19, p. 787).

(22) Kastle: The oxidases. (Hygienic Laboratory Bulletin, nr. 59, 1910, Washington).

(23) Lutz: Sur les ferments solubles catalyseurs d'oxygène, sécrétés par les champignons hyménomycètes. (Bull. Soc. Chimie Biol., 1928, t. 10, p. 826).

(24) Mac Cance: Tyrosinase. (Bioch. Journ., 1925, t. 19, p. 888)

(25) MacLeod and Gordon: Production of  $H^2O^2$  by bacteria. (Bioch. Journ., 1922, t. 16, p. 499).

(26) Morgulis: Die Katalase. (Ergebnisse der Physiologie, 1924, t. 23, p. 308).

(27) Moureu et Dufraisse: Sur l'autoxydation; essai sur le mécanisme de l'action antioxygène. (C. R. Acad. Sc., 1923, t. 176, p. 624).

Considérations sur l'autoxydation et les phénomènes qui s'y rattachent. (Institut Solvay; 2-e Conseil; 1926, Paris, Gauthier-Villars, p. 135).

(28) Needham J. and D.: The hydrogen ion concentration and oxidation-reduction potential in the cell interior. (Journ. of Physiology, 1924—25, t. 59, p. LXXVII).

(29) Quastel, Stewart and Tunnicliffe: On glutathione constitution. (Bioch. Journ., 1923, t. 17, p. 586).

(30) Raper: The aerobic oxidases. (Physiological Reviews, 1928, t. 8, p. 245).

(31) Stern: Ueber den Mechanismus der Oxydationsvorgänge. 1914 Jena.

(32) Thunberg: Die biologische Bedeutung der Sulfhydrylgruppe. (Ergebnisse der Physiol., t. 11, p. 328).

(33) Tunnicliffe: The occurrence and quantitative estimation of glutathione in tissues. (Bioch. Journ., 1925, t. 19, p. 194).

(34) Warburg: Ueber Beeinflussung der Sauerstoffatmung. (Zs. f. physiol. Chemie, 1910—11, t. 70, p. 413).

Ueber Hemmung der Blausäurewirkung in lebenden Zellen. (Ibid., 1911—12, t. 76, p. 331).

Ueber die Rolle des Eisens in der Atmung des Seeigels nebst Bemerkungen über einige durch Eisen beschleunigte Oxydationen. (Ibid., 1914, t. 92, p. 231).

Zellstruktur und Oxydationsgeschwindigkeit nach Versuchen an Seeigeln. (Pflüger's Arch., 1914, t. 158, p. 189).

Physikalische Chemie der Zellatmung. (Bioch. Zs., 1921, t. 119, p. 152).

Ueber die antikatalitische Wirkung der Blausäure. (Ibid., 1923, t. 136, p. 266).

Ueber die Grundlagen der Wielandschen Atmungstheorie. (Ibid., 1923, t. 142, p. 518).

(35) Warburg und Sakuma: Ueber die sogenannte Autoxydation des Cysteins. (Pflüger's Archiv, 1923, t. 200, p. 203).

(36) Waskman and Davison: Enzymes. 1926, Baltimore.

(37) Wieland: Studien über den Mechanismus der Oxydationsvorgänge. (Berichte, 1912, t. 45, p. 2606; 1913, t. 46, p. 3327; 1914, t. 47, p. 2085; 1921, t. 54, p. 2353).

Ueber den Mechanismus der Oxydationsvorgänge. (Ergebnisse der Physiol., 1922, t. 20, p. 477).

(38) Wolf: Sur le mécanisme de quelques phénomènes d'oxydation et de réduction dans les tissus de la pomme et d'autres végétaux. (Bull. Soc. Chimie Biol., 1914—19, t. 1, p. 3).



JERZY MODRAKOWSKI

## Kwasy i zasady jako czynniki lecznicze

Leczenie alkalkjami sięga zamierzchłych czasów; albowiem sama przyroda dostarczyła człowiekowi leki takie obficie w postaci źródeł alkalicznych, i ludzie wszystkich stref korzystali z nich od niepamiętnych czasów. Natomiast równoważnik leczniczy, t. j. leczenie kwasami — właściwie nie istniał wcale, aż do czasów nowoczesnych, kiedy fizjologia odkryła kwas solny w soku żołądkowym. Dopiero na tej podstawie zaczęto stosować kwas ten do wnętrza, jako środek leczniczy.

Powoli, opierając się na najelementarniejszych odczynach chemicznych, zakres stosowania zasad i kwasów, ograniczony najpierw głównie do leczenia chorób kanału pokarmowego, zaczął się nieco rozszerzać, obejmując różne zaburzenia przemiany materji, przy których alkalkja okazały się skutecznymi.

Wszakże i w tym kierunku przez długi czas nie umiano wyzyskać działania leczniczego czynników kwaśnych i ograniczano się prawie wyłącznie do alkalkterapii. Dopiero najnowsze zdobycze chemji i fizyki ostatnich kilkudziesięciu, a nawet tylko kilkunastu lat, przedewszystkiem nauka o istotnym (aktualnym) odczynie płynów — przeniesione na zjawiska biologiczne i fizjologiczne — zapoczątkowały zupełnie nowe, niezmiernie interesujące i ważne zakresy i sposoby stosowania alkalk i acido-terapii wprost we wszystkich dziedzinach medycyny, oraz postawiły kwasy narówni z zasadami, — jako czynniki antagonistyczne w patogenezie i w lecznictwie. Badania znaczenia odczynu aktualnego w obydwuch tych kierunkach są jeszcze w pełnym toku rozwoju. Choć daleko jeszcze do ich ukończenia, doprowadziły one już do ogromnie ważnych metod leczniczych,

tak, że nie tylko ograniczone koło specjalistów, lecz i szeroki ogół lekarzy praktyków musi je znać i umieć stosować.

Celem naszkicowania możliwie zwięzłego i przejrzystego obrazu stosowania leczniczego zasad i kwasów, rozpatrzmy najpierw działanie ich miejscowe t. j. na kanał pokarmowy — potem ich działanie ogólne — po wchłonięciu — na równowagę zasadowo-kwasową ustroju oraz na narządy wydzielnicze i wreszcie ich wpływ na działanie niektórych czynników farmakologicznych.

### 1. Działanie zasad i kwasów na kanał pokarmowy.

Zasady rozcieńczają i rozpuszczają śluz na wszystkich błonach śluzowych, nie tylko kanału pokarmowego; stąd stosowanie ich przy wszelkiego rodzaju nieżytach. Należy jednak zachować w tym miarę, gdyż niepomierne długi czas trwające stosowanie zasad — wskutek utraty mucyny — ze swej strony wywołuje stany nieżytowe. Zasady, według prawa równoważników chemicznych, zobojętniają kwas solny, oraz inne kwasy powstające w kanale pokarmowym.

1 gram kwasu solnego zobojętnia więc: około 2,3 dwuwęglanu sodowego, 1,4 węglanu wapniowego, 1,25 węglanu magnezu, 1,25 fosforanu amono-magnowego, 0,5 palonej magnezji, 1,25 fosforanu magnowego, 3,0 fosforanu wapniowego.

Po przejściowem zobojętnieniu jednakże, wszystkie węglany poczęści wskutek uwolnienia  $\text{CO}_2$  — poczęści także niezależnie od tego zjawiska, wywołują następce, nawet jeszcze silniejsze wydzielanie kwasu solnego. Odnosi się to zwłaszcza do węglanu sodowego. Wszakże związek ten, o ile dostaje się nierozłożony do dwunastnicy, stamtąd nie tylko nie pobudza, lecz przeciwnie obniża wydzielanie soku żołądkowego. Wobec tego w celu zahamowania wydzielania soku żołądkowego podaje się dwuwęglan sodowy lub odpowiednie mieszaniny zasad w roztworze izotonicznym godzinę przed jedzeniem, ponieważ takie roztwory najprędzej przechodzą przez żołądek do dwunastnicy. Mniej więcej izotonicznym jest 1,1—1,4% roztwór dwuwęglanu sodu, lub 1,5—2% soli karlsbadzkiej 2—3 × dziennie po 200  $\text{cm}^3$ . Jeżeli żołądek naczczo zawiera kwaśną wydzielinę, wówczas należy ją najpierw zobojętnić za pomocą magnezji palonej. Magnesium perhydrol ( $\text{MgO}_2$ ) również zobojętnia, a za-



razem hamuje wydzielanie soku żołądkowego; tak samo prawdopodobnie działa natrium aceticum, gdyż uwalniający się po jego rozkładzie kwas octowy ma powstrzymać wydzielanie soku żołądkowego. Dla zwalczania zgagi i palenia po jedzeniu — dawki zasad muszą być o wiele większe, w zależności od nadmiaru kwasu, który trzeba zobojętnić. Zapisujemy wówczas mieszaniny wymienionych soli, mając na uwadze, że sole magnezowe działają lekko przeczyszczająco, sole wapniowe zaś przeciwnie. Dodatek fosforanów, ze względu na ich działanie buforowe, może być uważany za korzystny. Poza tem fosforany wapnia i magnezu zobojętniając kwas w kanale pokarmowym nie wpływają wcale na odczyn krwi, więc nie wywołują alkalozy, gdyż wydzielają się głównie drogą jelitową na zewnątrz. Z tych własności należałoby korzystać przy forsownej alkaloterapii, np. przy leczeniu wrzodów żołądka i dwunastnicy metodą Sippy'ego. Polega ona na tem, że podaje się co godzinę mieszanekę zasad, zawierającą przeciętnie mniej więcej 0,3 magnezji palonej, 0,6 węgla wapnia i 2,0 dwuwęgla sodu, a nawet więcej, a mianowicie tyle, aby w żołądku stałe panował odczyn obojętny. Leczenie to oczywiście przy schorzeniu nerek nie jest dozwolone; lecz także przy zdrowych nerkach wywołuje ono prędzej czy później przykre objawy alkalozy, jak bóle głowy, senność, zanik łaknienia, nudności i wymioty oraz dokuczliwe bóle mięśniowe, nerwowość i ogólną depresję, ewentualnie także nadpobudliwość nerwów ruchowych w rodzaju tężyczki, tak że po jakimś czasie chorzy — zupełnie słusznie — wzbraniają się przyjmować „proszki“. Objawom tym zapobiegamy zastępując mieszanekę Sippy'ego, częściowo albo od czasu do czasu całkowicie, proszkami z *Magnes. phosphor*, *calcii phosphor*. — aa 0,2 do 1,5; co godzina proszek.

Z kwasów stosuje się przeważnie kwas solny, choć w wielu wypadkach kwas fosforowy może być jeszcze bardziej celowy. Pepsynogen aktywuje tak samo jak kwas solny. Optimum działania pepsyny leży przy 0,3—0,4% HCl.

Jeżeli chodzi o pobudzenie wydzielania soku w żołądku, który nie utracił jeszcze całkowicie zdolności wydzielniczej, dajemy małe lub średnie ilości kwasu przed jedzeniem, a bezpośrednio potem pokarm białkowy, celem wyzwolenia z niego bodźców wydzielniczych. Dodatek pepsyny w tym wypadku,

choć nieszkodliwy, jest jednak niekoniecznym, gdyż błona śluzowa żołądka prawie zawsze zawiera pepsynogen. Jeżeli natomiast przy zupełnym braku soku żołądkowego mamy zastąpić działanie jego podczas trawienia, wówczas dajemy w czasie jedzenia duże ilości kwasu z dodatkiem pepsyny; albowiem kwas tak stosowany nie styka się wcale z błoną śluzową, a więc nie może aktywować zawartej w niej propepsyny.

Wyniki badań co do działania zasad na wydzielanie żółci, są jeszcze wciąż tak sprzeczne, że ostatecznego zdania nie można w tej kwestji wygłaszać. Wszakże żółciopędny wpływ wody karlsbadzkiej, empirycznie zawsze uznany i ceniony przez lekarzy, został niedawno stwierdzony także doświadczalnie.

Pobudzenie wydzielania żółci przez kwasy również zdaje się nie ulegać już wątpliwości; po za tem w odpowiedzi na drażniące bodźce kwaśne kurczy się także pęcherzyk żółciowy. Wogóle poniżej żołądka działanie kwasu jest przedewszystkiem drażniące, a błona śluzowa dwunastnicy jest o wiele wrażliwsza i o wiele mniej wytrzymała na kwas niż śluzówka żołądka; różnica ta wypływa już z elementarnych przeznaczeń fizjologicznych tych dwóch narządów.

Jak dziś ogólnie przyjęto, kwasy pobudzają wydzielanie soku trzustkowego, zamieniając prosekretynę zawartą w błonie śluzowej dwunastnicy w sekretynę.

## 2. Działanie ogólne zasad i kwasów po wchłonięciu do krwi.

Działanie na odczyn aktualny krwi ( $P_H$ )<sup>1)</sup>.

### *Sztuczna acidoza i alkalozja.*

Dla zrozumienia działania kwasów i zasad na odczyn aktualny krwi wystarczy, jeżeli będziemy brali pod uwagę

<sup>1)</sup> Uwaga. Odczyn aktualny (istotny) oznacza natężenie odczynu kwaśnego (lub zasadowego) w przeciwieństwie do odczynu potencjalnego, określającego jedynie ilość obecnego kwasu (lub zasady). Odczyn istotny kwasu zależy od odszczepienia wolnych jonów wodoru, które warunkują jego działanie zarówno na martwą naturę, np. rozpuszczanie metali, jak na ożywioną: mniej lub więcej zaznaczony smak kwaśny, utracenie białka i t. d.

Odczyn istotny oznacza znak  $P_H$ . Odczyn wody destylowanej jest  $P_H = 7$ ; jest to punkt obojętny. Poniżej  $P_H = 7$  zaczyna się odczyn istotny kwaśny, powyżej zasadowy.  $P_H$  krwi tętniczej wynosi około 7,42, żyłnej zaś 7,4.



przedewszystkiem stosunek kwasu węglowego wolnego we krwi do dwuwęglanu w niej zawartego. Dla celów praktycznej orjentacji można bowiem pominąć udział buforów białkowych i fosforanowych jak również rolę czerwonych ciałek krwi. Otóż odczyn aktualny ( $P_H$ ) krwi jest prawidłowy tak długo, dopóki stosunek wolnego kwasu węglowego do związanego w postaci dwuwęglanu wynosi w okrągłych liczbach

$$\frac{H_2CO_3}{NaHCO_3} = \frac{3}{60}$$

$P_H$  będzie więc także prawidłowe, jeżeli związany kwas węglowy wynosi 30 lub 80, pod warunkiem że w pierwszym przypadku wolny  $H_2CO_3$  obniża się do 1.5, a w drugim powiększa się do 4. Jednakże w pierwszym przypadku istnieje zmniejszenie, w drugim powiększenie zasobu zasad (dwuwęglanu) krwi.

Jeżeli powiększymy wyłącznie licznik lub zmniejszymy wyłącznie mianownik ułamka, otrzymamy dopiero przesunięcie odczynu w kierunku kwasicowym, a odwrotnie przy wyłączeniem zmniejszeniu licznika lub powiększeniu mianownika, zmianę w kierunku większej zasadowości.

Wymienione zmiany możemy skutecznie w liczniku przez wdychywanie kwasu węglowego, względnie usuwanie go ze krwi za pomocą wydatnego wietrzenia płuc, w mianowniku zaś przez wprowadzenie kwasów, względnie zasad, w dużych dawkach. W ten sposób udaje się wywołać bardzo poważne zmiany odczynu krwi aż do  $p_H = 7,57$  po zasadowej i do  $p_H = 7,2$  po kwaśnej stronie. Pomimo to nie powstają znaczniejsze zaburzenia z wyjątkiem objawów już podanych niewyrównanej alkalozy lub kwasicy. Objawy tej drugiej w ogólności są podobne do objawów alkalozy: bóle mięśni i stawów, uczucie ogólnego rozbicia, utrata apetytu, niezdolność do pracy, bóle głowy, przytem jako swoiste zjawisko t. zw. „wielki oddech“, potęgujący się przy wysiłkach fizycznych aż do wybitnej duszności. Znaczne te wahania  $p_H$  krwi, wywołane sztucznym zakwaszaniem lub alkalizowaniem, są jakoby w sprzeczności z obserwacjami klinicznymi. Często stwierdzamy u chorych wyrównaną kwasicę t. j. obniżenie zasobu zasad z równoczesnym zmniejszeniem ilości wolnego kwasu węglowego, wobec czego  $p_H$  krwi pozostaje mniej więcej w normalnych granicach. Tak samo zdarza się wyrównana alkaloza, t. j. powiększenie

zasobu zasad z odpowiednim wzmożeniem wolnego kwasu, przy zachowaniu normalnym  $p_H$ . Natomiast stwierdzamy kwasicę niewyrównaną ze spadkiem  $p_H$  krwi, jedynie w zupełnie ciężkich wypadkach, naogół tylko „ante mortem“. Przyczyny tej pozornej sprzeczności pomiędzy eksperymentem farmakologicznym i stanami patologicznymi należy szukać w bardzo powolnym z reguły powstawaniu patologicznego zakwaszania, tak, że ustroj w pełni rozwijać może mechanizmy ochronne. Przy nagłym, sztucznym zalaniu ustroju kwasami lub zasadami nie starczy poprostu czasu na rozwinięcie wydajnej regulacji, wobec czego mogą powstawać wybitne wahania  $p_H$ .

