

struktywny. Najważniejszym bodźcem w pracy naukowej młodego adepta staje się rozwiązanie choćby najmniejszego problemu naukowego, gdyż — jak słusznie zauważył Goethe — rozwiązanie każdego problemu stwarza nowy problem.

W końcu kilka słów o twórczości naukowej. Praca naukowa jest zagadnieniem natury zbyt delikatnej i subtelnej, by można ją oceniać ogólnie i szablonowo; jest ona indywidualna ze względu na indywidualność uczonego. Najwięcej prac uczeni ogłaszają przeważnie w początkowych latach działalności nau-

kowej, w okresie niejako poezji twórczej, który u rozmaitych ludzi trwa rozmaicie długo, w przeciwieństwie do okresu późniejszego, w którym umysł filozoficznie nastawiony na zagadnienia naukowe może przechodzić rozmaite przejawy od najsurowszego samokrytycyzmu do niemal zupełnego nihilizmu. W tym okresie wielu uczonych przywiązuje często kroc do opracowanych przez siebie zagadnień tak małą wagę, iż odciąga się z roku na rok z ogłoszeniem nawet najdoskonalszej rozprawy naukowej.

Z Zakładu Farmakologii Wydziału Medycyny Weterynaryjnej Uniwersytetu i Politechniki we Wrocławiu.

Kierownik: Prof. dr ZYGMUNT MARKOWSKI

ADAM SZWABOWICZ

Istota moczopędnego i toksycznego działania kofeiny

The Essence of Diuretical and Toxic Action of Caffeine

Gdy niepełna rok temu przybyłem do Wrocławia, do pierwszej grupki pionierów naszego Wydziału, asystentów i studentów, pracujących tu w niezwykle ciężkich warunkach moralnych i materialnych z myślą o utworzeniu, wobec wszelkim przeciwnościom, Wydziału Medycyny Weterynaryjnej, nie przypuszczałem, że będzie mi dane pierwszemu wypuścić w świat tę pracę, pierwszą całkowicie wykonaną w ciężkich warunkach powstającego z gruzów miasta i tworzącego się Wydziału. Mam tym większą satysfakcję, że należę do tej właśnie grupy Kolegów, których upór przełamał na tutajszym terenie średnio-wieczne przesady o naszym Wydziale i potrzeby jego istnienia. Im też niniejszą pracę poświęcam. Oto oni: st. asyst., lek. wet. Karol BULUK, st. asyst., lek. wet. Władysław JANOWSKI, st. asyst., lek. wet. Zbigniew JARA, adiunkt Dr Józef Szymon GELB, ml. asyst. absolwent Jan KOPROWSKI, ml. asyst. absolwent Wilhelm RADEK, adiunkt Dr Alfred SENZE, ml. asyst. student Władysław ŻAROWSKI i studenci: Tadeusz ANDRZEJEWSKI, Tadeusz BIJOS, Ryszard BLATKIEWICZ, Adam DRYŚ, Zdzisław DZIURKOWICZ, Józef DOBOSZ (asystent), Józef FIRMANCZUK, Zbigniew FUCIK, Jerzy GAJEWSKI, Tadeusz GŁOWACKI, Marjan JAHN, Mieczysław JANIĄK, Stanisław JANUS, Włodzimierz JURCZYK, Stefan KANTOR, Jerzy LIMONIENKO, Tadeusz MARTYNOWICZ (asyst.), Stanisław MĄDRY, Zygmunt PIOTROWSKI, Władysław PYZIKOWSKI, Jan PACHURA, Eugeniusz PAWLAK, Michał PISKOZUB, Kazimierz PROKÓP, Stanisław PLESNIAK, Jadwiga RYBIEWICZOWNA, Zbigniew PLESNIAK, Franciszek SPĘDZIA, Władysław STOSUR, Adam SZAREK, Lucjan SZWARC, Henryk ŚWIĘCIK, Tadeusz SZULC, Henryk STRZELECKI, Tadeusz SZCZĘSNY, Henryk ŚWI-DESKI.

Moczopędne działanie ciał purynowych, a więc i kofeiny, na które poraz pierwszy zwrócili uwagę MUNK i SCHROEDER, w istocie swej nie jest dokładnie zbadane. Wiadomo, że ciała purynowe, kofeina i pokrewne jej środki moczopędne, wprowadzone do organizmu zwierząt ssących, wydziela się częściowo w stanie niezmiennym, w ilości 20–30%, częściowo zaś ulegają przeróbce i zostają wydalone przez nerkę pod postacią jedynometyloksantyn (ALBANESE, BĄDZYŃSKI i GOTTLIEB, ROST, KRUEGER i SCHMIDT), które też mają działanie moczopędne.

Część autorów przypisuje działanie moczopędne ciał purynowych ich wpływowi na nerkę. Jedni z nich uważają, że chodzi tu o wpływ tylko na naczynia krwionośne nerki, które pod wpływem kofeiny rozszerzają się i wskutek tego przepuszczają większą ilość płynu do przeróbki na mocz (SCHROEDER, LOEWI, MAGNUS i GOTTLIEB), inni przypisują to wzmożonej pracy wydzielniczej nerki (SCHMIDT, BRINOS, i MOLITOR, HARTWICH, GREMELS), wreszcie są zdania, iż chodzi tu o wpływ hamujący kofeiny i jej pokrewnych środków moczopędnych na resorbację zwrotną wody w kanałkach nerkowych (DRESER).

Wiele prac wskazuje na pozanerkowe działanie moczopędne puryn. Tu też są zdania podzielone co do mechanizmu działania. ELLINGER, HEIMANN i KLEIN oraz MAYER widzą przyczynę pozanerkowego działania środków purynowych w zahamowaniu odpływu wody z krwi do tkanki

nek i w zmianie zasadniczego kierunku jej przepływu, mianowicie z tkanek do krwi. Podobnie ma być w kanałkach nerkowych: resorpcja w kanałkach, płynu wydzielonego przez kłębki Malpighiego ma być zahamowana, ponieważ zdolność przyciągania wody przez białka krwi ma być znacznie zmniejszona. Natężenie działania kofeiny w tkankach zależy między innymi od ilości dostającego się do nich alkaloidu. SAKATA stwierdził, że teobromina powoduje spadek zapasów wody i chloru w mięśniach a wzrost tych elementów we krwi i w moczu. OHME przypuszcza, że diureza purynowa jest wywołana przez odpeczętnianie białek krwi. BURMEISTER w obserwacjach ludzi zdrowych i chorych na zapalenie nerki stwierdził, że diuretyka działa odpeczętniająco na białka surowicy. MOELLER też zauważył spadek osadka hemoglobiny i równoznaczne z nim rozwodnienie krwi po podaniu teofiliny. Szczególnie silne wydzielenie chloru udało mi się stwierdzić w doświadczeniach na królikach przy badaniu wpływu diety na działanie środków moczopędnych. We wzmiankowanej pracy stwierdziłem również nieznaczne rozwodnienie krwi (SZWABOWICZ).

