

EUGENIUSZ MIĘTKIEWSKI, IRENA JANKOWSKA

O WPLYWIE SEROTONINY I REZERPINY NA ZUŻYWANIE TLENU PRZEZ TKANKI SZCZURA ODDYCHAJĄCE *IN VITRO*

Z Zakładu Fizjologii Pomorskiej A. M. w Szczecinie
Kierownik: prof. dr E. Miętkiewski

Pomimo wielkiego bogactwa świeżych wiadomości o występowaniu i aktywności serotoniny wciąż jeszcze nie wszystko wiadomo nie tylko o patologicznych, ale i o normalnych mechanizmach działania tej nowo odkrytej aminy biologicznej, o której mimo to sądzi się już niemal powszechnie, że jest neurohormonem i spełnia szereg ważnych zadań fizjologicznych. W dalszym ciągu nie wiadomo z pewnością jakie są szczegółowe sposoby działania serotoniny i dlatego dyskutuje się nadal każdą z głównych dziedzin jej wpływu na wszystkie ważniejsze funkcje ustroju. Toteż wciąż jeszcze zbiera się materiał, aby móc kiedyś powiedzieć napewno jak pod wpływem serotoniny kształtuje się np. perystaltyka przewodu pokarmowego, toniczne napięcie naczyń krwionośnych i mięśni gładkich w drogach oddechowych, hamowanie krwawień, diureza, termoregulacja, anafilaksja i wstrząsy, przewodzenie impulsów w synapsach ośrodkowego układu nerwowego i neurohormonalna regulacja prawidłowych czynności mózgu. Do dalszych badań na ten temat słusznie zachęcają też autorzy szeregu monografii np. *Cerleti, Erspamer, Page*, którzy na podstawie przestudiowania setek prac doświadczalnych łatwo zauważyć mogli, co w tej dziedzinie nie zostało wyjaśnione jeszcze z całą pewnością.

Niewątpliwie podstawowy sposób oddziaływania na dynamikę żywej materii stanowią wpływy na metabolizm, którego wyrazem może być oddychanie tkankowe. Nie mogąc znaleźć wyczerpującego piśmiennictwa właśnie pod tym kątem widzenia, za cel naszej pracy postawiliśmy sobie badania nad zużyciem tlenu w zależności od serotoniny wprowadzanej z zewnątrz lub usuwanej z ustroju przy pomocy rezerpiny. Najpierw chcemy się przekonać jak na oddychanie różnych tkanek wpływa serotonina syntetyczna dodawana w różnych stężeniach do płynu, w którym skrawki mózgu, nerki, wątroby i przepony oddychają poza ustrojem w naczynkach aparatu Warburga.

Ponadto zamierzamy ustalić jak kształtuje się zużywanie tlenu wymienionych tkanek, gdy pobierzemy je od zwierząt, którym na kilka minut przed sekcją wstrzyknie się dożylnie większą dawkę serotoniny egzogennej lub zwiększy się poziom serotoniny endogennej wskutek wstrzykiwania sztucznego jej prekursora w postaci 5-hydroksytryptofanu. Na koniec wydaje nam się ciekawe zbadanie oddychania wymienionych tkanek pobieranych od zwierząt, którym do minimum zmniejszono zawartość własnej serotoniny wewnątrzustrojowej przez dożylnie wstrzykiwanie rezerpiny. Skoro już rezerpiny użyjemy do obniżenia poziomu serotoniny u właściwych zwierząt doświadczalnych, oddzielnie winniśmy się przekonać jak na oddychanie tkankowe wpływa sama rezerpina dodawana do płynu odżywiającego badane tkanki *in vitro* lub podawana dożylnie na krótko przed pobieraniem tkanek do badania poza ustrojem.