Najważniejszymi takimi regulatorami przy grożącej kwasicy są: przyspieszenie i pogłębienie oddechu, przyspieszenie krwiotoku ze wzrostem ciśnienia krwi i przyspieszeniem pulsu, wzmożenie wydzielania kwaśnych fosforanów i amonjaku przez nerki i t. d.; przy grożącej alkalozie: zmniejszenie oddechu, zwolnienie krwiotoku i wzmożenie wydzielania zasad oraz zanik amonjaku w moczu.

Oprócz sposobu przez hiperwentylację możemy alkalozę sztuczną wywołać przez podawanie odpowiednio dużych dawek węglanów lub soli sodowych kwasów organicznych, ulegających w ustroju spalaniu, a więc cytrynianów i octanów. Tak np. po dawce 45 g dwuwęglanu sodowego lub 70 g octanu sodowego stwierdzono powiększenie zasobu zasad krwi o 20%, a po 8 dawkach *natrii bicarbonici* po 20 g podobno nawet o 74%. Zmniejszenie oddechu, a przeto zatrzymanie kwasu węglowego, wyrównuje powstałą alkalozę, tak że odchylenie odczynu krwi w stronę większej zasadowości, aczkolwiek wyraźne, nie staje się groźnym. Stosując nieogłędnie alkaloterapię przy wrzodach żołądka i dwunastnicy (*Sippy-treatment*), lub przy kwasicy, powstałej na tle niedomogi nerek, lekarze amerykańscy niejednokrotnie posuwali alkalozę zbyt daleko i doczekali się na tem tle poważnych zaburzeń.

Sztuczną acidozę dzielimy na gazową, bez zmniejszenia zasobu zasad, i acidozę, spowodowaną przez nielotne kwasy, głównie kwas solny, lub kwas fosforowy.

Pierwszą otrzymujemy przez wdychanie tlenu, lub powietrza zawierającego więcej dwutlenku węgla aniżeli powietrze pęcherzykowe płuc prawidłowe, a więc około 6—8%.



Wdychanie takiej mieszaniny wyrównyduje natychmiast istniejącą alkalozę z jej objawami, jak nadpobudliwość nerwów ruchowych z kurczami przy tężycy i t. p.; poza tem kwas węglowy pobudza silnie nie tylko ośrodek oddechowy lecz także naczynioruchowy, jeżeli go stosujemy w mieszaninie gazowej o zawartości 20% O<sub>2</sub> i 5—20% CO<sub>2</sub>. Powstaje więc pod wpływem wdychania kwasu węglowego wybitne zwiększenie ciśnienia krwi pochodzenia centralnego. Wdychanie takiej mieszaniny jest zupełnie nieszkodliwe i może być przez czas dłuższy utrzymane lub wielokrotnie powtarzane.

Na podstawie nowszych badań działają zmiany p<sub>H</sub> krwi znajdującej się w *sinus caroticus* na drodze odruchowej na oddech i krwiobieg. Zakwaszenie daje powiększenie oddechu, przyspieszenie tętna i podniesienie ciśnienia krwi; alkalizowanie przeciwnie zmniejszenie oddechu, zwolnienie tętna i obniżenie ciśnienia krwi<sup>1)</sup>.

Na podstawie powyższego wdychanie CO<sub>2</sub> okazało się doskonałym środkiem w stanach zapadowych, zwłaszcza wywołanych przez połączenie alkalozы z anoksemją (niedostatkim tlenu we krwi), przez pobudzający swój wpływ na oddech i krwiobieg, ułatwiając przytem odłączenie tlenu z oksyhemoglobiny, zahamowywane przez alkalozę, a odbywające się, jak wiadomo, prędzej i łatwiej przy kwaśniejszym odczynie. To też kwas mlekowy nagromadzający się we krwi w stanach alkalo-tycznych wskutek niedostatecznej podaży tlenu tkankom, znika po wdychaniu tlenu z dodatkiem kwasu węglowego, nie zaś czystego tlenu.

Tak samo jak tlen, oddziela się także tlenek węgla łatwiej od hemoglobiny przy kwaśniejszej reakcji krwi. Wobec tego przy zatruciu tym niebezpiecznym gazem wskazane jest przede-wszystkiem wdychanie tlenu z dodatkiem około 6—8% kwasu węglowego, nie zaś czystego tlenu. Upusty krwi natomiast nie mają żadnej racji bytu; zwalczał je u nas już dawno, choć tylko na podstawie empirji, K. Rzętkowski. Następnie okazało się, że oddychanie tlenem lub tylko powietrzem z dodatkiem dwutlenku węgla, jest znakomitym zabiegiem, szybko usuwa-

<sup>1)</sup> Boukaert et Heymanns. Jour. of Phys. LXIX, str. 254, 1930.

jącym przykre następstwa narkozy chloroformowej i eterowej i zapobiegającym pooperacyjnym zapaleniom płuc.

Wskazania do stosowania podanej mieszaniny są nader liczne, a apteki i przede wszystkim pogotowia ratunkowe, powinny posiadać tę mieszaninę gazową zawsze gotową. To też ma ona być wprowadzona do ogólnego użytku na podstawie nowej farmakopei polskiej.

Alkalozą wywołaną przez hyperwentylację, poza teoretycznym zainteresowaniem, uzyskała znaczenie jako czynnik diagnostyczny w neurologji w celu wywołania napadu padaczki. Poza tem powolne i regularne ćwiczenia oddechowe obniżają ciśnienie krwi przy niektórych formach nadciśnienia, gdyż wzmożona w tych wypadkach pobudliwość ośrodka naczynioruchowego obniża się przez zmniejszenie zawartości  $\text{CO}_2$  we krwi <sup>1)</sup>. O ile w praktyce jest łatwo wywołać acidozę gazową, o tyle trudno jest uskutecznić zakwaszenie krwi zapomocą kwasów nielotnych, przede wszystkim z tej przyczyny, że trzeba wprowadzić w tym celu olbrzymie wprost ilości np. kwasu solnego. Natomiast udaje się to łatwo zapomocą bardzo pomysłowego sposobu pośredniego, odkrytego przez angielskiego fizjologa Haldane'a <sup>2)</sup>.

Sposób ten polega na przyjmowaniu dużych ilości chlorku amonowego, aż 65 g w 3 dniach. Tą metodą wywołał Haldane u swego syna, również znanego fizjologa, bardzo wybitną acidozę. Mechanizm powstania tej sztucznej kwasicy opiera się na następującem równaniu:



To znaczy chlorek amonu przechodzi w mocznik, a powstająca kwas solny zobojętnia się sodem z dwuwęglanu, tak, że zasób zasadowy (mianownik ułamka) szybko i wybitnie się zmniejsza. W praktyce okazał się chlorek amonu doskonałym środkiem dla wywołania sztucznej acidozy, między innymi przy tężycze. Zapisuje się dla dzieci po 0.5 g  $\text{NH}_4\text{Cl}$  na każde kilo wagi, dla dorosłych zaś po 0.3 g.

<sup>1)</sup> J. Modrakowski. Pol. Arch. Med. Wew. Tom VII, str. 463, 1929.

<sup>2)</sup> Haldane i współpracownicy. Jour. of Phys. LIV, str. 32, 1920/21; LV, str. 264, 1921; LVII, str. 301, 1923; LXV, str. 412, 1928.



W następstwie sztucznej acidozy, powstaje silna diureza, o ile nerki i serce są jeszcze dosyć wydolne. Zwłaszcza równoczesne stosowanie salyrganu lub novasurołu ewentualnie także strofantyny lub ouabainy, przy ograniczeniu płynów i soli kuchennej, wywołuje zupełnie niezwykle wynik moczopędny. Daje się na dobę 5—16 g  $\text{NH}_4\text{Cl}$  oraz 0·5—2·5 novasurołu lub salyrganu domięśniowo a w razie niedomogi serca dożylnie jeszcze 0·3 mg strofantyny lub ouabainy, albo też inne odpowiednie preparaty z grupy naparstnicy.

Niestety chlorek amonu posiada bardzo przykry i drapiący smak, tak, że często chorzy wzbraniają się roztwór jego przyjmować. Podawanie zaś proszku w opłatkach, zalecane przez niemieckich autorów, należy potępić; albowiem chlorek amonu rozpuszczając się wiąże bardzo dużo ciepła i przeto roztwór ogromnie się ochładza, co w związku z żrącym działaniem wielkiego stężenia soli na delikatne komórki musi nader ujemnie oddziaływać na błonę śluzową kanału pokarmowego. Dodatek zaś *succi liquiritiae* nie pokrywa złego smaku w dostatecznej mierze. Wobec tego prof. B. Koskowski<sup>1)</sup> w porozumieniu ze mną opracował przepis dla sporządzania żelatyny z chlorkiem amonowym. Później okazało się, że impregnowanie agaru jest jeszcze bardziej celowe, gdyż można w ten sposób uzyskać tabletki zawierające po 0·5 gr chlorku amonowego. Niestety żadna z polskich fabryk, którym proponowałem wybór takich tabletek, nie chciała się tego podjąć; dopiero w dwa lata później wymyślił Sax i Erlsberger<sup>2)</sup> na tej samej zasadzie impregnowanie żelatyny z chlorkiem amonowym. Tabletki te są wyrabiane przez „Heilmittelstelle A. G. in Wien“ pod nazwą „Gelamon“; każda tabletką zawiera 0·4 gr  $\text{NH}_4\text{Cl}$ . Preparat ten, choć zagraniczny, winien być polecany jako celowy i dobrze działający.

Można także zamiast chlorku podawać inne sole amonowe o mniej przykrym smaku a wywołujących zakwaszenie zupełnie w taki sam sposób, jak bromek i azotan amonowy.

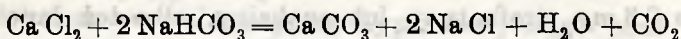
Działanie tych związków jednak nie jest tak dokładnie opracowane w szczegółach jak działanie salmiaku; w każdym

<sup>1)</sup> J. Modrakowski. Pam. I. Kursu Doksz. dla Lek. Ciechocinek. 1928.

<sup>2)</sup> Sax i Erlsberger. Wien. Klin. Woch., str. 111, 1930.

razie działa azotan najsilniej moczopędnie, także bromek ma obok ogólnie uspakajającego wpływu wybitne działanie moczopędne. Dawki jednak z powodu znacznej zawartości bromu nie mogą być tak duże.

Druga substancja zapomocą której łatwo udaje się wywołać acidozę, jest chlorek wapnia. Związek ten odbiera ustrojowi zasadę, według następującego równania:



Jon Ca po największej części wydziela się przez jelito, a jon Cl, podobnie jak w równaniu z *amonium chloratum*, wiąże zasadę dwuwęglanów.

Dawki chlorku wapniowego także muszą być dość duże: 6—5 gr dziennie dla dorosłego człowieka. Związku tego również nie należy podawać w postaci proszku.

Chlorek strontu działa podobnie, tak samo bromki wapnia i strontu. Lecz dawki z powodu zawartości bromu również nie mogą być dosyć duże, aby zdołały wywołać znaczniejsze zakwaszenie ustroju.

Poza zmianami istotnego odczynu, zasobu zasad i napięcia CO<sub>2</sub> we krwi i pęcherzykach płucnych wywołuje wprowadzenie większych dawek kwasów lub zasad do ustroju cały szereg naogół antagonistycznych działań. O ile mi są znane na podstawie prac innych autorów oraz własnych badań zestawiam je w krótkości jak następuje:

O zachowaniu się oddechu i krwiobiegu, jako mechanizmu ochronnego kwasicy i alkalozy, wspomniałem powyżej. Dodaję, że w badaniach kapillaroskopowych na chorych Kliniki Psych. prof. Jana Mazurkiewicza zauważyliśmy zwiększenie liczby widocznych, a więc czynnych włosników; przytem pojedyncze kapillary były szerokie i grube oraz na dłuższej przestrzeni widoczne niż w normie. W stanie alkalozy natomiast liczba widocznych kapillarów była zmniejszona, podczas gdy one same były cienkie i występowały tylko na krótszej przestrzeni<sup>1)</sup>. To nastawienie włosników obok szeregu innych czynników przyczynia się do ogromnego działania na przemianę wodną, tworzącego zmianom odczynu krwi i tkanek. Całkiem ogólnie

<sup>1)</sup> Modrakowski i Wilczkowski. Pam. XIII. Zjazdu Pol. Lek. i Przyrod. w Wilnie, 1929.



wywołuje zakwaszanie diurezę, alkalizowanie zaś — zatrzymanie wody w ustroju.

We krwi znaleźliśmy <sup>1)</sup> podczas kwasicy zgęszczenie z równomiernym wzrostem odsetek albumin i globulin, w alkalozie — rozcieńczenie, jednak z odsetkowym i absolutnym wzmoczeniem fibrynogenu. W pierwszym wypadku istnieje odpływ wody z tkanek, odpęcznienie, skóra jest cienka i wiotka, uniesiona w fałd nie wygładza się; w drugim wypadku skóra zawiera dużo wody i jest jakby napęczniała. Kwasica odciąga tkankom wodę, a alkalozia przeciwnie wywołuje zatrzymanie wody w tkankach.

Objętość i liczba czerwonych ciałek wzrasta podczas kwasicy, odpowiednio zwiększa się hemoglobina; alkalozia wywołuje zjawiska odwrotne. Odporność osmotyczna krwinek obniża się w następstwie kwasicy. Szybkość opadania krwinek przyspiesza się przytem, a zwalnia się w alkalozie. Pierwsza daje leukocytozę neutrofilną z przesunięciem na lewo według Arnetha, druga zaś zwiększenie liczby limfocytów.

W stanie silnej alkalozji zauważyliśmy bardzo znaczne przyspieszenie krzepnięcia krwi lecz zjawiska tego nie badaliśmy dotychczas.

Kwasica salmiakowa podnosi zawartość wapnia we krwi o 10%, kwasica, spowodowana chlorkiem wapnia, nawet o 25%, ponieważ przytem wprowadza się obficie ten pierwiastek. Jonizowanie wapnia krwi podnosi się szybko przy jednym i drugim rodzaju kwasicy; rozpuszczalność wypadniętych soli wapniowych (kości) wzmagają się, a proces wapnienia ulega zahamowaniu. Nie trzeba szczególnie podkreślać, że wywołane przez acidozę wzmoczenie jonów wapnia musi mieć określony wpływ na działalność serca, na zmniejszenie pobudliwości nerwów ruchowych oraz na sprawy zapalne jak to ogólnie jest znanem na podstawie prac instytutu A. H. Meyera. — Alkalozia obniża zawartość wapnia we krwi o 10—20%, a wstrzyknięte sole wapniowe znikają wówczas niezmiernie prędko ze krwi. Zawartość chloru krwi podnosi się podczas kwasicy, zawartość kwasu fosforowego natomiast obniża się, tak samo ilość potasu i sodu; pozatem lipoidy mają się zwiększać w surowicy.

<sup>1)</sup> Modrakowski i Lentz. Amer. Journ. Phys. XC, Nr. 2, 1929, oraz obszerniej: Med. Dośw. i Społ. Tom XI poświęcony pamięci Napoleona Cybulskiego, 1930.

Liczni autorowie znajdują cukier krwi podczas kwasicy zwiększony, a zmniejszony podczas alkalozy: istnieją jednak także zdania przeciwnie. W ogólności kwestja chemizmu krwi nie jest jeszcze dostatecznie wyjaśniona, zwłaszcza podczas alkalozy.

W pierwszych dwóch dniach kwasicy salmiakowej występuje znaczna utrata potasu i sodu przez mocz, co jednak ustaje z chwilą, gdy amoniak zaczyna wytwarzać się w większej ilości; natomiast przedłuża się utrata wapnia, głównie przez jelito, nawet znacznie ponad czas trwania kwasicy.

Praktycznie ważnym jest wpływ kwasicy i alkalozy na zjawiska zapalenia i gojenia ran; jednakże i tutaj spotykamy się z pewnemi różnicami zapatrywań autorów. Tak np. uważa wiele autorów djetę według Hermannsdorfer-Sauerbruch-Gersona, posiadającą sławę dzielnego czynnika leczniczego przy gruźlicy zwłaszcza skóry i kości, za djetę zakwaszającą, według innych jest ona przeciwnie alkalizująca.