Jeśli chodzi o toksyczne działanie kofeiny, to większość obserwacji dotyczy klinicznych objawów działania tego alkaloidu, zresztą w stosunku do innych, bardzo mało toksycznego. Tak więc stwierdzono, że w dawkach toksycznych kofeina powoduje wzrost odruchowej pobudliwości, szczególnie ośrodków odruchowych rdzenia pacierzowego, podobnie, jak przy strychninie. Zaobserwowano też przy średnio dużych dawkach wzrost ciepłoty ciała o 0,5° do 1,0° a nawet do 2,2° C. (HARNACH, BARBOUR i WING). Objawy zatrucia polegają na działaniu podniecającym a następnie porażającym serce i oddechów, na wzroście ciepłoty, na porażeniu przewodów pokarmowych i nerki (ślimienie, wymioty, biegunki, kołki i parcie moczu) i wreszcie na ciężkich skurczach (FROEHNER, POULSSON). Dawka śmiertelna u zwierząt wynosi u koni 0,2 g/kg, u bydła, kóz i świń 0,3 g/kg i u psów 0,5 g/kg przy podawaniu doustnym.

Śmierć następuje wskutek uduszenia spowodowanego nie-
możnością oddychania w czasie napadu ciężkiego skurczu lub też wskutek centralnego porażenia oddechów.

Pragnąc wyjaśnić, czy i w jakim stopniu kofeina wpływa na pęcznienie układów koloïdowych i czy w ten sposób powoduje zwolnienie pewnych zapasów wody, zdolnych do wydalenia przez nerki, oraz, czy pęcznienie i odpeczętniający wpływ kofeiny nie wyjaśni istoty toksycznego działania, wykonałem szereg doświadczeń *in vitro* nad stopniem pęcznienia żelatyny w roztworze fizjologicznym soli kuchennej, oraz w tymże roztworze z dodatkiem różnych ilości kofeiny. Dodatkowo wykonałem doświadczenia nad pęcznieniem mięśnia sercowego w takich samych roztworach kofeiny, oraz doświadczenia *in vivo*, nad moczopędnym i toksycznym działaniem kofeiny w roztworze fizjologicznym soli kuchennej przy dożylnym podaniu u królików.

Jak się okazało, żelatyna (*Gelatinum album*) jest idealnym materiałem do przeprowadzenia doświadczeń nad stopniem pęcznienia układów koloïdowych. Wyniki próbowałem potwierdzić też *in vitro* na mięśniach, jednakże zadowalających wyników nie osiągnąłem z powodu szybkiego rozkładu fermentacyjnego mięsa, oraz trudności otrzymania jednolitego materiału badawczego. Również próby pęcznienia gro-

chu, który wydawał mi się bardzo idealnym materiałem do tego rodzaju doświadczeń ze względu na kształt i twardą skorupkę, nie dały wyników porównywalnych — także wskutek szybko przebiegającej fermentacji. Dobre wyniki osiągnięciem w doświadczeniach nad pęcznieniem mięśnia sercowego.

METODYKA

Doświadczenia wykonałem na seriach żelatynowych płytek o jednakowej powierzchni i o tak dobranej wadze, by ich ciężar był możliwie jednakowy. Bardzo ważnym momentem jest stosunek powierzchni do wagi. By uzyskać jednolity materiał, stapiałem żelatynę w listkach lub proszku z dodatkiem niewielkiej ilości wody na jednolity płyn, który następnie wlewałem do płytek Petriego o jednakowej średnicy, otrzymując lite płytki o stosunkowo dość wysokim ciężarze.

Odpowiednio dobrane płytki poddawałem pęcznieniu seriami po 3—7 płytek w fizjologicznym roztworze soli kuchennej, jako środowiska kontrolnym i równocześnie w roztworach kofeiny w fizjologicznym roztworze soli kuchennej, w stężeniach od 0,01 do 0,1%.

W czasie doświadczeń okazało się, że czas pęcznienia, po przekroczeniu pewnego minimum nie wpływa na proporcje wyników w danej serii. Jedynie ważną rzeczą było, by jednym doświadczeniem/była objęta cała seria roztworów równocześnie od płynu fizjologicznego, jako środowiska kontrolnego, do którego porównywa się wyniki pęcznienia żelatynowych płytek w całej serii roztworów kofeiny. Nie muszę nadmienić, że równocześnie cała seria winna się znajdować w tych samych warunkach ciepłoty oraz winna być objęta tym samym okresem pęcznienia.

W moich doświadczeniach okres pęcznienia wynosił przeważnie 48 godzin w stałej ciepłocie 18° C. Płytki żelatynowe wyważone do stałego ciężaru w temperaturze pokojowej, ważyłem z dokładnością do drugiego miejsca dziesiątego. Umieszczałem ją w naczyniach szklanych o średnicy znacznie większej od płytek i zalewałem fizjologicznym roztworem soli kuchennej, bądź też roztworami kofeiny, sporządzonymi na takim samym fizjologicznym roztworze. Naczynia z płytkami umieszczałem w termostacie o temperaturze 18° C.

Po okresie pęcznienia (48—56 godz.) wyciągnięte z badanego środowiska płytki, osuszałem bibułą do sączenia i owinięte w papier pergaminowy — dla uniknięcia strat i błędów spowodowanych wysychaniem na powietrzu żelatyny w czasie ważenia — ważyłem z tą samą dokładnością, co poprzednio.

Wyniki badań dokonanych na żelatynie próbowałem potwierdzić na mięśniu sercowym cieląt. Wycinki mięśnia sercowego z lewej komory, o możliwie jednakowej wadze, oczyszczone mechanicznie z tkanki tłuszczowej, poddawałem badaniom w zupełnie podobny sposób i w tych samych warunkach, co żelatynę. Jedynie czas pęcznienia ograniczyłem do 24 godzin, dla uniknięcia rozkładu.