METODYKA

Badania przeprowadziliśmy na 100 białych szczurach, dojrzałych samcach i samicach wagi około 250 g. Każde zwierzę usypialiśmy eterem, aby bez ogłuszania jak najszybciej móc pobrać wycinki wątroby, nerek, przepony i mózgu, które natychmiast umieszczaliśmy w lodowatym płynie Ringera-Krebsa. Usypianie trwało zazwyczaj 2 minuty, a pobieranie wycinków około 45 sekund. Po upływie dalszych 2—3 minut rozpoczynało się krajanie pobranych tkanek. Krajaliśmy ręcznie przy pomocy oprawionej żyłki na stoliku mrożonym, a skrawki odkładaliśmy do lodowatego płynu Ringera-Krebsa. Staraliśmy się zawsze jednakowo powierzchownie skrawać zewnętrzne warstwy półkul, aby badać oddychanie skrawków kory mózgowej. Wątrobę i nerkę krajaliśmy prostopadle do zewnętrznej powierzchni tak, że otrzymywaliśmy skrawki idące przez wszystkie warstwy utkania tych narządów. Przepony nie krajaliśmy, rozcinając ją tylko nożyczkami na kwadraciki o powierzchni około 10 mm², podczas gdy skrawki wątroby i nerki miały 0,3—0,4 mm grubości i powierzchnię około 25 mm², a skrawki mózgu bywały jeszcze większe i nieco grubsze. Krajanie i wybieranie skrawków trwało około 15 minut. Gotowe skrawki umieszczaliśmy w naczynkach Warburga, w których znajdowało się zawsze 2 ml lodowatego płynu Ringera-Krebsa z moderatorem fosforanowym. Jedynie mózg badaliśmy zawsze w dwóch naczynkach, druga próbka mózgu oddychała bowiem w wymienionym płynie z dodatkiem 100 mg^o/_o glikozy. Pochłaniacz CO₂ stanowiła bibuła zwilżona 0,2 ml 20^o/_o KOH. Fazę gazową stanowił tlen. Łaźnia wodna miała temperaturę 37±0,01°C. Naczynka kołysały się w łaźni 100 razy na minutę. Przeciętnie po 30 minutach od sekcji zwierzęcia zamykaliśmy krany aparatu Warburga i rozpoczynaliśmy pomiar zużycia tlenu, odczytując stan manometrów co 20 minut, czyli 3 razy w ciągu godziny. Wynik obliczaliśmy jako średnią arytmetyczną ze wszystkich trzech odczytów i wyrażaliśmy jako zużycie tlenu w mm³ na 1 mg suchej tkanki i 1 godzinę. Tkanki suszyliśmy po każdym doświadczeniu przez 24 godziny w cieplarni o temp. 95°C i wazyliśmy je na oddzielnych szkiełkach nakrywkowych.

Wszystkie doświadczenia podzieliliśmy na 8 grup. W każdej grupie badaliśmy oddychanie skrawków wymienionych tkanek od 10 zwierząt. W poszczególnych działkach pomiarów ustalaliśmy średnią arytmetyczną, obliczając równocześnie średnie odchylenie i średni błąd średniej.

Pierwszą grupę stanowią zwierzęta kontrolne, którym nie podawaliśmy serotoniny ani rezerpiny, aby ustalić własne normalne wartości oddychania badanych tkanek. Do tych wartości odnosząc będziemy odpowiednie wyniki z pozostałych właściwych 7 grup doświadczalnych. Przez to spodziewamy się uniknąć błędów, jakie mogą powstać, gdy oddychanie tkankowe porównuje się z wartościami uznawanymi za prawidłowe przez innych autorów. Na to niebezpieczeństwo zwraca uwagę niejeden autor. *Ulrich* uważa np., że zużycie tlenu przez określoną tkankę jednego gatunku zwierząt jest bardzo niejednakowe w pracach różnych autorów między innymi z tego powodu, że często używa się odmiennych płynów do inkubacji tkanek i niedokładnie opracowuje się w ten sam sposób materiał doświadczalny.

W drugiej grupie badaliśmy oddychanie wymienionych tkanek tak samo jak w grupie kontrolnej, ale pobieraliśmy je od zwierząt, które na 15 minut przed sekcją otrzymały dożylnie 10 mg/kg serotoniny Hofmann la Roche w postaci siarczanu kretyniny*.

Trzecią grupę stanowią zwierzęta, które na 16 godzin przed sekcją otrzymały dożylnie 5 mg/kg rezerpiny. Powszechnie wiadomo, że w tym czasie nie ma już w ustroju wstrzykniętej rezerpiny, a zawartość serotoniny w tkankach powinna wynosić najwyżej 10% wartości prawidłowych.

Czwartą grupę zwierząt przeznaczaliśmy na to, aby się przekonać czy sama rezerpina podana dożylnie wpływa na oddychanie tkanek pobranych wkrótce po wstrzyknięciu, a więc jeszcze przed wydaleniem rezerpiny i o wiele wcześniej, zanim zdąży obniżyć się przez to poziom serotoniny wewnątrzustrojowej.