Zjawiska zapalenia i wysiękowe staraliśmy się<sup>1)</sup> bliżej badać za pomocą *emplastrum cantharidarum* na królikach i ludziach (pracownicy Zakładu Farmakologii U. W.): podczas kwasicy salmiakowej zjawiska zapalne zaznaczają się o wiele silniej, pęcherz powstaje szybciej niż w normie i zawiera o wiele więcej płynu z wyższą zawartością białka, na szczycie alkalozy zjawiska zapalne natomiast powstają znacznie wolniej i są mniej nasilone, nawet mogą wcale nie wystąpić. Jeżeli wogóle pęcherz się wytwarza ilość wysięku jest nieznaczna i o niskiej zawartości białka. Trzeba jednak uwzględnić, że alkalozą, o ile nie podajemy co dwie godziny odpowiedniej dawki zasad, trwa tylko krótki czas. Jeżeli więc bodziec zapalny przetrwa stan alkalozy, to może potem powstać nawet silniejszy odczyn zapalny niż w normie. Niewątpliwie jest to w związku z tem, że alkalozą pociąga za sobą reaktywną fazę kwasicową<sup>2)</sup>. Co do acidozy również wykazały bardzo dokładne badania pojawienie się w następstwie okresu wybitnej alkalozy<sup>3)</sup>. Wobec

<sup>1)</sup> Modrakowski i Lentz. Amer. Journ. Phys. XC, Nr. 2, 1929, oraz obszerniej: Med. Dośw. i Społ. Tom XI poświęcony pamięci Napoleona Cybulskiego, 1930.

<sup>2)</sup> Freise. Monatschr. f. Kinderheilkunde, XCII, str. 186, 1929.

<sup>3)</sup> Dennig, Dill u. Talbet. Arch. exp. Path. u. Pharm. CXLIV, str. 297, 1929.



tego można sobie objaśnić niewątpliwie dodatni wpływ kwasicy na zjawiska zapalne, na gojenie ran i t. d., na podobieństwo pozajelitowego wprowadzenia białka w ten sposób, że zjawiska zapalne najpierw podniecają i pogarszają się jakby, a potem pojawia się drugi okres leczniczy ze stanem alkalotycznym. Za tą koncepcją przemawia także swoisty wpływ kwasicy na obraz białych ciałek krwi oraz na przyspieszenie opadania krwinek, co w ogólności odpowiada odczynowi ustroju wobec ostrych schorzeń zakaźnych. Widocznie alkalizowanie pobudzone przez kwasicę, a dokonane przez sam ustrój jest bardziej celowym i leczniczym czynnikiem niż sztucznie wywołana alkaloza, pociągająca znowu kwasicę za sobą. Na ogół wpływa sztuczne zakwaszanie korzystnie przy różnych przewlekłych stanach zapalnych, zwłaszcza otwartych procesach, także w pewnych przypadkach gruźlicy; zawodzi ona natomiast przy zapaleniu szpiku kostnego, przy zamkniętych czyrakach i ropniach. Podczas gdy zakwaszanie wywołuje nastawienie na wchłanianie, a więc osuszanie otwartych ran, oraz pobudza tworzenie się zdrowej ziarniny, przyczynia się alkalizowanie do zwiększenia wilgotności ran, powoduje przesiek i wzmaga rozwój drobnoustrojów. Natomiast ma ono według Vorschütza (cyt. wedł. Häblera, Physik. Chem. Probleme. i. d. Chirurgie, 1930) działać korzystnie przy ogólnych zakażeniach (*sepsis*), nastawiając ruch płynu w kierunku wysiękowym, co ma przeciwdziałać przedostawaniu się toksyn do krwiobiegu. Na gruźlicę jednak alkalizowanie nie działa korzystnie.

Działanie kwasów i zasad na przemianę materji w znaczeniu ogólnego powiększenia lub zmniejszenia pozostaje zawsze jeszcze niedostatecznie wyjaśnionem, o ile nie chodzi o dawki toksyczne. Zwykle przyjmuje się, że kwasy zmniejszają zużycie tlenu i wytwarzanie kwasu węglowego, zasady mają działać przeciwnie, a więc powiększać przemianę materji. Istotnie podnosi się przemiana podstawowa znacznie po silnej alkalozie.

Wskutek działania kwasów obniża się wytwarzanie mocznika, a wzrasta wydzielanie amonjaku, co jest od dawna znanem. Wszak zasady, odwrotnie działające, chyba nie mają znacniejszego wpływu na przemianę białkową.

Co do przemiany węglowodanowej to ustalono, że kwasica mobilizuje glikogen wątroby i przeciwdziała jego syntezie.

Przytem spalanie glukozy ma być obniżone, co wywołuje cukromocz. Wszakże właśnie przy alkalozie występują łatwo w moczu ciała ketonowe, choć ma ona przyspieszać spalanie cukru. W każdym razie jest faktem, że alkalizowanie potęguje, a zakwaszanie osłabia działanie insuliny. Ogólnie przyjęte korzystne działanie zasad na przemianę purynową ma chyba za podstawę jedynie zwiększone wydzielanie kwasu moczowego, chociaż nie z powodu wzmożonej rozpuszczalności tego związku w moczu lecz wskutek rozcieńczenia moczu i zwiększenia jego ilości. Chodzi więc o t. zw. przepłukiwanie ustroju, najlepiej za pomocą hypotonicznych mineralnych wód zasadowych. Wobec wielorakich oddziaływań zmian odczynu istotnego na ustrój nie może nas zadziwiać, że zakres wskazań stosowania leczenia zasadami a zwłaszcza kwasami, rozszerza się coraz bardziej. Po części mówiono już o tem, lecz warto na niektóre ważne oraz nowsze sposoby stosowania jeszcze raz wskazać w streszczeniu:

Zakwaszanie za pomocą chlorku amonowego przy wszystkich rodzajach tężyczki, ewentualnie przez wprowadzenie do odbyticy przy tężyczce na tle niepowstrzymanych wymiotów. Według doświadczenia kliniki prof. Witolda Orłowskiego, wchłania błona śluzowa odbyticy doskonale 2% roztwór chlorku amonowego.

Zakwaszenie ustroju w celu pobudzenia gojenia ran i zwalczania procesów zapalnych i wysiękowych, zwłaszcza przewlekłych, przy niektórych wypryskowych i alergicznych schorzeniach, podczas gdy pewne formy pokrzywki reagują dobrze na dożylne wprowadzanie zasad. Zakwaszanie posiada silne działanie moczopędne; przytem dawki niekoniecznie muszą być bardzo duże, wystarcza 5—16 gr chlorku amonowego dziennie ewentualnie z równoczesnem podawaniem nowasurolu, salyrganu lub środków z grupy naparstnicy.

Padaczka: nadwentylacja, jak już wspomniano, wywołuje atak, podawanie salmiaku natomiast znosi napady na przeciąg 5 dni do tygodnia, lecz nie dłużej, ponieważ ustrój, pomimo ciągłego podawania środków zakwaszających, z czasem nietylko wyrównuje kwasicę, lecz nadkompensuje ją w kierunku alkalozy<sup>1)</sup>; jest to ten sam mechanizm regulujący, który w kwa-

<sup>1)</sup> Dennig, Dill u. Talbett. Arch. exp. Path. u. Pharm. CXLIV, str. 297, 1929.



sicach patologicznych zapobiega naogół znaczniejszym wahanom  $p_H$ , przytem chodzi przede wszystkim o wytwarzanie amonjaku, rozpoczynające się powoli, zato utrzymujące się przez czas dłuższy.

Wobec tego powinno się sztuczne zakwaszanie ustroju zapomocą dużych dawek odnośnych środków stosować z przerwami, za każdym razem nie dłużej jak 3—5 dni. Jeżeli chodzi o uniknięcie utraty wapnia, wówczas należy podawać chlorek amonu i wapnia na przemian.

Niedawno doniesiono o bardzo korzystnem działaniu kwasicy salmiakowej przy leczeniu porażenia postępującego<sup>1)</sup>; musimy czekać na potwierdzenie tych wyników na większym materiale, na razie można tylko wyrazić przypuszczenia co do mechanizmu działania tego rodzaju terapii. W każdym razie mogliśmy<sup>2)</sup> na chorych kliniki psychiatrycznej prof. Jana Mazurkiewicza wykazać za pomocą metody bromowej, że kwasica salmiakowa zwiększa znacznie przepuszczalność opon mózgowych (index 2,3—2,7). Działanie alkalozji natomiast było nierówne, wahania w górę i w dół nie były znaczne, a w każdym razie nie przekraczały wyraźnie granicy normalnej (index 2,9). Pozatem waha się odczyn aktualny płynu mózgowodzeniowego w tym samym kierunku co krwi.

Bardzo interesującemi są próby oddziaływania za pomocą zakwaszania ustroju na patologiczne wytwarzanie się tkanki kostnej; w ten sposób można podobno osiągnąć dobre wyniki przy *myositis ossificans*. Kwasica salmiakowa, połączona z przekrwieniem biernem podług Biera przy równoczesnem wykluczeniu działania światła, ma nawet powodować wydalanie wapnia z określonych części szkieletu. Powstające wskutek tego zmiękczenie ma umożliwić wyprostowanie skrzywień<sup>3)</sup>.

Natomiast częściej powtarzane alkalizowanie i zakwaszanie naprzemian wywołuje rozległe zwapnienia.

---

<sup>1)</sup> Waller u. Brandt. Arch. f. Psych. u. Nervkrankh. LXXXIII, str. 491, 1928.

<sup>2)</sup> Modrakowski i Wilczkowski. Pam. XIII Zjazdu Pol. Lek. i Przyrod. w Wilnie, 1929 (oznaczenia  $p_H$  wykonał Dr. H. Sikorski, oznaczenia bromu Dr. R. Lentz).

<sup>3)</sup> Bernhardt. Zeit. f. klin. Med. C., str. 785, 1924.

Następnie ma kwasica olów i inne metale ciężkie, odłożone w kościach w formie zasadowych fosforanów, przeprowadzić w rozpuszczalne fosforany kwaśne. W ten sposób metale te mogą być usunięte z ustroju przez wydzielanie ich drogą jelitową; przy nieogłędnem stosowaniu tego leczenia mogą jednak wystąpić objawy zatrucia.

### 3. Działanie zasad i kwasów na narządy wydzielnicze.

Jako narządy wydzielnicze wchodzi w rachubę płuca, jelito, nerki i gruczoły potowe. O wpływie alkalo- i acidoterapii na wydzielanie tych gruczołów nie znalazłem żadnych danych w piśmiennictwie i nie o tem powiedzieć nie mogę, choć nie wątpię, że wpływ taki istnieje.

a) Co do płuc, to wprowadzenie większych ilości zasad do ustroju zmniejsza oddech.

To jednak nie odnosi się do alkalozy dwuwęglanowej, ponieważ uwalniający się w ustroju przez zobojętnianie dwuwęglanu kwas węglowy działa podniecająco na oddech. W istocie stwierdzono zwiększenie objętości oddechowej człowieka z 6 litr. na 1' na 8 litr. podczas alkalozy dwuwęglanowej. Natomiast przekonaliśmy się w doświadczeniach na zwierzętach, że alkaloza ługowa ( $\text{NaOH}$ ) ogromnie obniża czynność oddechową tak, jak tego wymaga teoria alkalozy. Empirycznie zasady uchodzą od dawna za środki wykrztuśne; przekonujących dowodów naukowych dla takiego działania jednak nie ma. Pod wpływem zasad wydzielina błon śluzowych dróg oddechowych staje się jakoby płynniejszą i obfitszą. Odwrotne działanie kwasów, wysoko cenione przez starszych lekarzy poszło w zapomnienie, może niesłusznie. Wszakże obecnie polecają wdychywanie pary rozcieńczonych kwasów przy nieżytach dróg oddechowych, a nawet przy gruźlicy. Podczas gdy chlorek amonu w małych dawkach jest stosowany ogólnie jako środek wykrztuśny, wspomina nie bez ironji Haldane, odkrywca kwasicy salmiakowej o tem, że po kilkudziesięciu gramach nie odczuwał wcale działania wykrztuśnego, natomiast jego objętość oddechowa podniosła się w spokoju z 6 litrów na 1', z 10 litrów na 1'. Inni autorowie zauważyli wzrost nawet do 15 litrów. Można chyba przypuszczać, że tak silne wzmoczenie wentylacji, wprowadzając



duże ilości płynu na zewnątrz, wywiera działanie osuszające na błony śluzowe dróg oddechowych.

#### b) Jelito.

Jelito jest tym narządem, przez który wydzielają się na zewnątrz ziemie alkaliczne, a więc wapno i magnez. Węglan wapnia, węglan magnezu lub *magnesia usta*, względnie *magnes. perhydrol* wiążą kwasy w kanale pokarmowym, a wyprowadzając je przez jelito, tem samem obniżają kwasotę moczu, który ubożeje w fosforany. Przy kwasicy nerkowej, wskutek niezdolności nerek do wydzielania fosforanów, podawanie chlorku, a jeszcze lepiej mleczanu wapniowego jest skuteczne, gdyż wówczas kwas fosforowy wydziela się przez jelito jako fosforan wapniowy. Podawanie alkalki natomiast jest przeciwwskazane, gdyż znoszą co prawda objawy kwasicy, lecz powodują przeładowanie ustroju solami, których tenże pozbyć się nie może.

#### c) Nerki.

U normalnych osobników 7 g *natr. bicarb.* dziennie, lub 15 g *natr. citric.* wystarczają do zalkalizowania moczu. Wszakże przy istniejącej kwasicy dawki muszą być o wiele większe. Na tej podstawie można nawet ocenić stopień kwasicy, a mianowicie przy podawaniu co 2 godziny po 5 g dwuwęglanu sodu mocz w godzinę po pierwszej, najpóźniej zaś po trzeciej dawce powinien oddziaływać zasadowo na lakmus, podczas gdy przy kwasicach zmiany odczynu następują dopiero po kilkudziesięciu, a nawet po przekroczeniu stu gramów sody. Oczywiście, że próba ta przy schorzeniach nerek zawodzi, jak już objaśniono i nie powinna być stosowana.

Zalkalizowanie moczu zapomocą *natrium bicarbonicum*, *citricum* i t. d. stosuje się z powodzeniem przy nieżytach dróg moczowych i przy *diatesis urica*. Do zakwaszenia moczu nadaje się najlepiej kwas fosforowy, względnie kwaśny fosforan, gdyż podnoszą one aktualną kwasowość moczu do najwyższej możliwej granicy; przytem wydzielanie amonjaku po kwaśnym fosforanie wcale się nie zwiększa.

Kwas solny nadaje się mniej do zakwaszenia moczu, gdyż zwiększa wybitnie zawartość amonjaku, a wydzielając się w postaci obojętnej soli kuchennej, bezpośrednio wcale nie zwiększa kwasoty istotnej. Bardzo celowem jest zakwaszanie moczu

zapomocą chlorku amonowego lub chlorku wapniowego. Przytem dawki mogą być o wiele mniejsze niż dla wywołania sztucznej kwasicy, a mianowicie: przez 2 dni po 3 g  $\text{NH}_4 \text{Cl}$  2  $\times$  dziennie i na trzeci dzień 3  $\times$  po 3 g.

Zakwaszanie moczu jest wskazanem przy fosfaturji oraz przy zakażeniach dróg moczowych, zwłaszcza lasecznikami okrężnicy. Pominąwszy uwarunkowanie działania urotropiny przez kwaśny odczyn, wpływa silne zakwaszanie a, choć w mniejszym stopniu, także alkalizowanie moczu ujemnie na żywotność i rozwój *bacterium coli*, zwłaszcza przy nagłych i gwałtownych zmianach odczynu. Na tej podstawie alkalizuje się najpierw mocz przez podawanie 30 lub więcej gramów *natrium citricum* — a potem przechodzi się nagle na kwas fosforowy, lub podaje się *amonium chloratum*.

#### 4. Wpływ alkalozy i kwasicy na działanie lekarstw.

Najbardziej znanym przykładem takiego wpływu jest urotropina, odszczepiająca aldehyd mrówkowy w kwaśnem nie zaś alkalicznem środowisku.

W ostatnich czasach coraz więcej zwraca się uwagę na związek pomiędzy istotnym odczynem ustroju i stanem układu nerwowego autonomicznego. Alkaloza ma powiększać pobudliwość parasympatycznych, kwasica — współczulnych nerwów, i odwrotnie drażnienie jednego lub drugiego układu autonomicznego ma wywoływać odpowiednie zmiany odczynu. Wobec tego należałoby oczekiwać, że czynniki drażniące *parasymphathicus* będą działać silniej przy alkalizowaniu, *sympathicotropowe* zaś przy zakwaszaniu. W istocie okazało się, że cały szereg alkaloidów, lecz nietylko drażniących układ parasympatyczny, jak acetylcholina i pilokarpina, działają o wiele silniej przy uprzedniem zalkalizowaniu ustroju, lecz także inne jak strychnina, guanidyna i kofeina. Nawet wybitne *sympathicotropowe* czynniki jak adrenalina i tyramina okazują wówczas również działanie spotęgowane. Niewątpliwie odgrywa przytem rolę decydującą natężenie dysocjacji soli alkaloidów w środowisku bardziej zasadowem, albowiem przez to zwiększa się udział samej zasady rozpuszczalnej w lipidach, co ułatwia i przyspiesza przenikanie jej do komórek.