Wreszcie, próby starałem się potwierdzić badaniami *in vivo* na królikach, przyjmując, że stężenia kofeiny równemu 0,01% odpowiada dawka około 0,02 g kofeiny na kilogram wagi zwierzęcia przy wprowadzaniu dożylnym.

Powyższą dawkę otrzymałem z następujących rozważań: jeżeli przyjmiemy ogólnie znane z chemii prawo, że reakcja chemiczna przy podniesieniu ciepłoty o 10° C przebiega dwukrotnie szybciej, zaś ciepłotę królika przyjmujemy jako średnią około 38° C — to przy różnicy temperatur doświadczeń z żelatyną i doświadczeń na królikach wynoszącej 20° C — reakcja *in vitro* winna być taka sama, co przy dawce czterokrotnie mniejszej *in vivo*. Jeżeli w dalszym ciągu naszych rozważań uwzględnimy, że nie wszystkie elementy żywego organizmu są koloidami, z których łatwo uzyskać wodę, należy odrzucić od ogólnego ciężaru zwierzęcia 7—8,5% żywej wagi, odpadający na układ kostny — tyle bowiem waży według ZIETZSCHMANNNA wysuszony na powietrzu kośćce zwierząt ssących, oraz około 12% przypadających na elementy nie biorące udziału w reakcji, jak treść przew. pokarmowego, treść pęcherza moczowego, zrogowaciałe części skóry, włosy itp. oraz różne złogi i wtrąty mineralne, co w sumie stanowi około 20% żywej wagi. Tych 20% należy odrzucić od obliczonej poprzednio dawki.

Jeżeli zatem na 1 litr płynu fizjologicznego użyjemy 0,1 g kofeiny dla uzyskania 0,01% roztworu, to na kilogram królika, aby uzyskać to samo natężenie reakcji, co *in vitro*, winno się wziąć cztery razy mniej kofeiny, minus 20%, a więc:

$$0,1 : 4 = 0,025 \text{ — od tej dawki odejmujemy } 20\% \text{ tj. } 0,005 = 0,02 \text{ g Koffeinum purum.}$$

WYNIKI DOŚWIADCZEN.

Z poniżej zamieszczonej tabeli pęcznienia płytek żelatynowych oraz z wykresu pęcznienia (Ryc. 1) widać, że w miarę wzrostu stężenia kofeiny w środowisku pęcznienia od 0% do 0,04% żelatyna coraz to mniej pęcznieje. Minimalne pęcznienie przypada na stężeniu kofeiny 0,04%. Od tego punktu w górę występuje równomierny przyrost pęcznienia, z tym, że pomiędzy 0,06% a 0,08% zachodzi pewna nieregularność. Jeżeli bacznie przypatrzmy się średnim wynikom przyrostu cieczy w żelatynie oraz wypadkowej krzywej pęcz-

TABLICA I.
PĘCZNIE NIE PLYTEK ŻELATYNOWYCH
(THE SWELLING OF GELATINE)

Stężenie kofeiny w płynie liżot. (The percentage of caffeine in physiol. solution)	Nr próbki (N ^o of gelat. plate)	Przyrost gramów cieczy na 1 gram żelatyny (The increase of weight in swelled gelatine grammes per gelatine grammes)	Średni przyrost w gramach (The average increase in grammes)
0,00 %	I	8,046	8,319
	II	8,430	
	III	8,593	
0,02 %	I	8,029	8,217
	II	8,267	
	III	8,285	
0,04 %	I	7,396	7,742
	II	7,897	
	III	7,934	
0,06 %	I	7,955	8,220
	II	8,111	
	III	8,594	
0,08 %	I	8,025	8,283
	II	8,399	
	III	8,424	
0,10 %	I	8,378	8,607
	II	8,449	
	III	8,995	

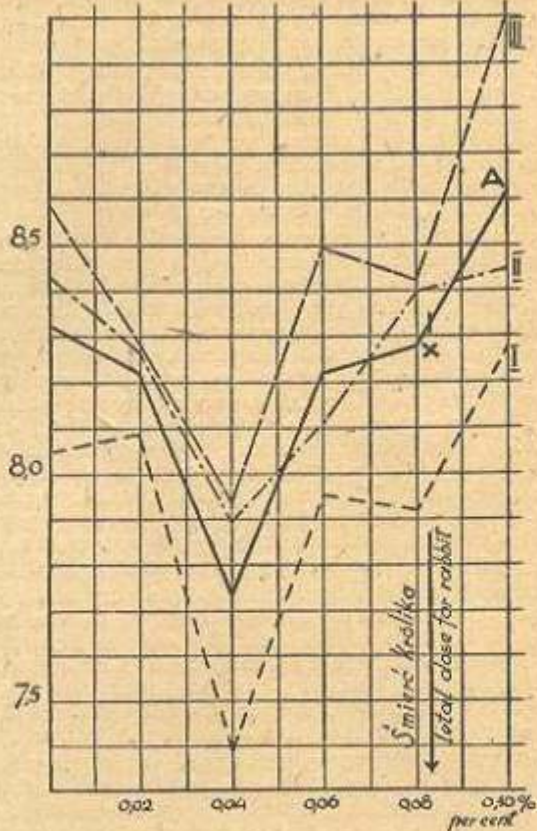
nienia zaznaczonej na Ryc. 1. ciągłą linią (A), to zauważymy, że część krzywej od punktu 0,04% do 0,08% jest niemal zwierciadlanym odbiciem początkowej części krzywej, tj. od 0% do 0,04%. Punkтови 0% odpowiada średnia wartość przyrostu cieczy 8,3 grama, punkтови 0,08% też 8,5 grama; punkтови 0,02% — 8,2 grama, odpowiada punkt 0,06%, przy którym przyrost cieczy wynosi też 8,2 grama na gram żelatyny. Punkt 0,04% jest punktem najmniejszego pęcznienia.