W grupach od piątej do siódmej badaliśmy oddychanie tkanek od zwierząt nieprzygotowanych serotoniną ani rezerpiną, ale do naczynek Warburga dodawaliśmy po 5, 50 lub 500 μg serotoniny na 1 ml płynu, w którym oddychały skrawki badanych tkanek.

Zupełnie podobnie postępowaliśmy w grupie ósmej, w której do tkanek oddychających w naczynkach Warburga dodawaliśmy po 1 μg rezerpiny na 1 ml fosforowanego płynu Ringera-Krebsa.

WYNIKI

Liczbowe zestawienie i częściowe opracowanie statystyczne wyników wszystkich doświadczeń przedstawia tab. 1. Zużycie tlenu jest tam wyrażone jako średnia arytmetyczna ze wszystkich pomiarów dla każdej tkanki w poszczególnych grupach doświadczalnych. Do każdego z tych wyników obliczano średni błąd średniej, a także wskaźnik istotności różnicy w odniesieniu do odpowiednich wielkości prawidłowych u własnych zwierząt kontrolnych. Za statystycznie znamienne przyjęto te różnice, których wskaźnik istotności x jest większy niż 2 ($x > 2$). Część tych wyników opracowanych graficznie przedstawiają dla przykładu ryc. 1 i 2.

Z I grupy doświadczeń wynika, że zużycie tlenu przez tkanki badane w naszych warunkach jest nieco mniejsze albo nawet równe w zestawieniu z podobnymi wynikami innych autorów, szczególnie, gdy uwzględni się słuszne uwagi cytowanej już pracy *Ulricha*. Średni błąd średniej naszych

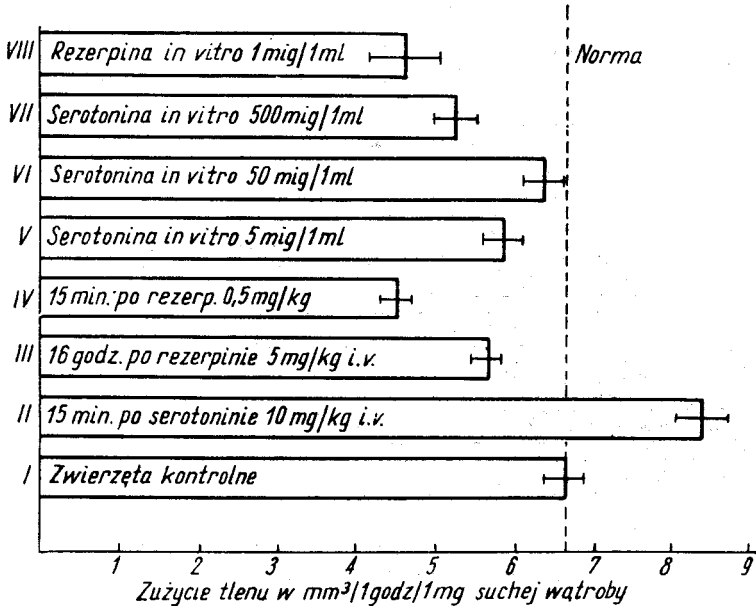
* Za bezinteresownie dostarczoną serotoninę uprzejmie dziękujemy fabrykom chemicznym CIBA A. G. i J. R. Geigy w Bazylei.

Tabela 1. Liczbowe zestawienie wyników wszystkich doświadczeń
 Table 1. Results from all experiments collectively