Pozatem wchodzą jeszcze w grę inne przyczyny, jak obniżenie zawartości wapnia we krwi podczas alkalozy; jest to bardzo ważnem np. dla zwiększenia działania strychniny i guanidyny, podczas gdy wzmożenie wapnia w kwasicy osłabia ogromnie działanie tych jądów przez wpływ uspakajający na zakończenia nerwów ruchowych. Lecz to samo znów może w pewnych wypadkach nasilać działanie pewnych alkaloidów. Tak np. działają alkaloidy kurary o wiele gwałtowniej przy posunięciu odczynu w stronę kwaśną. Że działanie glikozydów grupy naparstnicy również wzmagają się wskutek zwiększenia ilości wapnia we krwi jest zupełnie zrozumiałem na podstawie znanych badań Löwiego.

Awertyna, jak zauważyliśmy niedawno<sup>1)</sup> staje się o wiele więcej trującą podczas kwasicy salmiakowej, co prawdopodobnie również jest związanem z podnoszeniem się ilości wapnia we krwi.

Natomiast narkotyczne działanie soli magnezowych, wprowadzonych pozajelitowo, ulega osłabieniu z tej samej przyczyny. Przekonaliśmy się także, że kardiazol działa słabiej podczas alkalozy, a silniej podczas kwasicy, koramina natomiast zachowuje się odwrotnie<sup>2)</sup>.

Że alkaloza powiększa działanie insuliny, kwasica zaś obniża, o tem wspomniano powyżej.

Jeżeli okazało się, że odczyn ustroju wpływa bardzo wybitnie na działanie czynników farmakologicznych to odwrotnie oczywiście jest, że cały szereg środków lekarskich zmienia ten odczyn ze swej strony. Czynniki podrażniające ośrodek oddechowy jak lobelina, kardiazol i inne działają — rzecz prosta — podobnie do hiperwentylacji na odczyn istotny krwi w kierunku alkalozy, podczas gdy środki, obniżające oddychanie, zwiększają napięcie CO<sub>2</sub> w pęcherzykach płucnych i we krwi; działają więc w kierunku kwasicy. Ten stan stara ustrój wyrównać zapomocą zwiększenia zasobu zasad, aby utrzymać reakcję krwi w granicach normy. Przytem łatwo dochodzi do nadmiernego wyrównania tak, że p<sub>H</sub> ostatecznie

<sup>1)</sup> T. Fajans. Badania nieogłoszone.

<sup>2)</sup> St. Kroszczyński. Pam. XIII Zjazdu Pol. Lek. i Przyrod. w Wilnie, 1929.

przesuwa się w stronę większej zasadowości. Wskutek tych zjawisk regulacyjnych staje się działanie czynników farmakologicznych na odczyn istotny krwi dość zawilem i wyniki badań różnych autorów są często sprzeczne.

Sprzeczności te w dużej mierze można objaśnić tem, że badania były przeprowadzane w różnych odstępach czasu od chwili zadziałania środków farmakologicznych. Należy sobie przypomnieć, że całkiem ogólnie po sztucznej kwasicy następuje okres alkalotyczny i odwrotnie. Wobec tego jedynie szereg badań wykonywanych w dokładnych odstępach czasu od chwili wprowadzenia dać może przejrzysty i pełny obraz całkowitego działania czynników farmakologicznych na odczyn istotny krwi.

---

## Acides et alcalins comme agents thérapeutiques

(Institut Pharmacologique de l'Université de Varsovie)

par

J. Modrakowski

L'action des acides et des alcalins comme agents thérapeutiques est étudiée sous quatre points de vue :

1. Action locale, surtout sur l'estomac et les voies digestives;
2. Action générale (après l'absorption des alcalins et des sels acidifiant, comme le Chlorure d'ammonium et de calcium); ce chapitre est basé en grande partie sur les travaux récents de l'Institut de Pharmacologie et donne les principales indications thérapeutiques de l'alcalose et de l'acidose artificielles y compris le dosage;
3. Action sur les organes éliminateurs;
4. Influence modificatrice de l'acidose et de l'alcalose sur l'action de certains médicaments.



Dr. EDWARD POŻERSKI

## O trawieniu skrobi surowej

(Sur la digestion de l'amidon cru)

Zwierzęta spożywają skrobię pod postacią surową jednak prace fizjologów dalekie są jeszcze od rozwiązania sprawy jej asymilacji. Autor podaje na podstawie własnych doświadczeń, w jakich warunkach następować może trawienie i przyswajanie skrobi w związku z działaniem śliny i soku trzustkowego, w różnych warunkach fizycznych i chemicznych.

---

### Sur la digestion de l'amidon cru

par

**Dr. EDOUARD POŻERSKI**

de l'Institut Pasteur de Paris

L'amidon crû est-il un aliment pour les animaux? C'est sous cette forme qu'ils le consomment. Ils doivent donc l'assimiler.

Les travaux des physiologistes sont loin d'avoir résolu la question.

Duclaux<sup>1)</sup> décrit la digestion de l'amidon crû pendant la germination. Il voit les grains d'amidon se creuser, les couches concentriques disparaître. Le même travail lytique se passe dans le grain d'amidon sous l'influence de l'amyrase de l'*Aspergillus niger*. Cependant, Duclaux conclut<sup>2)</sup> que l'amidon crû est pour l'*Aspergillus niger* un aliment de disette très difficile à digérer.

<sup>1)</sup> Traité de Microbiologie, t. II, p. 48.

<sup>2)</sup> Ibid., t. I, p. 200.

Le même auteur cite<sup>1)</sup> un travail de Ling dans lequel ce savant fait agir *in vitro* de l'amylase d'orge sur de l'amidon crû, pendant trois heures. Il arrive péniblement à obtenir 0,175 pour 100 de maltose. La digestibilité de l'amidon crû est donc très faible.

Cependant, les expériences „*in vivo*“ paraissent montrer la digestibilité, du moins partielle, de l'amidon crû. Langworthy et Harry J. Devel<sup>2)</sup> considèrent que l'amidon crû de blé et d'avoine sont complètement assimilés. On ne les retrouve plus dans les fèces. Il en est de même de l'arrowroot et du riz. Quant à l'amidon de pommes de terre, il serait digéré dans des proportions variant entre 62,3 et 95,2 pour 100.

La question de la digestion de l'amidon crû est donc bien obscure. „*In vivo*“, l'amidon crû semble se digérer. „*In vitro*“, il est très peu attaquant.

Ces diverses expériences sont très facilement vérifiables. Nous avons, nous-même, traité l'amidon crû par du suc pancréatique de chien kinasé et non kinasé. Toujours, les grains sont restés intacts. Jamais nous n'avons pu mettre en évidence de substances réductrices, même après 4 jours d'étuve, en présence d'un antiseptique comme le Fluorure de sodium à 2 p. 100. Ces mêmes sucs pancréatiques attaquent l'amidon cuit, le liquéfient et le digèrent en quelques minutes.

De ces expériences, il faut conclure que l'amidon crû, ingéré par les animaux doit subir, sur son parcours dans le tube digestif, une transformation préalable, analogue à celle qui se fait au cours de son chauffage en milieu aqueux, et qui le rend digestible.

En milieu aqueux, l'amidon de pommes de terre devient digestible lorsqu'il est chauffé à une température voisine de 54, 55 degrés. Cette digestibilité coïncide avec un changement microscopique des grains d'amidon.

L'amidon de pommes de terre chauffé à 50 degrés ne subit aucune transformation. A 54—55 degrés, les grains éclatent et laissent sortir leur contenu qui s'étale. A 56—58 degrés, le contenu évaginé acquiert un volume 100 fois plus grand que celui du grain primitif; il est gonflé par l'eau.

<sup>1)</sup> Traité de Microbiologie, t. II, p. 484.

<sup>2)</sup> Journal of biol. Chem., t. 42, p. 27, t. 52, p. 251.



L'empois se constitue, car tous les éléments gonflés se touchent et chevauchent les uns sur les autres. Cette masse est digestible.

Existe-t-il, sur le parcours du tube digestif, des facteurs faisant subir aux grains d'amidon des transformations analogues? Il faut, certes, les rechercher chez les animaux grand consommateurs d'amidon; c'est-à-dire chez les herbivores et surtout les oiseaux.

Or, certains herbivores, les ruminants par exemple, sont adaptés à un broyage minutieux de leurs aliments au niveau de la bouche. Le même broyage des aliments est opéré chez les oiseaux, au niveau de l'estomac, au contact des pierres du gésier.

Il était donc naturel de rechercher si le broyage modifie la digestibilité des grains d'amidon ainsi que leur aspect microscopique. C'est ce que nous avons fait.

Nous avons pris 1 gramme d'amidon de pomme de terre, nous l'avons mis en suspension dans 10 cc. d'eau distillée et nous l'avons broyé au mortier pendant 10 minutes. Après ce broyage nous avons examiné au microscope, entre lame et lamelle, une goutte de la suspension d'amidon.

Un grand nombre de grains avaient subi une transformation complète, tout à fait différente cependant de celle qui est provoquée par le chauffage.

Les grains chauffés sont énormes, ils présentent une surface lisse, sillonnée par quelques stries.

Les grains broyés sont énormes, mais cependant moins grands que les grains chauffés. Leur surface est finement granuleuse. Leur aspect rappelle celui de gros leucocytes.

Après broyage, on ne voit jamais de grains éclatés, évaginant leur contenu. On dirait que c'est le grain entier qui a considérablement augmenté de volume.

Cette transformation n'atteint pas tous les grains. Le nombre des grains transformés est fonction de la durée et de l'intensité du broyage. On le comprend, aisément, en songeant au petit nombre de grains qui ont pu être soumis à l'action du pilon contre le mortier.

Sur une préparation entre lame et lamelle, les grains géants se portent vers la périphérie; on les trouve en grand nombre au niveau du périmètre de la lamelle couvre-objet.

Comment se manifeste macroscopiquement le résultat du broyage?

Les grains intacts tombent dans le fond du récipient qui contient la suspension d'amidon. Le liquide surnageant est opalescent. Ce liquide ne présente pas l'aspect microscopique d'un empis; on y voit que très peu de grains géants ou normaux. Ils tombent tous au fond.

Un verre témoin contenant de l'amidon non broyé et de l'eau, se présente tout différemment: son contenu se sédimente très rapidement et le liquide surnageant devient parfaitement clair.

Nous nous sommes demandé si l'amidon broyé n'acquiert pas le pouvoir d'être digéré et s'il ne fallait pas chercher là une explication de la digestibilité de l'amidon crû dans le tube digestif des oiseaux et des ruminants.

Nous avons donc broyé au mortier de porcelaine, pendant 10 minutes, de l'amidon de pomme de terre en suspension dans de l'eau distillée et nous avons étudié sa digestibilité sous l'influence de la salive et du suc pancréatique.

### Digestion salivaire de l'amidon broyé.

Deux lots d'amidon de pommes de terre sont traités par de la salive humaine mixte, diluée à 1 pour 25 dans de l'eau distillée. Le premier lot est de l'amidon mis en suspension dans de l'eau distillée à raison de 1 gramme d'amidon pour 10 cc. d'eau. Le second est constitué par la même suspension broyée cinq minutes au mortier.

On prépare les quatre tubes suivants:

I	{ Amidon . . . . 10 <sup>cc</sup>	II	{ Amidon . . . . 10 <sup>cc</sup>
	{ Salive à 1 p. 25 3 <sup>cc</sup>		{ Eau distillée . 3 <sup>cc</sup>
III	{ Amidon broyé . 10 <sup>cc</sup>	IV	{ Amidon broyé . 10 <sup>cc</sup>
	{ Salive à 1 p. 25 3 <sup>cc</sup>		{ Eau distillée . 3 <sup>cc</sup>

On porte ces mélanges au bain-marie à 37° pour 2 heures. On centrifuge ces quatre tubes. Dans le liquide clair, on dose les substances réductrices, en employant la méthode à la liqueur picratopicroïque de Mestrezat-Garreau<sup>1)</sup>.

<sup>1)</sup> Bull. de la Soc. de chim. biol., 1923, t. V. p. 41—58.



On trouve :

I . . . . .	0,05 gr.	par litre
II . . . . .	0,05 gr.	—
III . . . . .	2,40 gr.	—
IV . . . . .	0,05 gr.	—

Il est donc évident que l'amidon modifié par le broyage devient digestible par l'amylase salivaire. Peut-être est-ce là le processus qui intervient chez les herbivores et les granivores, au cours de la longue mastication ou du long contact des grains avec le sable et les cailloux contenus dans le gésier.

### Digestion pancréatique de l'amidon broyé.

Pour faire cette recherche nous avons fait agir, sur des émulsions d'amidon différemment traitées, du suc pancréatique de Chien, dilué au dixième dans de l'eau physiologique à 8,5 p. 1000. Ce suc pancréatique avait été recueilli après établissement d'une fistule temporaire, chez un Chien auquel on injectait de la sécrétine dans les veines. Ce suc pancréatique contenait une amylase très active sur l'empois d'amidon. L'amidon employé dans nos expériences était une émulsion de fécule de pomme de terre à 1 p. 100 dans l'eau physiologique. On faisait toujours agir 3 c. c. de suc pancréatique dilué sur 10 c. c. d'émulsion d'amidon. Les digestions duraient 2 heures, dans un bain à 38°. Après ce temps, le liquide était centrifugé, puis filtré sur papier. On dosait, dans le liquide clair ainsi obtenu, les substances réductrices par la méthode colorimétrique de Mestrezat-Garreau. Les témoins étaient faits en remplaçant le suc pancréatique par la même quantité d'une solution de soude d'alcalinité égale, au tournesol, à celle du suc pancréatique dilué au dixième. Au cours de ces expériences nous avons été conduits à étudier : 1-0) l'action comparée du suc pancréatique sur l'amidon crû et sur l'empois d'amidon ; 2-0) l'action du broyage de l'amidon sur sa digestibilité par le suc pancréatique.

1°. L'amidon crû n'est pas digestible par le suc pancréatique. Une émulsion d'amidon à 1 p. 100 dans de l'eau physiologique est traitée par 3 c. c. de suc pancréatique dilué à 1 p. 10, pendant deux heures, dans un bain

à 37°. On fait un témoin dans lequel le suc pancréatique est remplacé par 3 c. c. de la solution alcaline décrite plus haut. D'autre part, on fait de l'empois d'amidon à 1 p. 100 et on le traite de la même façon. On dose les substances réductrices formées et on obtient les chiffres suivants (en gr. par litre).

amidon crû . . . . .	0
amidon crû + suc pancréatique . . .	0
empois d'amidon + suc pancréatique .	6,5

Dans cette expérience, l'amidon crû est inattaquable par un suc pancréatique qui digère fortement l'amidon cuit.

2°. Le broyage de l'amidon le rend partiellement digestible par le suc pancréatique. Un gramme d'amidon est broyé au mortier dans 10 c. c. d'eau physiologique pendant 10 minutes. On ramène ensuite cette émulsion à 100 c. c. avec de l'eau physiologique. On fait les mélanges suivants: 1°) amidon broyé, 10 cc. + solution alcaline, 3 cc.; 2°) amidon broyé, 10 cc. + suc pancréatique, 3 cc. On porte ces deux tubes à 37° pendant 2 heures et on les traite comme il a été dit plus haut. On dose les substances réductrices formées et on obtient les résultats suivants (en gr. par litre):

amidon broyé. . . . .	0
amidon broyé + suc pancréatique . .	1,15

On voit donc que le broyage rend l'amidon partiellement digestible. On peut obtenir des digestions beaucoup plus intenses si on augmente non pas la quantité de suc pancréatique, mais la quantité d'amidon. Ainsi, si on emploie de l'amidon émulsionné à 10 p. 100, on passe, dans une expérience analogue, de 0 gr. à 2,60 gr.

#### **Digestion pancréatique de l'amidon préalablement traité par l'acide chlorhydrique.**

Dans le tube digestif, le broyage n'est pas le seul facteur pouvant conférer à l'amidon le pouvoir d'être attaqué par le suc pancréatique.

Avant d'être touché par le suc pancréatique, les grains d'amidon ingérés sont maintenus pendant un temps plus ou moins long, au contact de l'acidité de l'estomac. Peut-être cette



acidité sensibilise-t-elle le grain d'amidon à la digestion? Pour élucider ce fait nous avons fait l'expérience suivante.