Na podstawie powyższych doświadczeń sądzić można, że jeżeli *in vitro* powiniem układ koloidowy, w danym wypadku żelatyna, w miarę wzrostu stężenia kofeiny w środowisku pęcznienia początkowo do pewnego punktu (0,04%) coraz to mniej pęcznieje, i później po przekroczeniu tego punktu pęcznienie coraz to więcej, przekraczając nawet normę, tj. wielkość pęcznienia w płynie fizjologicznym, to podobnie winno dziać się *in vivo*. Wprowadzając bowiem kofeinę do zwierzęcego organizmu, działamy na układy koloidowe tego organizmu, znajdującego się już w stanie pewnego naspełnienia pod wpływem pewnych stężeń układy te winny ulegać odpęcznianiu lub też większemu jeszcze pęcznieniu, proporcjonalnemu do stanu większego, czy mniejszego pęcznienia układów koloidowych *in vitro*, z tym zastrzeżeniem, że stosunek kofeiny w organizmie żywym zostaje proporcjonalnie zachowany, z uwzględnieniem różnic temperatury doświadczeń *in vitro* i *in vivo*.

Biorąc powyższe pod uwagę, wykonałem szereg doświadczeń nad moczopędnym działaniem kofeiny u królików w stężeniach odpowiadających stężeniom *in vitro*, przyjmując na podstawie danych podanych w metodyce, że stężeniu kofeiny 0,01% odpowiada dawka kofeiny 0,02 g na kilogram żywej wagi królika. Kofeinę podawałem w możliwie minimalnej ilości fizjologicznego roztworu soli kuchennej, u wszystkich królików jednakowej, by uniknąć moczopędnego działania wprowadzonego dożylnie płynu.

Z danych, zamieszczonych poniżej, w szczególności z doświadczenia Nr 2, widać, jak dokładnie pokrywają się przypuszczenia wysnutte na podstawie doświadczeń z pęcznieniem żelatyny. Szczególnie dobrze ilustruje to Ryc. 2, na której ze-

Wykres pęcznienia płytek żelatynowych w roztworach kofeiny w fizjologicznym roztworze soli kuchennej.



RYS. Nr 1

Na osi poziomej zaznaczono stężenia kofeiny, na osi pionowej przyrost gramów cieczy na gram żelatyny. Krzywe oznaczone rzymskimi cyframi odpowiadają numerom próbek, podanym w tabeli I. Linia ciągłą (A) zaznaczono średnią pęcznienia. Strzałka wskazuje punkt X, który oznacza śmiertelną dawkę kofeiny przy dożylnym wprowadzeniu u królika.

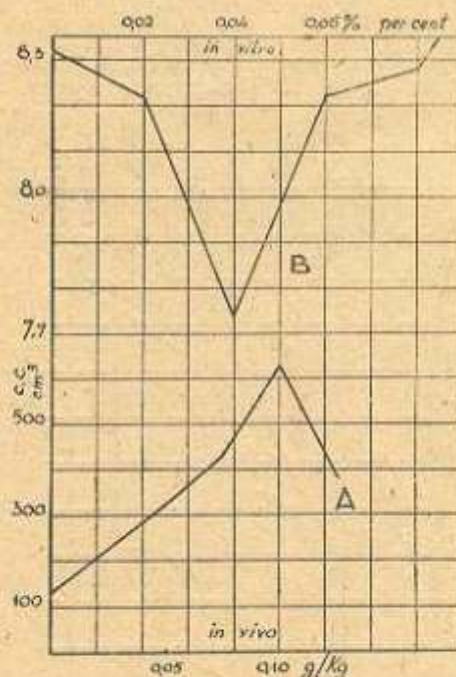
(The swelling of gelatinous plates in physiological solution of caffeine. On the horizontal axis is presented percentage of caffeine solution, on the vertical one — the quantity of increased fluid in swelled gelatine, expressed in grammes per 1 gramme of gelatine. Continuous line (A) shows the average swelling of three various series of gelatinous plates, three other ones (I, II, III) show the real founded quantities of swelling in to these series, corresponding to the values in Table I. The point X and the arrow present the concentration of caffeine (0,083 per cent), that corresponds to the lethal dose given intravenously to rabbits (0,166 gramme per killogramme of rabbits weight).

Doświadczenie Nr 2 (Experiment Nr 2)	Królik wagi 1910 g — żywny (jak wyżej) (The rabbit of 1910 grammes weight — fed as preceding)	
1	75	
2	60	
3	190	
4	200	
5	0,05	320
6	0,075	425
7	0,10	625
8	—	185
9	0,125	395

Doświadczenie Nr 3 (Experiment Nr 3)	Królik wagi 1970 g — żywny (jak wyżej) (The rabbit of 1970 grammes weight, — fed, as preceding)	
1	110	
2	75	
3	130	
4	105	
5	0,05	60
6	0,075	155
7	0,10	175
8	—	(105)
9	0,125	235 (130)

TABLICA II
MOCZOPĘDNE DZIAŁANIE KOFEINY U KRÓLIKÓW
(THE DIURETICAL ACTION OF CAFFEINE GIVEN INTRAVENOUSLY TO RABBITS)

Dzień doświadczenia (The day of experiment)	Podane dożylne kofeiny (g/kg) (The dose of caffeine — intraveno)	Ilość wydzielonego moczu w cm ³ (Cubic centimeters of urine secreted during 24 hours)
Doświadczenie Nr 1 (Experiment Nr 1)	Królik wagi 1610 g — żywny stanem i dowolnie wypija wodę (The rabbit of 1610 grammes weight — fed with h y and water in quantities freely drunk up.)	
1		30
2		120
3		160
4		110
5	0,05	240
6	0,10	275
7	0,125	195
8	—	120
9	0,15	80



RYS. Nr 2

Krzywa wydzielania moczu (A) i pęcznienia żelatyny (B). Na linii poziomej zaznaczono stężenie kofeiny w fizjologicznym roztworze soli kuchennej — u góry *in vitro*, u dołu dawki kofeiny *in vivo*. Na linii pionowej przyrost gramów cieczy na gram żelatyny i ilość cm³ wydzielonego moczu.

The comparison of two curves: A = of urine secreted after different doses of caffeine, B = the gelatine swelling in different solutions of caffeine in physiological solution. On the horizontal axis is marked percentage of caffeine in physiological solution (upper) and the doses given intravenously to rabbits (lower), on the vertical one — cubic centimeters of urine (lower) and grammes of swelling per gramme of gelatine (higher).