Grupa doświadczalna 1)	Liczba zwierząt 2)	Warunki doświadczeń w poszczególnych grupach 3)	Zużycie tlenu w mm ³ /1 godz./1 mg suchych tkanek, ± średni błąd średniej, x = wskaźnik istotności różnicy w odniesieniu do zwierząt kontrolnych 4)				
			mózg 5)	mózg z glikozą 6)	nerka 7)	wątroba 8)	przepona 9)
I	10	zwierzęta kontrolne 10)	6.84 ±0.26	9.31 ±0.21	14.57 ±0.42	6.58 ±0.26	3.03 ±0.45
II	10	15 min. po dożylnym podaniu 10 mg/kg serotoniny 11)	9.26 ±0.27 x=6.4	10.8 ±0.24 x=0.5	16.70 ±0.37 x=3.83	8.32 ±0.35 x=4.0	3.34 ±0.23 x=2.6
III	10	16 godz. po dożylnym podaniu 5 mg/kg rezerpiny 12)	5.76 ±0.16 x=3.5	7.83 ±0.30 x=4.0	11.99 ±0.33 x=4.7	5.61 ±0.19 x=3.0	1.77 ±0.22 x=2.5
IV	10	15 min. po dożylnym podaniu 0,5 mg/kg rezerpiny 13)	6.27 ±0.30 x=1.4	7.92 ±0.22 x=4.3	11.34 ±0.67 x=4.11	4.41 ±0.20 x=6.6	2.76 ±0.16 x=0.56
V	10	5 µg serotoniny na 1 ml płynu <i>in vitro</i> 14)	7.10 ±0.33 x=1.1	9.78 ±0.52 x=0.84	12.21 ±0.43 x=4.3	5.77 ±0.48 x=1.4	3.74 ±0.20 x=1.4
VI	10	50 µg serotoniny na 1 ml płynu <i>in vitro</i> 14)	8.75 ±0.40 x=4.0	11.19 ±0.48 x±3.5	14.25 ±0.38 x=0.57	6.28 ±0.26 x=0.79	3.79 ±0.16 x=1.6
VII	10	500 µg serotoniny na 1 ml płynu <i>in vitro</i> 14)	6.21 ±0.29 x=1.63	11.33 ±0.26 x=3.2	14.02 ±0.52 x=0.82	5.16 ±0.24 x=4.1	2.95 ±0.27 x=0.01
VIII	10	1 µg rezerpiny na 1 ml płynu <i>in vitro</i> 15)	7.01 ±0.18 x=0.47	6.75 ±0.32 x=6.0	13.21 ±0.66 x=1.7	4.51 ±0.47 x=3.9	1.95 ±0.26 x=2.1

Experimental group 1); Number of animals 2); Experimental conditions in particular groups 3); Oxygen uptake in cmm. (hr.) mg. dry weight, ± standard error of mean; x=index of statistical significance with reference to control animals 4); brain 5); brain with glucose 6); kidney 7); liver 8); diaphragm 9); control animals 10); 15 min. after serotonin, 10 mg./kg., intravenously 11); 16 hrs. after reserpine 5 mg./kg. intravenously 12); 15 min. after reserpine, .5 mg./kg., intravenously 13); 5 µg. serotonine per 1 ml. nutrient sol 14); 1 µg. reserpine er 1 ml. nutrient sol 15).

pomiarów kontrolnych jest stosunkowo niewielki, choć waha się od $\pm 0,21$ do $\pm 0,45$. Najintensywniej oddychały skrawki nerek, zużywając przeciętnie $14,57 \text{ mm}^3$ tlenu na 1 mg suchej tkanki w ciągu 1 godziny. Mózg w płynie z glikozą zużywał $9,31$, a w samym fosforanowym roztworze Ringera-Krebsa $6,84 \text{ mm}^3$. Skrawki wątroby zużywały średnio $6,58$, a strzępy przepony tylko $3,03 \text{ mm}^3$ tlenu.