Une émulsion d'amidon à 1 p. 100 est acidifiée à 5 p. 1000 par addition de HCl. On la porte pendant une heure et demie au bain marie à 37°. On neutralise au tournesol avec une solution de soude. On étudie la digestibilité de l'amidon ainsi traité, sous l'action du suc pancréatique dilué à 1 p. 10. Pour cela, on fait les deux mélanges suivants: 1° amidon acidifié, puis neutralisé, 10 c. c. + solution alcaline, 3 c. c.; 2° amidon acidifié, puis neutralisé 10 c. c. + suc pancréatique à 1 p. 10, 3 c. c. On porte ces tubes à 37° pendant deux heures, et on les traite comme il a été dit plus haut. On dose les substances réductrices formées; on obtient les chiffres suivants (en gr. par litre).

amidon acidifié, puis alcalinisé . . . . .	0
amidon acidifié, puis neutralisé + suc pancréatique	0,78

Ainsi, le contact de l'amidon cru avec HCl le rend partiellement digestible par le suc pancréatique.

#### Digestion pancréatique de l'amidon acidifié puis broyé.

Les deux phénomènes de broyage et d'acidification s'ajoutent ils au cours du passage de l'amidon cru dans le tube digestif et le rendent-ils digestibles par le suc pancréatique? Pour élucider ce problème nous avons fait l'expérience suivante:

Une émulsion d'amidon à 1 p. 100 broyé comme il a été dit plus haut, est traitée par l'acide chlorhydrique comme cela a été décrit. On fait alors les deux échantillons suivants: 1° amidon broyé, acidifié, puis neutralisé 10 c. c. + solution alcaline 3 c. c.; 2° amidon broyé, acidifié, puis neutralisé 10 c. c. + suc pancréatique à 1 p. 10, 3 c. c. On laisse 2 heures à 37° et on dose les substances réductrices. On obtient les valeurs suivantes (en gr. par litre):

amidon broyé, acidifié, puis alcalinisé. . . . .	0
amidon broyé, acidifié, puis neutralisé + suc pancréatique	1,6

Ainsi le broyage, suivi de l'acidification, rend l'amidon cru partiellement digestible par le suc pancréatique.

*Mon cher Confrère! <sup>1)</sup>*

*Je viens de faire une grave maladie, et je suis à peine convalescent. Je ne puis donc vous envoyer que quelques lignes.*

*Ce qui fait le mérite singulier de M. Popielski, c'est qu'il a toujours fait marcher de pair la clinique et la physiologie.*

*Il pensait, avec raison, que ceux qui virent quelques opposition entre la clinique et la physiologie n'ont rien compris ni à la clinique ni à la physiologie.*

*Excusez moi de ne pas vous écrire d'avantage, mais ma main défaillante ne peut pas plus.*

*En toute sympathie*

**Charles Richet**

---

<sup>1)</sup> List nadesłany przez Profesora Ch. Richet w odpowiedzi na zaproszenie do wzięcia udziału w wydawnictwie ku czci Profesora Popielskiego.



**TORALD SOLLMANN, GEORGE B. RAY**

**† WALTER E. HAMBOURGER**

## **Toksyczność mazi powstałej z nitrocelulozy przy destrukcji filmów radiograficznych wskutek gorąca**

Efekty toksyczne, łącznie z produkcją methemoglobiny, powstają wskutek wdychania emanacji z mazi, która tworzy się przy spalaniu filmów „eksplozywnych“. Toksyczność ta zależy przede wszystkim od rozkładu nitrocelulozy, który może nastąpić już przy względnie niskiej ciepłocie. Rozkład octanu celulozy nie daje tych efektów lecz mogą być one wyzwolone przez spalenie produktów żelatyny, która znajduje się w emulsji obydwóch typów filmów. Proces ten wymaga także wyższej ciepłoty.

---

### **FILM TAR**

## **The Toxicity of the Tar Resulting from the Heat-Destruction of Cellulose Nitrate Radiographic Films**

(Preliminary Communication)

**TORALD SOLLMANN, GEORGE B. RAY and WALTER E. HAMBOURGER**

From the Departments of Pharmacology and Physiology of Western Reserve University, Cleveland, Ohio, U. S. A.

The combustion of the ordinary cellulose nitrate radiographic or photographic films produces highly toxic volatile products. These comprise carbon monoxide and hydrogen cyanide, which may kill almost instantaneously; and the „nitrous vapors“, nitrogen dioxide, which cause fatal pulmonary edema. Aside from these toxic gases, there is also a copious yellow or brown

vapor which condenses as an odoriferous tarry deposit on all exposed surfaces and in the pores of the building material. This tar was also found to be toxic, producing cyanosis, convulsions and death. The intoxication was most severe if the animals inhaled the vapors from the heated tar, but it was produced also by the emanations at room temperature, and by oral administration. Spectrophotometric examination of the blood, by the H u f n e r principle, showed the formation of methemoglobin, which continued to increase after the blood had been laked. This indicates that the toxic substance does not penetrate very readily into the corpuscles. Decisive readings were therefore taken promptly and uniformly, five minutes after dilution of the blood with 0,04 percent ammonia. At this time blood of poisoned animals, white mice and rats, shows that 25 to 50 percent or more of the hemoglobin exists as methemoglobin. If the laked blood was allowed to stand, practically all the hemoglobin was converted. It may be mentioned in passing, that the bloods did not contain carbon monoxide hemoglobin, which would have interfered with the method.

The tars which were used in these investigations were obtained from various locations in the building of the Cleveland Clinic, where a considerable quantity of films had become accidentally ignited; from Edgewood Arsenal, where a large amount of film was burned experimentally; and from experimental combustions under laboratory conditions. These tars showed only minor differences, and these chiefly in the physical characters. They are quite soluble in water, and are strongly acid to litmus. Attempts to separate the toxic principle by fractional distillation, by fractional salting, and differential solvents proved unsuccessful, for practically all the fractions were toxic, with the characteristic formation of methemoglobin. It appears, therefore, that a number of the constituents possess this action, and this would be expected from the nitrogenous constituents which have been found in the tar. Besides, camphor derivatives, this is said to contain nitrates, and traces of nitrites, cyanides, isocyanides, and hydroxylamine derivatives.

Failure also attended the efforts to destroy or neutralize the toxicity of the tar by various chemical means. Mixture of the tar with aqueous solutions of the following agents had no



significant effect on the toxicity of the vapors: potassium permanganate, chlorinated lime, chlorinated soda, chlorinated ammonia, sulphur dioxide, and oxalic acid.

Finally, the various components of the photographic films were separately subjected to destructive distillation, with tests of the vapors on animals, to learn the source of the toxic tar. The base of the supporting film is either cellulose nitrate in the „explosive“ films, or cellulose acetate in the „safety“ films. Both contain about 9 percent of camphor, and are coated with a silver-gelatin emulsion. It was found that the cellulose nitrate film, from which the emulsion had been stripped, decomposes when heated even below  $100^{\circ}$  C, and that the vapors are rapidly fatal to mice, with the characteristic methemoglobin formation. Cellulose acetate does not decompose till a higher temperature is reached, and the vapors were found to produce only carbonmonoxide hemoglobin, not methemoglobin. Methemoglobin was, however, produced by heating ordinary safety film to a high temperature. This was found to be due to the decomposition of the gelatin; for the inhalation of the vapors from the decomposition of purified gelatin, heated above  $150^{\circ}$  C; resulted in fatal concentration of methemoglobin.

To summarize: Toxic effects, including methemoglobin formation, are produced by the inhalation of the emanation from the tar formed in the combustion of the „explosive“ films. This toxicity is due chiefly to the decomposition of the cellulose nitrate, which occurs at a relatively low temperature. The decomposition of cellulose acetate does not produce these effects; but they can be stimulated by the combustion products of the gelatin which is present in the emulsion of both kinds of film. This also requires higher temperatures.

**PAUL STRADIN**

## O ROPNIU BRODIE'GO

(Brodie's Abscess)

Przed 100 laty autor angielski Brodie opisał swoistą postać zapalenia szpiku kostnego i podał opis kliniczny choroby. Dopiero jednak badania rentgenologiczne i bakterjologiczne ostatnich 20—30 lat pozwoliły na wyjaśnienie tej choroby. Autor omawia znaczenie schorzenia, stosunek do innych zmian patologicznych o podobnych objawach oraz podaje sposoby leczenia.

---

## BRODIE'S ABSCESS

**PAUL STRADIN, M. D.**

(Surgical Clinic of the Latvian University)

Hundred years ago the English surgeon Brodie described a special form of osteomyelitis in which round-shaped pus-containing cavities in the epiphysis of the long bones were found. Although Brodie could not dispose of any of the modern bacteriologic and roentgenologic methods of investigation, he gave a very clear and consize clinical picture of this disease

Bacteriologic and especially roentgenologic data of the last 20—30 years have helped to clear up the question.

Literature on this question is rather scarce, and even large surgical textbooks give but a short account of the disease. Brodie described nine cases. Gross (1901) collected 141 cases from literature and Thomson in 1906 gave us statistics of 161 cases. Henderson and Simon joined to this series 13 cases



from the Mayo Clinic and 26 additional cases from literature. Reinberg (1928—1930) collected 13 more cases from literature and described 5 cases of his own. During the last year we have observed two cases in the surgical clinic of the Latvian University. With the cases already mentioned we get altogether statistics about 220 cases.

The following are the histories of our cases: I. S. 20 years of age came to the clinic on 29-th of August 1929 complaining of painfulness in the right knee joint. Six years ago he had had an osteomyelitis of the left tibia which had been operated upon. The wound had been closing very slowly. The pain and swelling in the right knee joint region began 4 years ago and since then the patient has always had an intermittent pain in the upper third of the right calf and right knee joint. A month ago a fistula opened inside the upper third of his right tibia and there was a slight discharge from the opening since. The temperature was normal; the blood formula is normal except a slight lymphocytosis (9280 leucocytes, 51,5% neutrophiles, 40% lymphocytes, 3% eosinophiles, 2% monocites, 0,5% basophiles, plasma cells 1,5%). The Wassermann test in the blood was negative. The Ponnedorff test for tuberculosis was also negative. The X Ray showed a round-shaped bone defect in the proximal end of the right tibia; the diameter of the affected part was about 2,5 cm (fig. 1). The cavity was surrounded by a very sclerotic capsula; there was no sequestrum in the centre of the cavity; a slight periostitis of the upper end of the tibia was noted. Basing on the X Ray picture we diagnosed a Brodie's abscess and an operation was performed. The anterior wall of the tibia was chiseled away and the abscess cavity drained. It was scraped out and partially obliterated by filling it with the overlying soft tissues. The cavity was of the size of a walnut and was lined by granulation tissue. It contained a thick yellowish green pus; bacteriologic examination revealed staphylococci. The postoperative period passed without any complications except for a very slow closure of the wound. The wound was healed in 4 months after the operation and since then there was neither painfulness nor tenderness in the right knee joint region.

The second case was P. S. 36 years of age who came into the clinic on 4-th January 1930 complaining of pain in the right

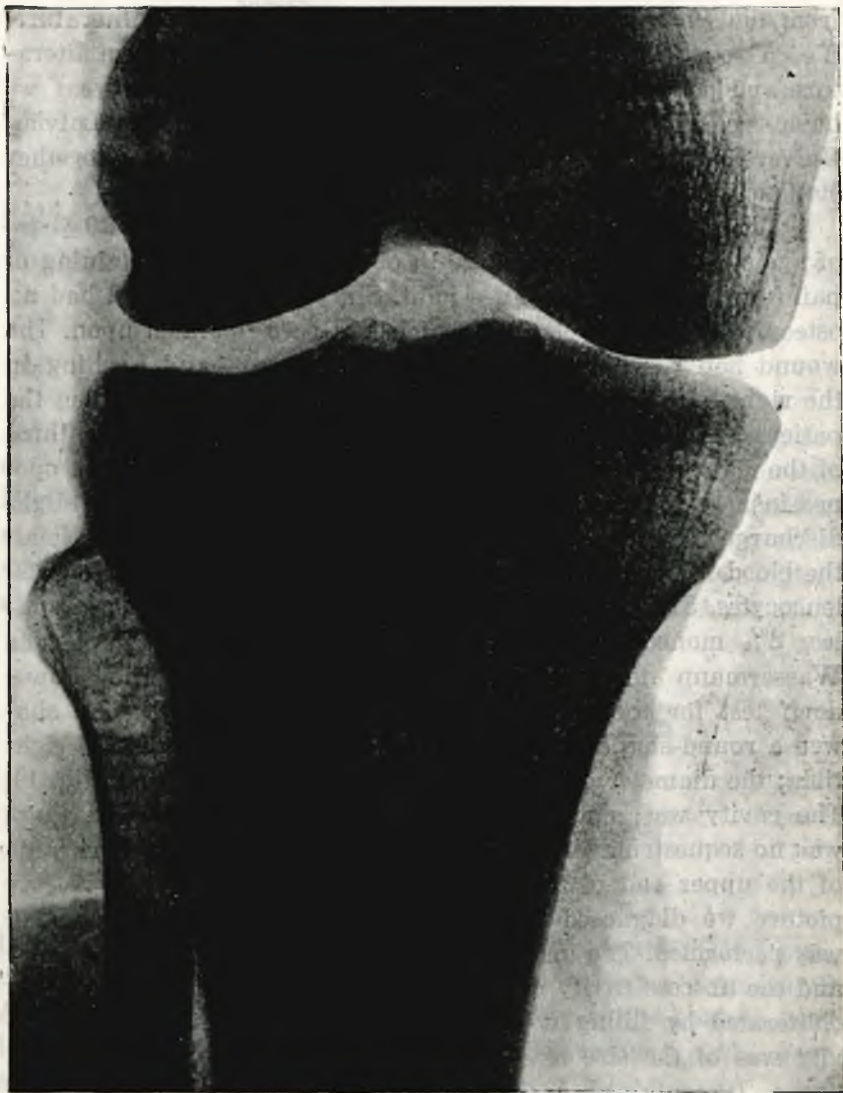


Fig. 1.

knee joint and in the upper part of the right calf. The illness had begun several months ago. At first the pains had not been very severe, but in the last 7 weeks the painfulness had grown and made walking impossible. In 1915 the patient had had pneumonia, in 1917 typhus exanthematicus. The examination showed



a slight, tender swelling of bluish red colour in the upper part of the right tibia. The temperature was normal in the morning, 37,1—37,3 in the evening. The blood formula was 3780000 erythrocytes, Hb—72%, leukocytes 8800; 62% neutrophiles, 23,5% lymphocytes, 6% eosinophiles, 0,5% basophiles. The Wassermann test in the blood was negative. The X Ray of the right calf showed a small round-shaped defect in the head of the tibia — 1,5 cm in diametre. No sequestrum was seen in it. There was no periostitis nor any atrophy of the bone (fig. 2). A puncture with a thick needle through the thin surface of the tibia was made and it gave 2 ccm of reddish-yellow fluid which on bacteriologic examination proved to be sterile. The Ponndorff test was negative. As there was no long history of the illness, and the fluid in the abscess cavity was sterile, the abscess itself being rather small, — X Ray therapy was started. The right knee joint region was irradiated 3 times. After the second application of the X Ray the pains ceased and the patient began to walk, the temperature being normal. A month later a second series of X Ray therapy was applied. 6 months later the patient had fully recovered and did not complain of any pains.

Although the Brodie's abscess gives a rather typical clinical and roentgenological picture, the disease being rare, a correct diagnosis is seldom made. The patient is usually being treated for many years for some other disease (rheumatoid or lumatic arthritis). In one of Reinberg's cases the abscess was diagnosed only 34 years after the onset of the disease.

The Brodie's abscess is usually localized in the spongy cancellous part of the epiphysis of the long bones. More often the bones in the elbow, knee joint and ankle region are affected. In 80% of all cases the abscess cavity is situated in tibia, usually in the proximal end of this bone.

The abscess formation begins probably in childhood or youth. Males are affected by the disease as often as females.