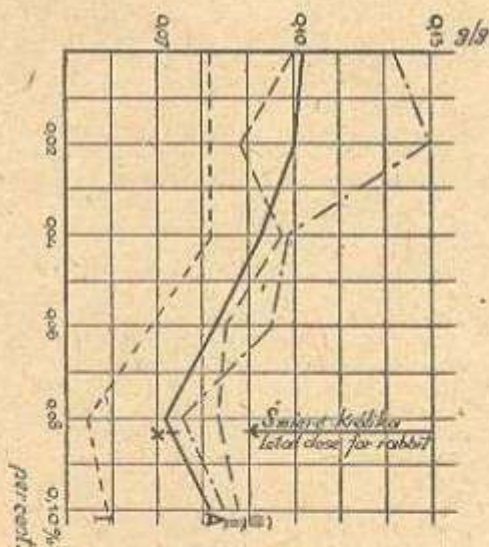
stawilem krzywą wydzielania moczu u królika Nr. 2. (krzywa A.), z krzywą średniego pęcznienia żelatyny (krzywa B). Punkt wyjściowy krzywej wydzielania moczu (A) otrzymanem ze średniej wydzielania moczu w czterodniowym okresie wstępny doświadczenia — średnia wynosi w omawianym

TABLICA III.

PECZNIE NIE MIĘS NIA SERCOWEGO
(THE SWELLING OF HEART - MUSCLE — IN VITRO)

Stężenie kofeiny w płynie fizjol.	Nr próbki	Przyrost (gramów cieczy na 1 gram mięsna)	Średni przyrost w gramach
(The percentage of caffeine physiol. solution)	(No of heart-muscle piece)	(The increase of weight in swelled heart-muscle pieces-grammes per gramme of heart-muscle)	(The average increase in grammes)
0,00 %	I	0,082	0,101
	II	0,122	
	III	0,100	
0,02 %	I	0,082	0,100
	II	0,130	
	III	0,089	
0,04 %	I	0,082	0,093
	II	0,099	
	III	0,098	
0,06 %	I	0,068	0,083
	II	0,095	
	III	0,085	
0,08 %	I	0,055	0,072
	II	0,076	
	III	0,084	
0,10 %	I	0,059	0,081
	II	0,085	
	III	0,098	

Wykres pęcznienia wycinków mięsna sercowego ciał w roztworach kofeiny w fizjologicznym roztworze soli kuchennej.



RYS. Nr 3

Na osi poziomej zaznaczono stężenia kofeiny, na osi pionowej przyrost gramów cieczy na gram mięsna. (Krzywe oznaczone rzymskimi cyframi odpowiadają numerom próbek, podanym w Tabl. III. Linia ciągła (A) zaznaczono średnią pęcznienia. Punkt X i strzałka wskazują śmiertelną dawkę kofeiny przy dożylnym wprowadzeniu u królika (0,083% = 0,166 g/kg.).

The swelling of pieces cut out of left calves heart in different concentrations (from 0 to 0,1 per cent) of caffeine in physiological solution. On the horizontal axis is marked percentage of caffeine in physiological solution, on the vertical one the increase of weight in swelled heart-muscle pieces expressed in grammes per heart-muscle gramme, according to values in Table III. Point X and arrow indicate the dead dose for rabbit, given intravenously (0,083 per cent *in vitro* = 0,166 grammes per kilogramme rabbit weight).

przypadku $\approx 130 \text{ cm}^3$ moczu na dobę. Punkt najmniejszego pęcznienia żelatyny jest trochę przesunięty w stosunku do punktu największej ilości wydzielonego moczu, jednakże tak nieznacznie, że powyższe zestawienie może być najoczywistszym dowodem słuszności moich poprzednich obserwacji.

Z tabeli moczopędnego działania kofeiny u królików (Tabl. II), oraz Ryc. 2. najwyraźniej widać, że w miarę wzrostu dawek kofeiny wzrasta ilość wydzielonego moczu. Tak jest do pewnego punktu, po przekroczeniu którego, dawkując coraz więcej kofeiny, wydzielanie moczu coraz bardziej spada. Takiego wyniku *in vivo* należało oczekiwać po wynikach doświadczeń z pęcznieniem żelatyny.

Pozorny błąd znalazłże uważny czytelnik w doświadczeniu Nr 3., ale tylko pozorny. Mianowicie w 9. dniu doświadczenia, przy dawce kofeiny 0,125 g/kg, odpowiadającej stężeniu około 0,06%, tzn. takiemu, przy którym winno być na podstawie krzywej pęcznienia żelatyny mniejsze wydzielanie moczu, ilość moczu jest najwyższa. Jeżeli jednak uwzględni się, że w 8 dniu doświadczenia, kiedy królikowi nie podawano kofeiny, królik wogóle moczu nie oddał, a powinien był oddać średnio $\approx 105 \text{ cm}^3$, i jeżeli tę ilość odejmiemy od ilości wydzielonego w 9. dniu moczu, otrzymamy właściwą ilość 130 cm^3 , tj. niższą, niż wydzieloną w 7. dniu doświadczenia, kiedy przy dawce kofeiny 0,10 g/kg winien był oddać według teoretycznych obliczeń maksymalną ilość moczu. Przy tej poprawce również i w tym doświadczeniu krzywa wydzielania moczu pokrywa się z odwrotnością krzywej pęcznienia żelatyny.

Bardzo interesujące są wyniki doświadczeń nad pęcznieniem wycinków mięsna sercowego ciał. Są one podane w tabeli pęcznienia poniżej (Tab. III) oraz na Ryc. 3. Największy spadek pęcznienia mięsna przypada na stężenie kofeiny 0,08%, poczym następuje powolny przyrost. Powyższe dane zgadzają się z obserwacjami BARBOURA i KLEINERA. Według nich kurczące działanie dużych dawek kofeiny jest mniejsze odnośnie serca niż mięśni szkieletowych, czyli odwrotnie, mięśnie ulegają stężeniu w słabszych roztworach kofeiny, podczas, gdy mięsień sercowy potrzebuje silniejszych roztworów, czyli jest bardziej odporny na kofeinę niż mięśnie. Zaznaczyć należy, że przyrosty i spadek wagi wynosiły zaledwie ułamki grama, dlatego, że świeży mięsień jest w stanie pewnego napęcznienia.

Najbardziej efektywne wyniki otrzymałem w doświadczeniach zmierzających do określenia toksycznego i letalnego działania kofeiny.