In the beginning of the disease the clinical symptoms are rather indefinite. There are indefinite pains in the affected part of the extremity, that, are very often erroneously localized by the patient in the neighbouring joint. The painfulness is increasing at night, also when walking or during the work. Slight

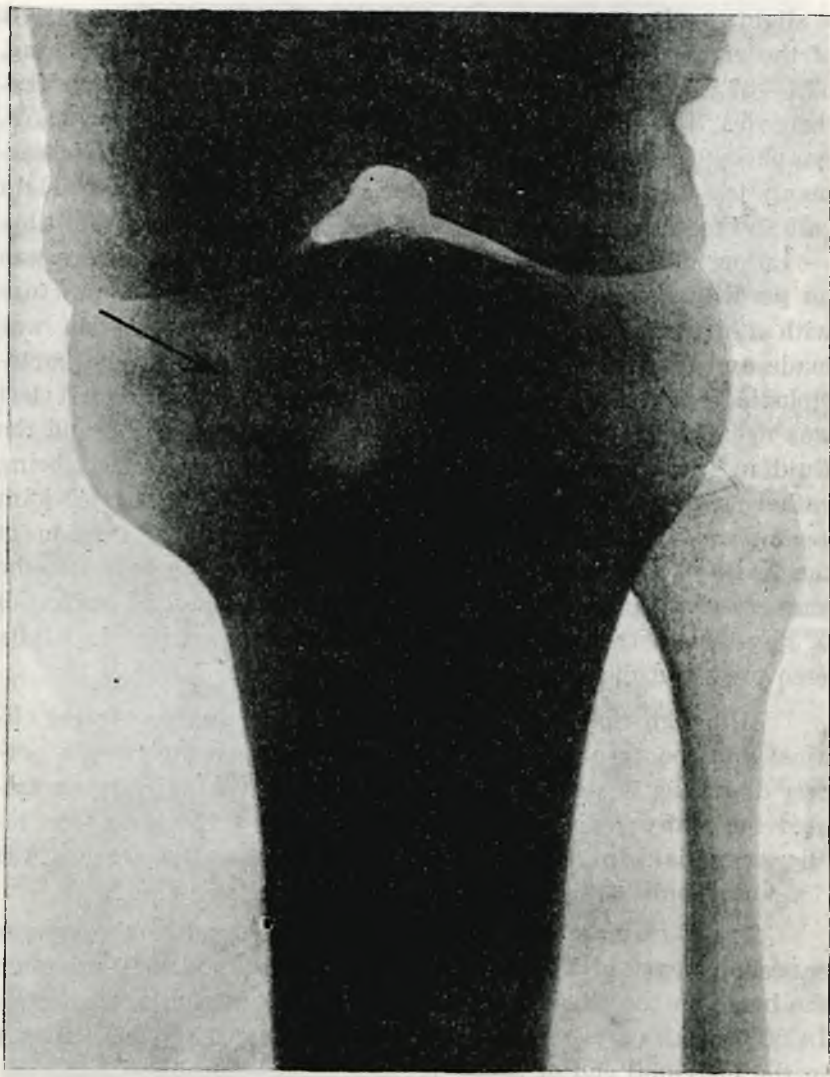


Fig. 2.

trauma may occasionally be one of the causes of the disease. More often we find osteomyelitis in the previous history of the disease (our I case). In Thomson's series (161 cases) history previous osteomyelitis was found in 122 cases. The patient may have no troubles for a number of years. The temperature is usu-



ally normal. There may be a slight leucocytosis (H e n d e r s o n and S i m o n). There is usually a slight accompanying synovitis in the neighbouring joint. The amount of pus in the abscess cavity varies from a few *ccm* to many hundred *ccm*. T h o m s o n records a very interesting case in which an abscess cavity containing 500 *ccm* of pus was found in the upper third of the tibia. The bone had an opening of 2,5 *cm* in diameter. It was recorded that the patient been living for many years with this infirmity and that he had been using a wooden plug which he periodically removed to empty the abscess cavity of pus. The pus may be either thick and creamy or very thin, straw coloured fluid. Sometimes it is sterile, or there may be found staphylococci of a slight virulence. In a few cases typhoid bacilli have been found. H e n d e r s o n and S i m o n searched for tuberculous bacilli in their cases by bacteriological investigation and by animal inoculation, but they did not find any of them.

The X Ray picture is very typical. A round or ovalshaped cavity several *cm* in diameter is found in the epiphysis of the long bones. On the margin of the abscess a certain degree of osteosclerosis is seen, which gives sometimes a picture of the abscess being incapsulated. In some cases there is a narrow area of 2 *mm* — 3 *mm* separating the abscess from the joint cavity. The perforation in the joint or through the skin occurs very seldom. There is no sequestrum in the cavity and a slight accompanying periostitis is usually present.

The B r o d i e' s abscess results of the embolism of one of the small end arteries in the epiphysis of the long bones in cases of osteomyelitis or some other chronic infection. As the infection is usually of low virulence, the necrotic part of the spongy substance results in a chronic abscess. The neighbouring healthy bone thickens to separate the abscess cavity from the normal bone.

The diagnosis of the B r o d i e' e abscess is not difficult if there is a good X Ray picture. The vulgar chronic osteomyelitis shows usually one or more sequestra and a rather striking accompanying periostitis. The shadows are irregular, osteosclerotic regions changing with osteoporotic areas. The clinical picture in chronic osteomyelitis is also quite different; the pus breaks out very often externally or into the joint cavity.

Further on the Brodie's abscess can be wrongly diagnosed as a tuberculous osteitis or a central gumma. In the cases of tuberculosis we usually find a diffuse osteoporosis. Besides, the abscess cavity is smaller, it has an irregular form and there is no distinct separation from the adjacent bone. Sometimes we find one or more small sequestra and the process often breaks in to the neighbouring joint or externally.

A gumma is usually smaller, often multiple; there is no pyogenic membrane. Other clinical data and a positive Wassermann test help to clear the diagnosis.

The metatyphoid abscesses are usually smaller; they contain sequestra and are seldom localized in the spongy substance of the long bones.

The bone cysts are, as a rule, larger; multiple cameras are to be seen; the substance of the surrounding bone is normal.

The so called „giant cell sarcoma“ which as a matter of fact is a nonmalignant condition having an expansive growth of a very long duration differs from the Brodie's abscess with being sharply separated from the normal surrounding bone and with a multicellular appearance. There is a very thin layer of cortical substance.

The true sarcomas are growing very quickly and have a destructive type of growth.

Osteitis fibrosa is usually localized in metaphysis, there is no round-shaped cavity but many separated cameras; there is no accompanying periostitis; the surrounding spongy substance is quite normal.

The Brodie's abscess, as was already mentioned, is often confused with arthritis (luetical, rheumatic etc.). The X Ray picture clears the question.

The treatment is usually operative. Brodie amputated the leg in one of his first cases. The dissection of the specimen showed that such a radical procedure was not necessary. A trephining of the bone with consecutive scraping and packing is the most of ten used procedure. This results in a radical cure of the abscess. There are some difficulties in closing the cavity, as it takes sometimes a rather long time. That is why some of the authors (Brickner) have proposed to make a small opening



with a drill to empty the abscess cavity. This method shortens the postoperative period.

In our second case the X Ray therapy was used with good results. The chronic osteomyelitis, especially the recidives are often treated with X Ray (v. Eiselberg's school).

It seems to us that in cases where the abscess content is sterile or the infection is of slight virulence and the abscess cavity is small — X Ray therapy should be applied.

**ERIK M. P. WIDMARK**

## **Alkohol a medycyna sądowa**

(L'alcool et la médecine légale)

Autor omawia znaczenie alkoholu dla życia społecznego, opisuje znaczenie badań alkoholu we krwi metodą mikrometryczną, opracowaną przez siebie i przedstawia prawa rozmieszczenia alkoholu, stężenia we krwi i w związku z tem zmiennej tolerancji na alkohol.

Badania autora mają znaczenie teoretyczne i praktyczne. Prawa podstawowe stosunków ilościowych alkoholu etylowego w ustroju zostały ustalone a praktyczne znaczenie wynika z faktu, iż za pomocą jednego oznaczenia alkoholu we krwi można obliczyć nie tylko jego ilość w danym momencie w ustroju, ale nawet ilość wchłoniętą wogóle od początku danego spożycia.

Badania autora znalazły już praktyczne zastosowanie w Szwecji dla celów kontroli policyjnej.

---

## **L'alcool et la médecine légale**

par

**ERIK M. P. WIDMARK**

(L'institut de Chimie médicale de L'Université de Lund, Suède)

Le sujet que je vais avoir l'honneur de traiter est de la plus haute importance. La vie moderne se caractérise par le fait que, plus que jamais, nous prenons les chevaux-vapeur à notre service. Dans la circulation de tous les jours, nous les bridons par des mouvements musculaires à peine perceptibles.



Il faut, plus que jamais, de la précision dans ces mouvements pour que, dans son aveuglement, l'énergie déchaînée ne cause des malheurs qui échappent à toute prévision.

L'action de l'alcool, émoussant le discernement et la précision des muscles, est devenue la cause d'innombrables accidents de circulation. On peut dire que l'influence exercée par l'alcoolisme aigu sur la circulation est devenue un des graves problèmes qu'il faut résoudre pour mener à bonne issue la lutte contre l'alcool.

A la diagnose de l'alcoolisme aigu, de l'ivresse, s'attache une importance croissante au point de vue de la médecine légale. Il n'y a pas d'exagération à dire que, tous les jours, la question se pose de savoir si un accident d'automobile, la chute d'un avion ou une collision de trains est dû à l'ébriété du conducteur de l'engin ou non.

Je n'ai pas l'intention de parler ici des difficultés que présente cette diagnose ni de décrire les différentes méthodes de recherches en usage, actuellement dans les différents pays.

Je veux simplement indiquer d'abord les grandes lignes du système introduit provisoirement en Suède.

Chez nous, le Gouvernement a fait faire une enquête dans le but de constater si la détermination de la teneur en alcool du sang peut faciliter la diagnose, en partant de la saine conception que la fixation de la quantité du toxique doit former la base de la diagnose de l'intoxication. Il est surprenant, puisqu'on a toujours suivi ce principe pour la plupart des autres intoxications, qu'on ne soit pas parvenu à l'établir lorsqu'il s'agit de l'intoxication la plus commune et la plus importante, celle de l'alcool.

A la base de la détermination de la teneur en alcool du sang, est en Suède, la microméthode, élaborée par moi, il y a huit ans. Pour déterminer l'alcool à l'aide de cette méthode, il suffit de deux ou trois gouttes de sang, qu'on obtient par une simple piqûre dans le bout du doigt. Les personnes à examiner se sont invariablement soumises de bonne grâce à la petite opération.

Le bureaux de police de toutes les villes de Suède disposent actuellement d'un certain nombre de petits paquets contenant chacun trois petits tubes capillaires munis d'un bouchon

en caoutchouc. (Fig. 1). L'intérieur des tubes est revêtu d'une mince couche d'oxalate et de fluorure. En en trempant un des bouts dans la goutte de sang, le tube se remplit automatiquement et grâce aux sels, le sang reste à l'état liquide et à teneur en alcool inchangée durant six jours au moins. Des protocoles sont dressés des symptômes cliniques par le médecin examinateur et envoyés, avec les capillaires, à l'Institut de Chimie médicale de Lund, qui se charge des analyses pour le pays entier.

La première objection que vous allez me faire contre ce système est la suivante: Il est un fait connu que des personnes différentes supportent l'alcool d'une manière différente. Un tel peut en consommer de grandes quantités sans être visiblement affecté, tandis que tel autre est parti déjà après avoir pris deux ou trois petits verres seulement. Cela est exact. La tolérance vis-à-vis de l'alcool varie.

Si nous allons au fond du problème, il devient évident que la première division à en faire, la division élémentaire, est la suivante:

1. La variabilité de la tolérance, dépend-elle de ce qu'une même consommation amène chez des personnes différentes une concentration différente dans le sang?
2. La variabilité de la tolérance, dépend-elle de ce que des personnes différentes réagissent différemment à une même concentration dans le sang?

Il est probable que la variabilité de la tolérance tient aux deux facteurs. Le sujet principal de cette conférence est cependant de montrer qu'on peut répondre affirmativement à la première question. Je vais donc vous expliquer pourquoi il faut qu'une tolérance variable soit, même si la réponse à la seconde question est négative. En d'autres termes, une même consommation peut donner, chez des personnes différentes, des concentrations d'alcool dans le sang, de même que dans les tissus sensibles à l'action de l'alcool, concentrations qui diffèrent jusqu'au quintuple et plus, l'une de l'autre. Par là est aussi

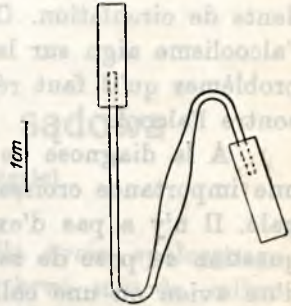


Fig. 1.



donnée l'explication première, primordiale du problème de la tolérance vis-à-vis de l'alcool, la tolérance chimique.

Mes recherches m'ont conduit à énoncer certaines lois simples pour la distribution et le métabolisme de l'alcool, lois qui permettent de calculer, avec la certitude d'un essai in vitro,

la concentration d'alcool produite par la résorption d'une quantité d'alcool connue et, vice versa, de déterminer la quantité résorbée, en partant d'une détermination de la teneur en alcool du sang.

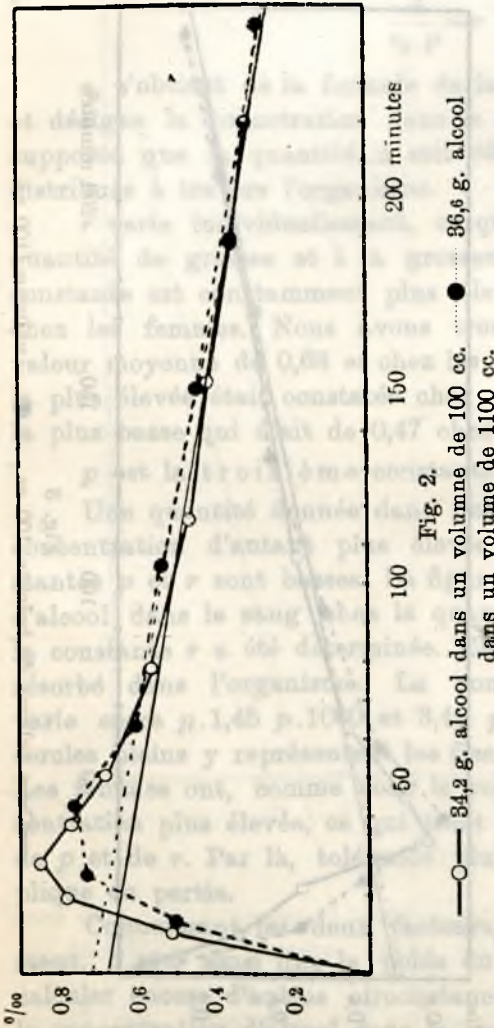
Ces lois apparaissent, si l'on analyse le cours de la courbe de l'alcool depuis la fin de la résorption et l'établissement d'un équilibre de diffusion approximatif entre la teneur en alcool du sang et des tissus. Ceci a lieu entre une heure et une heure et demie après la consommation de l'alcool à jeun.

Comme la montrent les figures 2 et 3, la courbe de l'alcool forme une ligne absolument droite, dès qu'ont cessé les variations passagères de la période de résorption.

Cette ligne droite qui peut s'écrire

$$c_t = c_0 - \beta t,$$

dit donc que la concentration d'alcool dans le sang diminue d'une valeur qui est indépendante de la concentration et déterminée par la constante  $\beta$ .  $\beta$  est donc la première,

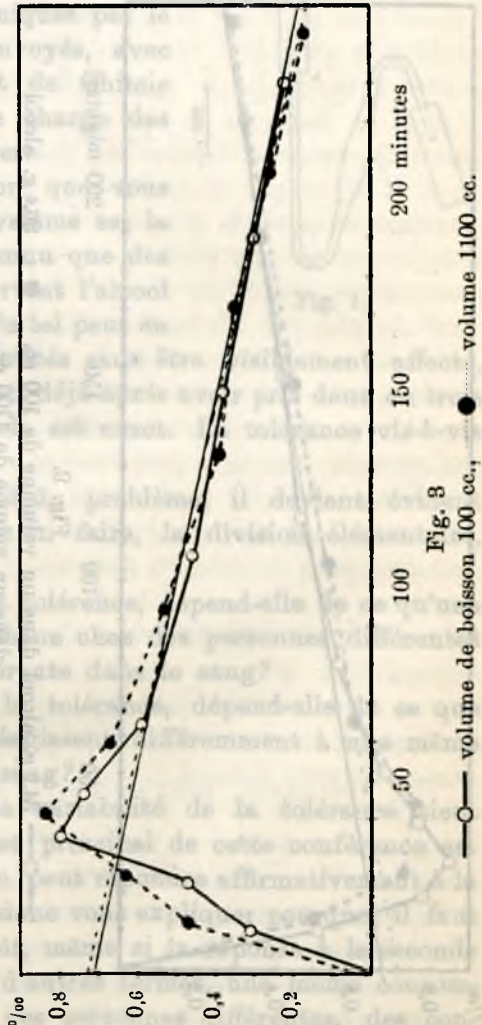


constante individuelle dont il faut étudier les variations.  $\beta$  est indépendant de la concentration et de la quantité de la boisson ingérée jusqu'aux quantités léthales. Elle reste sans changement durant des mois. En prenant la minute pour unité de temps,  $\beta$  est, la personne étant au repos ou en mouvement modéré, égale chez les hommes et chez les femmes, soit de 0,0026 en moyenne. La valeur la plus élevée observée était de 0,0040 et la plus basse de 0,0017, soit une différence de plus 100 p. 100.  $\beta$  étant l'expression univoque de la vitesse du métabolisme de l'alcool, il est intéressant de connaître si la valeur numérique de la constante en cas d'usage habituel d'alcool. Des recherches à est effet sont en cours d'exécution.

Si l'alcool avait été réparti uniformément dans le sang et dans les tissus, la quantité totale d'alcool présente dans le corps ( $A$ ) aurait évidemment été égale au produit de la concentration dans le sang ( $C$ ) et le poids du corps ( $p$ ):

$$A = c p.$$

Tel n'est cependant pas le cas. La concentration est, en moyenne, plus basse dans les tissus que dans le sang. Pour que le calcul donne des valeurs exactes, il faut retrancher du poids du





corps une certaine constante  $r$  qui est inférieure à 1, ce qui donne

$$A = c \cdot p \cdot r$$

$r$  est la seconde constante individuelle qui détermine la concentration d'alcool dans le sang. On peut la calculer en partant de l'expression

$$\frac{A}{c_0 \cdot p} = r$$

$c_0$  s'obtient de la formule de la ligne droite déjà indiquée et désigne la concentration dans le sang, à la condition pré-supposée que la quantité  $A$  soit résorbée momentanément et distribuée à travers l'organisme.

$r$  varie individuellement, ce qui tient probablement à la quantité de graisse et à la grosseur du système osseux. La constante est constamment plus élevée chez les hommes que chez les femmes. Nous avons trouvé chez les hommes, la valeur moyenne de 0,68 et chez les femmes de 0,55. La valeur la plus élevée était constatée chez un homme soit de 0,86 et la plus basse qui était de 0,47 chez une femme.

$p$  est la troisième constante individuelle.

Une quantité donnée dans l'organisme amène ainsi une concentration d'autant plus élevée dans le sang que les constantes  $p$  et  $r$  sont basses. La figure 4 montre la concentration d'alcool dans le sang chez la quarantaine de personnes dont la constante  $r$  a été déterminée. Elles ont toutes 100 g d'alcool résorbé dans l'organisme. La concentration dans le sang varie entre  $p.1,45 p.1000$  et  $3,46 p.1000$  au maximum. Les cercles pleins  $y$  représentent les femmes, les autres les hommes. Les femmes ont, comme vous le voyez, en général, une concentration plus élevée, ce qui tient à leurs valeurs plus basses de  $p$  et de  $r$ . Par là, tolérance plus faible des femmes s'explique en partie.

Connaissant les deux facteurs, conditionnés constituuellement,  $\beta$  et  $r$  ainsi que le poids du corps, on est à même de calculer encore d'autres circonstances importantes concernant la concentration d'alcool dans la sang et dans les tissus.

La quantité d'alcool métabolisée par unité de temps ( $b$ ) est évidemment

$$b = p \cdot r \cdot \beta.$$

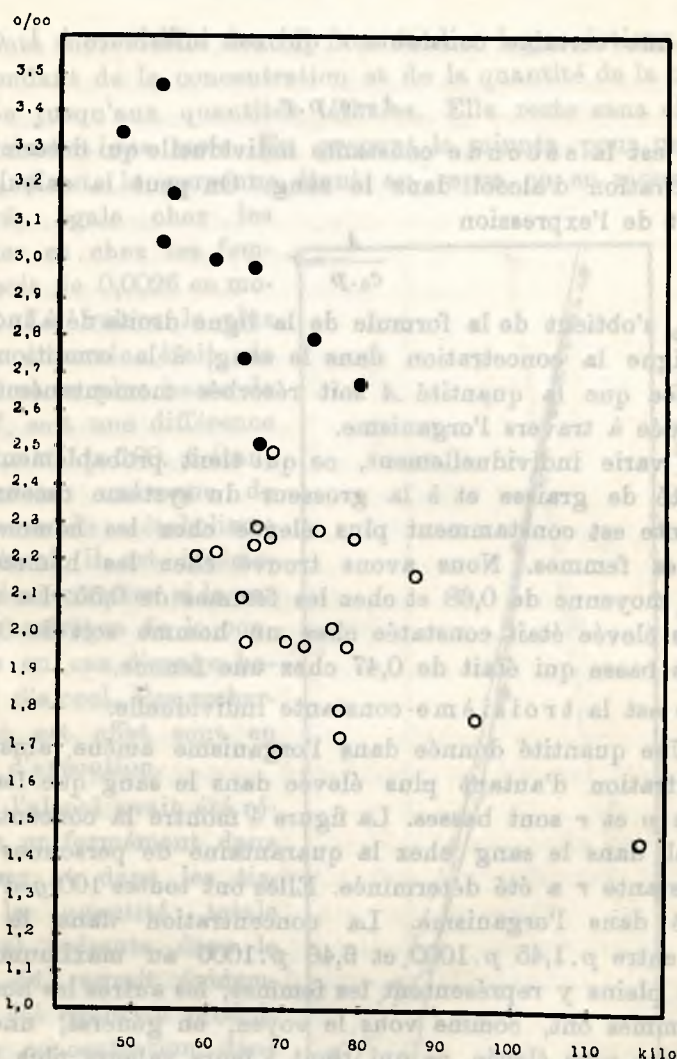


Fig. 4.

Par heure, le métabolisme a été constaté à 11 g au maximum et 4 g au minimum. Les hommes métabolisent en moyenne 7,3 g, les femmes 5,3.

L'exactitude de ces formules est démontrée par l'essai suivant:

Une personne ingéra toutes les heures 13 g d'alcool à jeun. L'on détermina la concentration d'alcool immédiatement avant



chaque consommation répétée. Si notre conception de la stabilité des constantes est correcte, la concentration doit, dans ces déterminations, être celle-ci :

$$c_t = \frac{A}{p r} - \beta t.$$

Du moment qu'elles sont faites en combinaison directe avec des consommations régulières les déterminations doivent se trouver sur une ligne droite. La figure 5 montre que tel est en effet le cas, et le tableau 1 prouve la concordance entre les valeurs calculées et les valeurs trouvées chez les personnes objets de l'essai dont les constantes avait été mesurées préalablement.

Un léger remaniement de la formule nous permet de calculer par la concentration la quantité d'alcool consommée.

Nous voyons donc qu'on peut avec une sûreté extraordinaire calculer la consommation à jeun par la concentration du sang, même si cette consommation a été étendue sur une période de temps de cinq heures. Ceci est vrai aussi

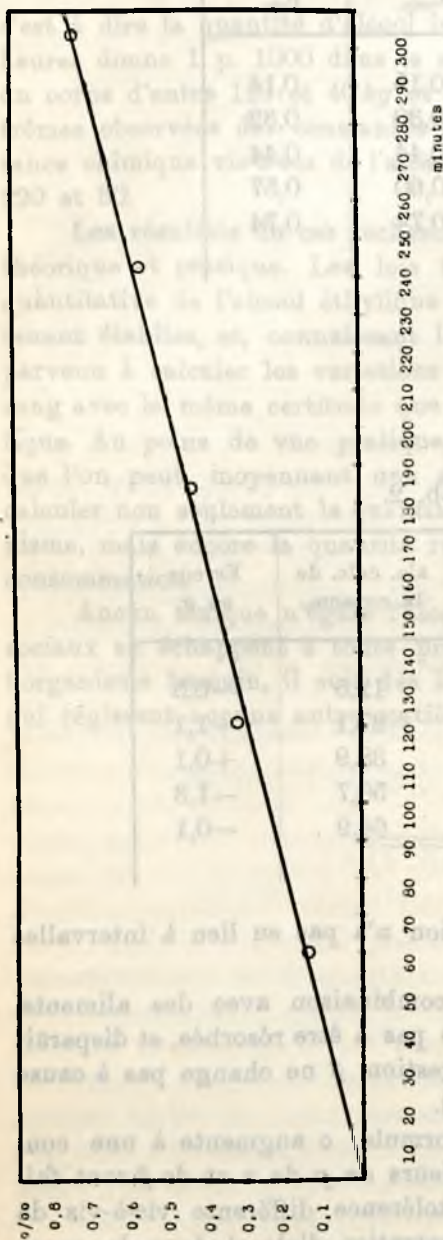


Fig. 5.

Tab. 1.

$t$	$c_{calc.}$	$c_{obs.}$
61	0,15	0,14
121	0,30	0,32
184	0,44	0,44
242	0,60	0,57
304	0,74	0,74

T. P., Homme :

$$p=70 \text{ kg}$$

$$r=0,72$$

$$\beta=0,0018$$

Tab. 2.

$t$	total d'alc. consom.	alc. calc. de la consom.	Erreur en g.
60	13	12,5	-0,5
121	26	27,1	+1,1
184	39	38,9	+0,1
242	52	50,7	-1,3
304	65	64,9	-0,1

dans le cas où la consommation n'a pas eu lieu à intervalles réguliers.

Si l'alcool est ingéré en combinaison avec des aliments, une petite quantité n'en arrive pas à être résorbée, et disparaît pendant le processus de la digestion.  $\beta$  ne change pas à cause d'aliments ingérés avec l'alcool.

Comme il ressort de la formule,  $c$  augmente à une consommation donnée plus les valeurs de  $p$  de  $r$  et de  $\beta$  sont faibles. La formule explique la tolérance différente vis-à-vis de l'alcool, par rapport à la concentration d'alcool dans le sang.



La tolérance chimique vis-à-vis de l'alcool peut se définir comme suit :

$$T = pr(1 : 300 \beta),$$

c'est à dire la quantité d'alcool ingérée à jeun qui, après cinq heures donne 1 p. 1000 dans le sang. A une variation du poids du corps d'entre 120 et 40 *kg* et en se servant des valeurs extrêmes observées des constantes *r* et *β*, on trouve que la tolérance chimique vis-à-vis de l'alcool peut varier entre les valeurs 220 et 30.

Les résultats de ces recherches sont d'un intérêt à la fois théorique et pratique. Les lois fondamentales de la relation quantitative de l'alcool éthylique dans l'organisme sont maintenant établies, et, connaissant les constantes posées, on est parvenu à calculer les variations dans la teneur en alcool du sang avec la même certitude que les réactions d'un essai cinétique. Au point de vue pratique, il est important de savoir que l'on peut, moyennant une seule détermination du sang, calculer non seulement la quantité d'alcool présente dans l'organisme, mais encore la quantité résorbée depuis le début de la consommation.

Aucun toxique n'égale l'alcool en importance. Les effets sociaux en échappent à toute prévision. Mais, introduit dans l'organisme humain, il suit des lois mieux définies que celles qui régissent aucune autre matière.

**EDGARD ZUNZ**

## **W sprawie zmian krzepliwości krwi pod wpływem leków**

**(A propos des modifications de la coagulation du sang sous l'influence  
des médicaments)**

Autor omawia dokładnie najnowsze zapatrywania odnoszące się do mechanizmu krzepnięcia krwi oraz rozważa wpływ adrenaliny, naświetlania ustroju promieniami X, zmiany chemiczne i humoralne krwi w związku z procesami zmian w jej krzepliwości, wreszcie bada wpływ niektórych połączeń arsenowych na krzepliwość krwi in vitro i w ustroju zwierzęcym.

---

### **A propos des modifications de la coagulation du sang sous l'influence des médicaments**

par

**EDGARD ZUNZ**

professeur à l'Université de Bruxelles

On trouve dans la littérature médicale de nombreuses données à propos de l'action de divers médicaments et de différents procédés thérapeutiques sur la coagulation du sang. On rencontre malheureusement dans la plupart des cas les assertions les plus contradictoires pour un même remède, accélération de la prise en bloc du sang extravasé selon certains auteurs, retard au contraire d'après d'autres chercheurs. Ces discordances sont assurément en partie dues à l'emploi de techniques insuffisamment rigoureuses, mais proviennent sur-



tout du fait que les effets de beaucoup de substances sur la coagulation du sang dépendent, en réalité, de la voie d'administration et de la quantité administrée. Tel est par exemple le cas de l'adrénaline.

Avant de l'examiner, il importe toutefois de rappeler que l'accord est encore loin d'être établi sur le mécanisme de la coagulation du sang. Les travaux récents de C. A. Mills d'une part, de H. F. Fuchs et de M. von Falkenhausen, d'autre part, remettent en question diverses données qu'on croyait bien acquises. On peut néanmoins encore considérer à l'heure actuelle comme la plus probable, malgré les critiques de ces auteurs et de Wöhlisch, la conception de Bordet et de Delange. D'après ces derniers, le plasma sanguin renferme une substance spéciale, le prosérozyme dont la transformation en sérozyme en présence d'ions Ca constitue la première phase de la coagulation. Dans une deuxième phase le sérozyme s'unit au cytozyme exsudé des plaquettes (et probablement aussi des leucocytes et des tissus) pour donner naissance à la thrombine. Dans une troisième phase la thrombine néoformée réagit avec le fibrinogène sécrété par le foie pour constituer un fin réseau de trabécules de fibrine qui en s'organisant amène la gélification du sang. Puis le caillot se rétracte et laisse exsuder du sérum.

Le cytozyme est essentiellement constitué d'un glycéro-phosphoaminolipide indispensable à la formation de la thrombine que j'ai proposé, avec la Barre, d'appeler cytozymbine, accompagné de quantités variables de substances accélératrices de la formation de thrombine ou thromboplastiques (lécithine, céphaline, acides aminés, etc...) présentes dans le jus de tissu et provenant peut-être aussi des plaquettes et des globules blancs et rouges. Ces substances thromboplastiques interviennent probablement en outre dans l'action de la thrombine sur le fibrinogène.

Enfin le plasma sanguin renferme aussi des substances appelées antithrombines qui entravent les divers stades de la coagulation et s'opposent en général davantage à la première phase qu'à la seconde et surtout à la troisième.

On peut résumer dans le schéma suivant le mécanisme de la coagulation du sang :





sérozyme (première phase de la coagulation) et à une apparition plus précoce de la thrombine dans le milieu (deuxième phase). L'action de la thrombine ne semble subir aucune modification.

L'injection intraveineuse de très fortes doses de chlorhydrate d'adrénaline (1 à 2 décimilligrammes par kilogramme), voisines de la dose mortelle chez le chien, retarde très souvent la coagulation, par suite de l'augmentation de la teneur du sang en antithrombines.

Le taux en fibrinogène du sang n'est modifié *in vivo* de façon appréciable par aucune dose d'adrénaline.

La discordance entre l'absence de toute action de l'adrénaline *in vitro* et ses effets hyper- et hypo-coagulants *in vivo* tend à faire croire que ces derniers sont très probablement indirects; leurs causes réelles nous sont, à l'heure actuelle, encore tout à fait inconnues.

Chez l'homme, on emploie l'adrénaline en quantités qui correspondent aux doses accélératrices chez le chien. Ceci n'est guère en faveur de l'opinion selon laquelle ce serait à l'adrénaline qu'il faudrait attribuer les hémorragies parfois observées quelque temps après l'anesthésie locale.

Dès 1905, Gramigna a signalé l'accélération de la coagulation sanguine chez des animaux soumis à de faibles doses de rayons Roentgen. Elisabeth Hofman a fait les mêmes constatations avec du sang humain soumis *in vitro* à l'influence des rayons X. Traugott, Stephan, Neuffer, Ohara, Kurtzahn, Jurasz, Szenes, Nonnenbruch et Szyzka, Wöhlisch, von Lindhardt et beaucoup d'autres auteurs ont établi l'accélération de la coagulation du sang provenant d'animaux ou d'hommes dont on a irradié l'abdomen.

La Barre a montré que le sang prélevé deux à six heures après l'irradiation de la région splénique par des doses comprises entre 100 et 300 R allemands présente, chez le chien, de l'hypercoagulabilité. Celle-ci dépend essentiellement d'une accélération de la transformation du prosérozyme en sérozyme, tout comme après l'injection intraveineuse de petites quantités d'adrénaline.

Des résultats divergents ont été obtenus par les divers auteurs qui se sont occupés de la coagulation sanguine chez

les lapins irradiés. La raison en est, comme pour l'adrénaline, que les effets varient selon la dose administrée; il faut, en outre, tenir compte de la nature des rayons employés. Voici les données auxquelles j'ai abouti avec La Barre: chez les lapins irradiés au moyen de rayons X durs, à pouvoir de pénétration considérable et à courte longueur d'onde, on obtient, suivant la dose employée, des effets variables sur la coagulation du plasma oxalaté recalcifié. Des doses très faibles (moins de 75 R) restent sans action sur la coagulation, des doses modérées (100 à 175 R) accélèrent ce processus, des doses moyennes (200 à 600 R) ne le modifient pas, des doses élevées (700 R et davantage) le retardent.

La teneur du plasma en calcium et le taux du sang en dextrose augmentent chez les lapins irradiés par 100 à 600 R, c'est-à-dire par les doses ayant amené de l'hypercoagulabilité et aussi par celles, plus élevées, n'ayant pas modifié la coagulation du plasma oxalaté recalcifié.