W tym celu wprowadzałem dożylnie królikom różne dawki kofeiny w jednakowej ilości fizjologicznego roztworu soli kuchennej, tj. w 20 cm^3 , począwszy od 0,075 g/kg. Dla otrzymania dokładnego obrazu wszystkie dawki, niezależnie od wielkości, podawałem w ciągu 20 min., tzn. po 1 centymetrze na minutę. Obserwowano ogólne zachowanie się królika, zwracając szczególną uwagę na stan mięśni.

Doświadczenie 1.

Królik wagi 3590 g — wprowadzono dożylnie dawkę kofeiny 0,075 g/kg, tj. łącznie 0,30 g w 20 cm^3 płynu. Wstrzykiwano 20 minut. Żadnych objawów.

Doświadczenie 2.

Królik wagi 2925 g — wprowadzono dożylnie 0,1 g/kg, tj. łącznie 0,292 g w 20 cm^3 płynu. Wstrzykiwano 20 minut. Po wprowadzeniu 17 centymetrów, tj. przy dawce $\approx 0,085 \text{ g/kg}$ zaobserwowano śnienie, połączone z silnymi ruchami zaciskowymi szczęk, wzmoczoną pobudliwość, objawiającą się silną reakcją królika na dotyk oraz lekkie napięcie mięśni całego ciała, trwające 2 minuty od ukończenia wstrzykiwania.

Doświadczenie 3.

Królik wagi 2020 g — wprowadzono dożylnie dawkę kofeiny 0,125 g/kg, tj. łącznie 0,252 g w 20 cm^3 płynu. Wstrzykiwano 20 minut. Po wstrzyknięciu 13 centymetrów, co odpowiada dawce 0,081 g/kg, zaobserwowano wyraźne napięcie mięśni, śnienie, silne zaciskanie szczęk i wzrost pobudliwości. Po ukończonym zastrzyku, gdy królika puszczone wolno — wyraźne napięcie i jakby zeszywnienie wszystkich mięśni. Królik przybrał nienormalną postawę, zgarbił się, kończyny ułożone w półzgięciu w stanie silnego napięcia. Silna pobudliwość. Chód sztywny, zupełnie niepodobny do normalnego. Królik chodził tak, jakby był na sprężynach. Po wykonaniu kroku nie rozkurczał kończyn. To zeszywnienie utrzymywało się około 10 minut. Naczynia krwionośne uszu silnie napięte.

Doświadczenie 4.

Królik wagi 1965 g — wprowadzono dożylnie dawkę 0,15 g/kg, tj. łącznie 0,295 g w 20 cm^3 płynu. Wstrzykiwano 20 minut. W czasie wprowadzania ostatnich 5 centymetrów roz-

tworu kofeiny, a więc po przekroczeniu dawki 0,1125 g/kg, zaobserwowano dość silne skurcze o charakterze tępcowym, silne ścisłanie szcęk połączone ze ślinieniem. Po ukończonym wstrzykiwaniu, królik wolno puszczone, przez 10 minut wykazywał silne przykurcze wszystkich mięśni. Zgarbił się, przy równocześnie napiętych powłokach brzusznych, jakby do oddawania moczu lub kału. Pomimo wyraźnej chęci przejścia w ciemny kąp pomieszczenia nie mógł wykonać normalnego chodu. Posuwał się tylko w trudny do opisania sposób, na przykurczonych w półgiedzi łapkach, wcale ich nie prostując, wykonywał drobniutkie podskoki, przy czym cały takt w ruchu wyglądał, jakby był skonstruowany ze sprężyny. Po dotknięciu silna reakcja. W przeciągu 15 minut królik wrócił do stanu normalnego.

Doświadczenie 5.

Królik wagi 3635 g — wprowadzano dożylnie dawkę 0,175 g/kg, tj. łącznie 0,636 g w 20 cm³ płynu. Wstrzykiwano 20 minut. W czasie wstrzykiwania 16 centymetra, a więc po dawce około 0,14 g/kg zaobserwowano silne ślinienie, połączone z szybkimi, bardzo silnymi ruchami zaciskowymi szcęk, silne napięcie wszystkich mięśni, niepokój i skurcze tępcowe. W kilkadziesiąt sekund po wprowadzeniu 19 centymetra bardzo silny tęczę i śmierć. Tu zaobserwowałem ciekawą „grę“ naczyń krwionośnych uszu. Po okresie silnego napięcia naczyń, które stale obserwowałem przy wprowadzaniu poprzednich dawek, po wstrzyknięciu 19 cm³ napięcie to nagle zniknęło, pojawiło się równomierne zsinienie uszu, potem kilkanaście sekund trwające napięcie naczyń krwionośnych i w chwili przed wystąpieniem ostatniego skurczu tępcowego zupełne zbieżenie uszu i „zniknięcie“ naczyń.

Doświadczenie 6.

Królik wagi 2845 g — wprowadzano dożylnie dawkę 0,175 g/kg, tj. łącznie 0,498 g w 20 cm³ płynu. Wstrzykiwano 30 minut, ponieważ sądziłem, że śmierć poprzedniego królika nastąpiła wskutek zbyt szybkiego wstrzykiwania. Tym bardziej, że w poprzednich doświadczeniach badania moczopędnego działania kofeiny zauważyłem, iż wprowadzenie o wiele niższych dawek w czasie bardzo krótkim, powoduje przejściowo trwające napięcie mięśni i nawet silne i niebezpieczne skurcze tępcowe, zupełnie, jak po strychninie. Wskutek tego wprowadzałem wszystkie dawki w tej serii doświadczeń bardzo długo, bo aż 20 minut, aby umożliwić kofeinie równomierne rozsmieszczenie się w całym organizmie. Istotnie osiągnąłem to w zupełności, do tego stopnia, że pomimo wprowadzania trzykrotnie wyższych dawek w tej serii doświadczeń, nieprzyjemnych objawów ze strony układu nerwowego nie było.