Si l'on fait agir sur la région splénique du lapin des doses hypercoagulantes (100 à 175 R) de rayons X durs, la pression carotidienne s'élève peu à peu; l'hypertension atteint son maximum au bout de trente à quarante minutes. Lors de l'irradiation par des doses plus considérables de rayons X durs (200 à 500 R), la tension artérielle ne subit pas de modifications. Pour les doses supérieures à 500 R, il s'établit une hypotension de longue durée. Il existe donc une relation nette entre les variations de la coagulabilité et celles de la tension sanguine.

Chez les lapins irradiés au moyen de rayons X mous, à faible pouvoir de pénétration et à grande longueur d'onde (75 à 700 R), on ne décèle pas de modifications de la coagulabilité du plasma oxalaté recalcifié, de la teneur en sucre libre du sang et du taux en calcium total du plasma. Cette absence d'effets des rayons mous tient peut-être à leur faible pouvoir de pénétration.

Devant l'analogie entre l'action de doses modérées de rayons X durs et celle de l'injection intraveineuse de quantités relativement faibles d'adrénaline sur la coagulation du sang, la glycémie et la calcémie, j'ai été amené, avec La Barre, à rechercher s'il se produit une décharge d'adrénaline dans le sang sous l'influence des irradiations.



On était d'autant plus porté à le croire que les doses hypercoagulantes de rayons X sont, comme nous venons de le voir, en même temps hypertensives, hyperglycémiantes et hypercalcémiantes. En outre, par transfusion croisée sous volume constant, on reconnaît que le sang d'un lapin irradié a acquis la propriété d'élever la pression artérielle d'un lapin réactif et contient donc une substance hypertensive. Celle-ci paraît bien être de l'adrénaline, puisque, après surrénalectomie l'irradiation de la région splénique du lapin par les doses hypercoagulantes (100 à 175 R) de rayons X durs n'augmente plus la pression artérielle.

La méthode des transfusions croisées démontre les propriétés hypertensives du sang artériel des animaux irradiés, mais ne permet cependant pas de déceler avec certitude l'origine adrénalinienne de cette manifestation.

Chez le chien, l'administration de faibles doses de rayons X durs (100 à 300 R) ne détermine de l'hypertension artérielle que si l'on a soin de porter l'irradiation directement sur la capsule surrénale repérée au préalable. Par la méthode d'anastomose surrénalo-jugulaire de Tournade et Chabrol, on met en évidence dans ces circonstances une contraction de la rate et une élévation de la pression sanguine du chien réactif recevant le sang de l'animal irradié.

L'hypertension sanguine et la contraction de la rate obtenues après les irradiations chez le chien transfusé en anastomose surrénalo-jugulaire constituent déjà des arguments puissants en faveur de l'existence d'une hyperadrénalinémie. Pourtant, on aurait pu encore objecter que ces réactions dépendent d'autres substances vasoconstrictives résultant d'une désintégration cellulaire consécutive à l'application des rayons X. J'ai alors essayé, avec La Barre, de caractériser les variations de l'adrénalinémie en utilisant le test biologique le plus habituellement employé pour évaluer la teneur du sang en cette substance, c'est-à-dire l'action sur l'intestin isolé. Nous y sommes parvenus en appliquant à ces expériences un procédé basé à la fois sur les techniques de Tournade, Chabrol, Stewart et Rogoff. On évalue ainsi, minute par minute, le taux en adrénaline du sang provenant de la veine surrénale artificiellement prolongée. Par cette méthode de dosage biologique sur l'intestin isolé, on dé-

cèle une augmentation notable et de longue durée de la teneur en adrénaline du sang recueilli dans la veine surrénale des chiens irradiés. En voici un exemple: un demi-centimètre cube de sang veineux surrénal défibriné renfermait avant l'irradiation moins de 0.0005 milligramme d'adrénaline. Un quart d'heure après l'irradiation de la région splénique pendant trois minutes et demie par une dose modérée (250 R) de rayons Roentgen durs, la teneur en adrénaline correspondait à environ 0.001 milligramme. Quinze minutes plus tard, elle vait passé à 0.002 milligramme. Une heure et demie après l'irradiation, elle représentait encore 0.00075 milligramme.

Ainsi est apportée la preuve d'une décharge d'adrénaline dans le sang veineux surrénal après l'irradiation par les doses hypercoagulantes de rayons X durs. Il s'intalle dans ces circonstances une hyperadrénalinémie prolongée. Celle-ci doit être mise en rapport direct avec les modifications de la coagulabilité, de la glycémie et de la calcémie observées dans ces conditions.

Si l'on irradie des lapins au moyen des rayons gamma du radium, on constate les mêmes phénomènes que lors de l'exposition aux rayons Roentgen durs.

Des doses très faibles (2 à 5 millicuries) restent sans action sur la coagulation, des doses modérées (7.5 à 45 millicuries) accélèrent ce processus, des doses moyennes (60 à 75 millicuries) ne le modifient pas, des doses élevées (90 à 190 millicuries) le retardent.

La teneur du plasma en calcium et le taux du sang en dextrose augmentent chez les lapins qui ont reçu 7.5 à 75 millicuries, c'est-à-dire par les doses ayant amené de l'hypercoagulabilité et aussi par celles, plus élevées, n'ayant pas modifié la coagulation du plasma oxalaté recalcifé.

Les variations de la coagulabilité, de la glycémie et de la calcémie présentent par conséquent une analogie parfaite sous l'influence des rayons Roentgen durs et des rayons gamma du radium.

Ceci semble indiquer qu'il y a lieu de mettre en relation l'hypercoagulabilité obtenue sous l'influence de faibles doses de rayons gamma du radium avec une augmentation de l'adrénalinémie. Il se pourrait aussi que l'action hypercoagulante de fortes doses de rayons X durs ou de radiations gamma du ra-



dium dépende, tout au moins en partie, de l'excrétion d'une quantité considérable d'adrénaline dans le sang.

On est enfin tenté d'admettre que les médicaments qui provoquent une décharge d'adrénaline dans le sang veineux surrénal (ésérine, pilocarpine, nicotine, strychnine) interviennent de cette façon indirecte pour modifier la coagulation sanguine. Rien de certain n'est toutefois pour le moment connu à ce sujet.

Quoi qu'il en soit, dans diverses circonstances, les variations de la coagulabilité sanguine coïncident avec des modifications de la teneur en adrénaline, et ces deux phénomènes paraissent reconnaître la même origine.

On sait que chaque augmentation de l'adrénalino-sécrétion entraîne une hyperinsulinémie compensatrice et qu'inversement chaque accroissement de l'insulinosécrétion est suivi d'une hyperadrénalinémie. Il existe un antagonisme adrénaline-insuline qui contribue à maintenir la glycémie à son niveau normal.

On devait dès lors, se demander si l'insuline exerce des effets sur la coagulation sanguine, d'autant plus qu'on a rapporté des cas d'hémorragie post-opératoire chez les diabétiques ayant reçu de l'insuline. Il n'en est rien.

Sans doute, certains échantillons d'insuline insuffisamment purifiée entravent la transformation du prosérozyme en sérozyme et à un moindre degré l'apparition de la thrombine. Mais ceci est dû à la présence de la choline ou d'éthers de cette substance. Il suffit de débarrasser l'insuline de la choline et de ses éthers pour voir disparaître toute action sur les diverses phases de la coagulation.

Nous venons d'envisager les modifications de la coagulation du sang dues à des variations de la teneur du sang en adrénaline. Occupons-nous maintenant des arsénobenzènes dont Flandin et Tzank ont proposé l'emploi pour conserver à l'état fluide le sang destiné à la transfusion.

Ainsi que, Van Dyke l'a établi, si l'on injecte à des lapins par voie endoveineuse 50 à 300 milligrammes (par kilogramme de poids corporel) de néoarsphénamine, on remarque que la coagulation du plasma oxalaté recalcifié est d'autant plus retardée que la quantité du composé arsenoïque introduite dans la circulation est plus considérable. En outre, pour une dose donnée de néoarsphénamine, la coagulation du plasma

oxalaté recalcifié est d'autant plus retardée que le prélèvement de sang carotidien est effectué plus tôt après l'injection intraveineuse du composé arsénoïque.

L'addition de 0.1 à 0.15 pour 100 de néoarsphénamine *in vitro* à du plasma de lapin en retarde notablement la coagulation.

Voici les constatations que j'ai eu l'occasion de faire avec Camacho à ce propos. Si l'on recalcifie du plasma oxalaté provenant d'échantillons de sang recueillis 5 minutes après l'injection de ces composés arsénoïques, on note un retard net de la gélicification après l'injection de 35 à 50 milligrammes de sulfarsphénamine, tandis qu'on n'obtient ce résultat pour la néoarsphénamine qu'à partir de la dose de 50 à 60 milligrammes. La coagulation exige plus d'une heure à partir de la dose de 75 milligrammes chez les lapins ayant reçu de la sulfarsphénamine, à partir de la dose de 150 milligrammes chez les animaux traités par la néoarsphénamine. Le plasma reste fluide malgré la recalcification à partir de la dose de 90 milligrammes de sulfarsphénamine et de la dose de 175 milligrammes de néoarsphénamine. Le retard de la coagulation du plasma oxalaté recalcifié s'atténue quand le sang est recueilli 10, 20 et surtout 30 à 60 minutes après l'injection intraveineuse de sulfarsphénamine. Néanmoins, le plasma provenant du sang prélevé 10 à 20 minutes après l'injection de 100 à 120 milligrammes et parfois même déjà de 90 milligrammes de ce composé arsénoïque reste fluide après recalcification. Il en est de même, mais de façon inconstante, à partir de la dose de 200 milligrammes de néoarsphénamine. Le plasma oxalaté provenant du sang recueilli après l'injection de 100 à 120 milligrammes de sulfarsphénamine présente d'ordinaire un aspect trouble, même après une centrifugation très prolongée à grande vitesse. Si l'on maintient ce plasma à la glacière, il apparaît, après quelque temps, de petits flocons qui s'agglomèrent et se déposent au fond du tube en réalisant le phénomène de la floculo-agglutination.

La sulfarsphénamine exerce également *in vitro* une action anticoagulante à doses moindres que la néoarsphénamine. Il suffit de 1 pour 2.000 à 1 pour 5.000 de sulfarsphénamine



pour maintenir fluide le plasma oxalaté provenant du sang carotidien d'un lapin normal.

Dans des conditions appropriées, on parvient à déterminer, par passage d'un courant d'anhydride carbonique, la gélification du plasma oxalaté, restant incoagulable après simple recalcification, provenant de sang recueilli après l'injection intraveineuse soit de sulfarsphénamine, soit de néoarsphénamine. La teneur en fibrinogène de ces plasmas spontanément incoagulables ne paraît pas avoir subi de diminution bien appréciable dans la majorité des cas.

En superposant une solution de 0.5 à 1 pour 100 de sulfarsphénamine soit à du plasma oxalaté de lapin normal, soit à une solution relativement pure de fibrinogène, en évitant tout mélange, il apparaît au bout de quelques minutes à la zone de contact un trouble qui s'accroît peu à peu, puis des flocons se montrent et s'agglomèrent entre eux. Quand ce phénomène de floculo-agglutination se produit, on ne parvient plus à obtenir de coagulation sous l'influence d'un courant d'anhydride carbonique.

Tout tend à faire croire les effets anticoagulants *in vivo* de la néoarsphénamine et de la sulfarsphénamine sont essentiellement dus à la formation d'une combinaison ou d'un complexe relativement stable entre l'arsénobenzène et le fibrinogène. Ces composés arsénoïques se combinent, en outre, parfois à la thrombine et s'opposent quelque peu à son action coagulante. Ils semblent enfin entraver, dans une mesure fort variable du reste, la transformation du prosérozyme en sérozyme.

La coagulation et les propriétés du sang sont à coup sûr modifiées par l'addition de néoarsphénamine ou de sulfarsphénamine. Ou bien la proportion de composé arsénoïque contenue dans le sang est, en réalité, très faible et alors l'action anticoagulante de cette substance ne doit guère se faire sentir. Ou bien le sang injecté renferme suffisamment de néoarsphénamine ou de sulfarsphénamine pour rester incoagulable et dans ce cas le fibrinogène est combiné à ce composé arsénoïque, ce qui n'est peut-être pas indifférent, bien que la substance insoluble ayant ainsi pris naissance se dilue rapidement dans le sang du récepteur, ce qui atténue probablement beaucoup sa nocivité. Quoi qu'il en soit, les changements apportés par la

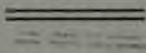
néoarsphénamine et la sulfarsphénamine au milieu sanguin ne plaident à coup sûr guère en faveur de l'emploi de ces composés arsénoïques lors de la transfusion sanguine.

Les exemples relatés ci-dessus montrent tout l'intérêt des recherches sur les modalités précises des effets hypercoagulants et anticoagulants des médicaments. Nous poursuivons cette étude dans diverses directions, notamment pour ce qui concerne les relations éventuelles de ces phénomènes avec la constitution chimique.

*(Laboratoire de pharmacodynamie et de thérapeutique de l'Université de Bruxelles).*



11. W. Kęskowski. — Z badań nad rolą fizjologiczną histaminy w ustroju i zjawisk z nią związanych ( <i>Expériences sur le rôle de l'histamine en rapport avec quelques phénomènes pharmacodynamiques</i> ) . . . . .	8tr. 367
12. E. Malgre. — Oxydacje i redukcje biologiczne ( <i>Oxydations et réductions biologiques</i> ) . . . . .	388
18. J. Modrakowski. — Kwasy i zasady jako czynniki lecznicze ( <i>Acides et alcalins comme agents thérapeutiques</i> ) . . . . .	425
14. E. Pożerski. — O trawieniu skrobi surowej ( <i>Sur la digestion de l'amidon cru</i> ) . . . . .	445
15. Ch. Blohet. — List . . . . .	452
16. T. Sollmann, G. B. Bay i W. E. Hamburger. — Toksyczność mazi powstałej z nitrocelulozy przy destrukcji filmów radiograficznych wskutek gorąca ( <i>Film Tar — The Toxicity of the Tar Resulting from the Heat-Destruction of Cellulose Nitrates Radiographic Films</i> ) . . . . .	453
17. P. Stradin. — O ropniu Brodie'go ( <i>Brodie's Abscess</i> ) . . . . .	456
18. E. M. P. Widmark. — Alkohol a medycyna sądowa ( <i>L'alcool et la médecine légale</i> ) . . . . .	464
19. E. Zunz. — W sprawie zmian krzepliwości krwi pod wpływem leków ( <i>A propos des modifications de la coagulation du sang sous l'influence des médicaments</i> ) . . . . .	474



# KOSMOS

CZASOPISMO POLSKIEGO  
TOWARZYSTWA PRZYRODNIKÓW  
IM. KOPERNIKA

WYCHODZI W DWU SERJACH PO 4 ZESZYTY Rocznie.

SERJA A. ROZPRAWY

Redaktor Prof. Dr. Ignacy Zakrzewski, ul. Jabłonowskich 8.

SERJA B. PRZEGLĄD ZAGADNIEŃ NAUKOWYCH.

Redaktor Prof. Dr. Dezydery Szymkiewicz, ul. Nabelaka 22.

Komitet Redakcyjny:

Członkowie Zarządu Głównego T-wa zamieszkali we Lwowie.

Administracja Serji A. Prof. Dr. F. Stroński, Lwów, ul. Długosza 8.

„ „ B. Prof. Dr. D. Szymkiewicz, ul. Nabelaka 22. 2

Członkowie Towarzystwa otrzymują „Kosmos“ bezpłatnie.

Dla nieczłonków prenumerata w księgarniach.

Skład główny: Książnica-Atlas Lwów, ul. Czarnieckiego 12.

Wkładki członków T-wa przyjmują Skarbnicy Oddziałów:

Bydgoszcz, Prof. R. Kwieciński, ul. Zacisze 8.

Katowice, Prof. M. Dankówna, ul. Kościuszki 38 I.

Kraków, Prof. B. Dyakowski, ul. Kochanowskiego 19.

Lwów, Dr. Br. Kokoszyńska, ul. Długosza 8.

Poznań, Prof. J. Szulczewski, ul. Poznańska 58 A.

Sosnowiec, Inż. Jerzy Szydłowski, Pr. S. Handl. 1-go Maja 17.

Warszawa, Dyr. Inż. E. Korb, Al. 3-go Maja 18.

Wilno, Dr. M. Racięcka, ul. Zakretowa 23.

# WSZECHŚWIAT

WYDAWNICTWO

POLSKIEGO TOWARZYSTWA

PRZYRODNIKÓW IMIENIA KOPERNIKA

Wychodzi w 10 zeszytach rocznie w Warszawie,  
pod redakcją **Jana Dembowskiego** ze współ-  
udziałem **Ludwika Wertensteina**

Adres redakcji i administracji:

Warszawa, Polna 40, m. 10. P. K. O. 21.650.

Członkowie T-wa otrzymują „Wszechświat“ bezpłatnie.

Prenumerata roczna zł. 20, półroczna 10. Numer pojedynczy zł. 2.

Komplet „Wszechświata“ za r. 1930 — zł. 15, w oprawie zł. 20.