Po wprowadzeniu 15 cm³ zaobserwowano silne ślinienie wraz z bardzo silnymi ruchami zaciskowymi szcęk. Po 16 cm³ silne podniecenie i przykurcze mięśni całego ciała. Przy dalszym wprowadzaniu napad silnego skurczu tępcowego, po którym nastąpiło reakcyjne uspokojenie, jakkolwiek przykurcze utrzymywały się dalej. Po wprowadzeniu 19 cm³ królik zachowywał się normalnie, jedynie zaobserwowałem szybko następujące po sobie zmiany naczyń krwionośnych uszu, jak u poprzedniego królika. Po silnym napięciu, zanik naczyń i zsinienie małżowin usznych, po czym znowu napięcie naczyń, trwające kilkanaście sekund i w czasie wprowadzania 20-tego centymetra zupełne zbieżenie uszu. Królik po wstrzyknięciu całej dawki, puszczonej wolno dostał napadu tępcowego skurczu, po którym bezpośrednio zginął.

Z powyższych doświadczeń wynika, że po przekroczeniu dawki 0,08 g/kg zaczęły występować przykurcze mięśni szkieletowych, zaczynające się od skurczów mięśni żuchwowych. W miarę podwyższania dawki dość równomiernie rosły objawy toksycznego działania kofeiny — przykurcze mięśni stały się potęgować aż do skurczów tępcowych. Dawka śmiertelna wynosi u królików przy wprowadzeniu dożylnym 0,166 g/kg.

Zachowanie się naczyń krwionośnych dowodziłoby, że ostateczną przyczyną śmierci są zaburzenia ze strony narządu krążenia, co miałyby potwierdzenie w doświadczeniach *in vitro* z wyciskami mięśnia sercowego, które zaczynają tężyć przy stężeniu kofeiny 0,08%. Stężenie to odpowiada dożylnie dawce 0,16 g/kg w myśl obliczeń podanych w metodyce. Ze-stawienia doświadczeń nad toksycznym działaniem kofeiny u królików z doświadczeniami nad pęcznieniem żelatyny i mięśnia sercowego wskazuje, że objawy toksycznego działania pokrywają się z wstępującą, częścią krzywej pęcznienia żelatyny, tj. od 0,04% w górę, co odpowiada dawce 0,08 g/kg. Śmierć następuje prawie dokładnie po przekroczeniu wysokości pęcznienia żelatyny w fizjologicznym roztworze. Ten punkt odpowiada punktowi w którym zaczyna się pęcznienie mięśnia sercowego, tuż za punktem minimalnego pęcznienia serca. Punkty te na Ryc. 1 i 3 zaznaczone są „X“ oraz strzałką.

Wniośki:

Na podstawie doświadczeń wykonanych nad pęcznieniem płytek żelatynowych i wycinków mięśnia sercowego w roztworach kofeiny w fizjologicznym roztworze soli kuchennej w stężeniach od 0% do 0,1% oraz na podstawie doświadczeń na królikach można wyciągnąć następujące wnioski:

1) Moczopędne działanie kofeiny przebiega odwrotnie do pęczniającego i odpęczniającego wpływu kofeiny na żelatynę, co pozwala sądzić, że działanie moczopędne kofeiny jest ściśle uzależnione od odpęczniającego wpływu na układy koloidowe organizmu.

2) Toksyczne działanie kofeiny pokrywa się ściśle z częścią, wstępującą krzywej pęcznienia żelatyny. Dawka śmiertelna pokrywa się ze stężeniem kofeiny, przy którym pęcznienie żelatyny przekracza punkt normalnego pęcznienia w czystym fizjologicznym roztworze soli kuchennej, oraz na moment tuż za punktem minimalnego pęcznienia mięśnia sercowego, kiedy krzywa pęcznienia mięśnia sercowego zaczyna się podnosić.

3) Śmierć kofeinowa spowodowana jest prawdopodobnie toksycznym działaniem kofeiny na mięsień sercowy w stężeniu kofeiny, w którym praca serca ulega silnym zaburzeniom, wskutek najsilniejszego odpęcznienia mięśnia lub też wskutek rozpoczynającego się stężenia (sztywnienia) mięśnia sercowego.

4) Zarówno moczopędne jakoteż toksyczne działanie kofeiny spowodowane jest jej charakterystycznym wpływem na układy koloidowe organizmu. Wpływ odpęczniający jest przyczyną moczopędnego, wpływ pęczniający jest — przyczyną toksycznego działania kofeiny.

Na tym miejscu pragnę podziękować Koł. Mieczysławowi TULASIEWICZOWI, dyrektorowi rzeźni miejskiej we Wrocławiu, za bezinteresowne dostarczenie mi materiału do świadczenia, oraz Kolegom st. asystentowi Władysławowi JAINOWSKIEMU i st. asyst. Władysławowi BARANOWI za udzielenie pomocy w pracy.

ADAM SZWABOWICZ

THE ESSENCE OF DIURETICAL AND TOXICAL ACTION OF CAFFEINE

Summary

I made experiments (with swelling of gelatine and heart-muscle of calves, than I tried to confirm the results obtained *in vitro* on rabbits. The experiments with gelatine swelling were made on gelatinous plates in form disks all of the same weight and surface. The disks were dipped into physiological solution (0,9 per cent NaCl) with caffeine added to it in different percentage: from 0 per cent to 0,1 per cent. The swelling took place in thermostat at temperature 18° C. The swelling of heart-muscle were made in the same manner — small pieces were cut out of left calve heart and cleaned of fat-tissue.

The swelling of gelatinous plates is presented in Table I and Fig. 1. and that of heart - muscle — in Table III and Fig. 3.

Results of these investigations were testified on rabbits. The first serie of experiments were made to prove the diuretical action of different doses of caffeine. The doses given intravenously to rabbits were corresponding to percentages of caffeine solutions in experiments with gelatine swelling. To 0,01 per cent *in vitro* corresponds the dose of 0,02 grammes per kilogramme rabbits weight. This dose I got by the following calculation: The gelatine swelling were made at temperature of + 18° C. The temperature of rabbit body is about + 38° C. The difference between both is 20° C. From the chemical rule we know that every 10° C the reaction is twice faster or slower, at a difference of 20° C — four times faster or slower. If for preparation of 0,01 per cent concentration in 1 liter of caffeine solution we apply 0,1 gramme of caffeine, than for 1 kilogramme weight of rabbit we must take 0,1 grammes divided per 4 i. e. 0,025 grammes, in order to have the same reaction as *in vitro*. But from this dose we must subtract about 20 per cent for the weight of bones, content of stomach and whole digestive tract and so on, because these parts of body do not participate in the reaction. Therefore the definite dose is 0,02 gramme per kilogramme rabbits weight (0,025 — 20 per cent = 0,02).

The curve of diuretical action of caffeine is quite inverted in comparison with the same one of gelatine swelling. More or less the maximum of diuretical action occurs in the minimum of gelatine swelling. The growth of caffeine dose to 0,1 gramme per kilogramme gives the growing of diuretical action and than the greater doses induce the diminishing of urine — see Tabl. II and Fig. 2.

The lethal dose is 0,166 grammes per kilogramme of rabbits weight and occurs immediately after the point where the swelling curve of gelatine crosses the level of normal swelling i. e. in pure physiological solution (see Fig. 1 — arrow and point X). Toxic signs begin about at 0,08 grammes per kilogramme and become more and more stronger corresponding to the rising part of gelatine swelling curve. The death occurs immediately after the point of minimum swelling off in the heart — muscle swelling curve (see Fig. 3).

Above mentioned experiment *in vitro* and *in vivo* conduct to conclusions:

1) The diuretical action of caffeine is inverted in comparison with the swelling of gelatine — this suggest, that diuretical action of caffeine is exactly connected with „swelling off“ action of caffeine onto colloidal systems of living body.

2) The toxic action of caffeine corresponds to rising part of gelatine swelling curve, and the lethal dose occurs immediately after the point where the swelling curve of gelatine crosses the level of normal swelling and with reference to swelling of heart-muscle it occurs immediately after the point where the curve of heart-muscle swelling begin to rise — immediately after the minimum of swelling off.

3) The death after caffeine is probably caused by the toxic action onto heart-muscle. The lethal dose causes the irregular action of heart, due to its maximum swelling off or due to, stiffening of heart-muscle.

4) The diuretical and toxic action of caffeine is caused by its influence onto colloidal systems of the living body i. e. its „swelling off“ influence causes the diuresis and its „swelling“ influence causes the toxic action of caffeine.

Piśmiennictwo

1. Albanese: Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. T. 35 (1895) i T. 43 (1900).
2. Bądryński i Gottlieb: dtto. T. 36 (1895) i T. 37 1896.
3. Barbeau i Wing: cyt gw Meyera: Exper. Pharmacologie, 1936, str. 397.
4. Brings i Molitor: Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. T. 159 (1931).
5. Burmeister: dtto T. 118 (1926).
6. Dreser: dtto T. 29 (1892).
7. Ellinger, Heymann, Klein: dtto T. 91 (1921).
8. Fröhner E.: Lehrbuch d. Toxicologie f. Tierärzte 1927 str. 310.
9. Gottlieb i Magnus: Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. T. 45 (1900-1901).
10. Gremels: dtto. 130 (1926) i T. 140 (1929).
11. Harnack: cyt. wg. Meyera — Experiment. Pharmacol. 1936, str. 397.
12. Hartwich: Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol. T. 111 (1925).

13. Krüger i Schmidt: dtto. T. 45 (1900-1901).
14. Löwi cyt wg Ellinger, Heymann, Klein: dtto. T. 91 (1921).
15. May cyt. wg. Ellinger Heymann Klein: dtto. T. 91 (1921).
16. Möller: dtto. T. 126 (1927), T. 148 (1930), T. 153 (1930) i T. 154 (1930).
17. Munk i Schröder, cyt. wg. Schwarza: dtto t. 43 (1900)
18. Ohme: dtto T. 89 (1921) i T. 102 (1924).
19. Poulsen E.: Lehrb. d. Pharmakol 1937, sr. 182.
20. Röst: Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakologie. T. 36 (1895).
21. Sakata: dtto T. 105 (1925)
22. Schmidt: dtto T. 95 (1922) i T. 101 (1924).
23. Schröder: cyt. wg. Aacha: dtto. T. 43 (1900).
24. Szwabowicz A. M.: Rozpr. Biolog. T. XV, (1937).
25. Zietzschmann O.: Das Skelettsystem — Ellenberger Baum: Handbuch der vergleichenden Anatomie d. Haustiere, 1943.

Z Państwowego Instytutu Weterynaryjnego w Puławach.

Kierownik: Prof. Dr A. TRAWIŃSKI

JANINA WIERZBICKA I STANISŁAW MADEJ

Badania nad znikaniem włoskowców różycy z krwi koni uodparnianych

Kwestia czasu znikania włoskowców różycy z krwi koni uodparnianych dla uzyskania surowicy przeciw różycy, stanowi zagadnienie epizootologiczne ze względu na ewentualną możliwość zakażenia świń przy użyciu surowicy. W celu rozstrzygnięcia tego zagadnienia, przeprowadziłam badania na 9 koniach uodparnianych. Konie te otrzymały dożylnie w czasie od 13 marca do 8 kwietnia w odstępach 7-mio dniowych kolejno wzrastającą dawkę 24 godzinnej hodowli bulionowej włoskowca różycy w ilości od 50 do 250 cm³. Krew w ilości około 3 cm³ wyciągnięto z koni w sposób aseptyczny za pomocą igły do próbek z zawartością 10 cm³ pożywki bulionowej, początkowo po upływie 24 godzin i badano zaszczerpienie hodowle po 36-cio godzinny wyiegu w cieplarni w preparatach barwionych wodnym roztworem fuksyny i błękitu metylenowego. Wszystkie próbki dały wynik ujemny; pożywki pozostały jałowe

z wyjątkiem (dwu przypadków, w których stwierdzono zanieczyszczenie ziarniakami. W dalszej serii badań, pobierano krew po upływie 1, 2 i 6 godzin od zastrzyku dożylnego 250 cm³ 24-godzinnej hodowli bulionowej i również w żadnym przypadku nie udało się wyosobnić z pobranej próbki krwi włoskowców różycy. Z powyższego wynika, iż włoskowce różycy wprowadzone w postaci hodowli bulionowej do obiegu krwi koni, albo ulegają w bardzo krótkim czasie bakteriolizie, albo też rozcieńczanie ich w krążącej krwi jest tak znaczne, iż trudno je wyosobnić z kilku cm³ pobranej próbki krwi. Ponieważ włoskowców różycy nie stwierdza się także w surowicy przeciw różycy przy sposobności jej kontroli na jałowość, istnieje domniemanie, iż nie zachodzi obawa wprowadzenia do organizmu świń włoskowców różycy z surowicą przeciw różycy, używaną tak do szczepień zapobiegawczych, jako też leczniczych.