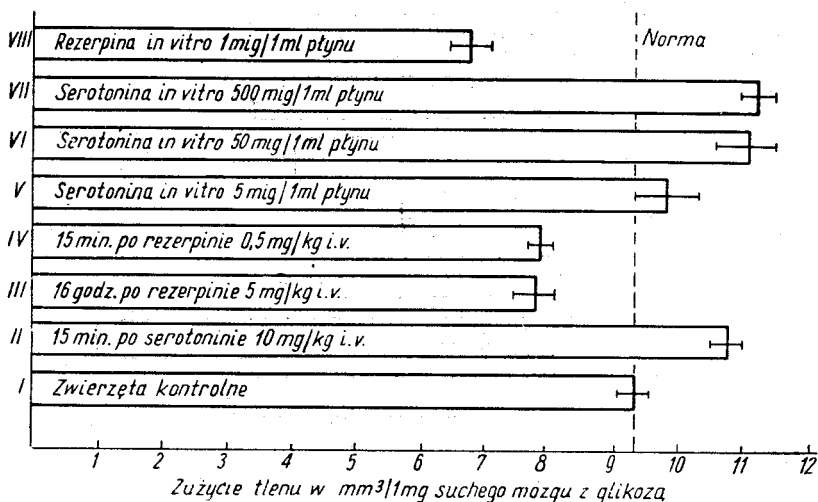
Ryc. 1. Graficzny obraz zużywania tlenu przez skrawki mózgu szczurów badane manometrycznie aparatem Warburga w fosforanowym roztworze Ringera-Krebsa z glikozą w następujących warunkach doświadczalnych: I — norma u zwierząt kontrolnych, II — 15 minut po dożylnym wstrzyknięciu $10 \text{ mg}/\text{kg}$ serotoniny, III — 16 godzin po dożylnym wstrzyknięciu $5 \text{ mg}/\text{kg}$ rezerpiny, IV — 15 minut po dożylnym wstrzyknięciu $0,5 \text{ mg}/\text{kg}$ rezerpiny, V — po dodaniu 5 mg serotoniny na 1 ml płynu odżywiającego skrawki in vitro, VI — po dodaniu serotoniny jak wyżej w dawce $50 \text{ mg}/\text{ml}$, VII — po dodaniu serotoniny jak wyżej w dawce $500 \text{ mg}/\text{ml}$, VIII — po dodaniu 1 mg rezerpiny na 1 ml płynu odżywiającego skrawki in vitro.

Fig. 1. In vitro oxygen uptake by brain tissue, as measured manometrically in Warburg's apparatus in Ringer-Krebs solution with glucose. I — control; II — 15 min. after serotonin, $10 \text{ mg}/\text{kg}$. intravenously; III — 16 hours after reserpine, $5 \text{ mg}/\text{kg}$. intravenously; IV — 15 min. after reserpine, $0,5 \text{ mg}/\text{kg}$. intravenously; V — with serotonin, $5 \text{ mg}/\text{ml}$, added to the nutrient solution; VI — with serotonin, $50 \text{ mg}/\text{ml}$, added as above; VII — with serotonin, $500 \text{ mg}/\text{ml}$, added as above; VIII — with reserpine, $1 \text{ mg}/\text{ml}$, added to the nutrient solution.

Zupełnie wyraźne zwiększenie pochłaniania tlenu widać w całej II grupie naszych doświadczeń, w których mózg, nerkę, wątrobę i przeponę pobieraliśmy od szczurów przeciętnie w 15 minut po dożylnym wstrzyknięciu im $10 \text{ mg}/\text{kg}$ serotoniny. Zużywanie tlenu przez mózg powiększyło się w tych warunkach średnio z $6,84$ na $9,26$ lub z $9,31$ na $10,8$, gdy mózg inkubowaliśmy w płynie z dodatkiem glikozy. Są to więc różnice zupełnie

wyraźne o dużym wskaźniku znamienności, który wynosi 6,4 i 5,5, a więc jest o wiele większy niż 2. Odychanie nerki wzrosło przeciętnie z 14,57 na 16,7 przy wskaźniku znamienności 3,89. To samo dotyczy oddychania skrawków wątroby i strzępów przepony, gdyż zużycie tlenu wzrosło z 6,58 na 8,32 lub z 3,03 na 4,34 przy wskaźnikach istotności różnicy 4,0 i 2,6.

Tej części naszych doświadczeń nie umiemy porównać z badaniami innych autorów, gdyż nie znaleźliśmy narazie podobnej pracy na ten sam temat. Jedynie na podstawie publikacji *Salgarello* mogliśmy przy-



Ryc. 2. Graficzny obraz zużycia tlenu przez skrawki wątroby szczurów badane manometrycznie aparatem Warburga w fosforanowym roztworze Ringera-Krebsa w następujących warunkach doświadczalnych: I — norma u zwierząt kontrolnych, II — 15 minut po dożylnym wstrzyknięciu 10 mg/kg serotoniny, III — 16 godzin po dożylnym wstrzyknięciu 5 mg/kg rezerpiny, IV — 15 minut po dożylnym wstrzyknięciu 0,5 mg/kg rezerpiny, V — po dodaniu 5 μ g serotoniny na 1 ml płynu odżywiającego skrawki *in vitro*, VI — po dodaniu serotoniny jak wyżej w dawce 50 μ g/ml, VII — po dodaniu serotoniny jak wyżej w dawce 500 μ g/ml, VIII — po dodaniu 1 μ g rezerpiny na 1 ml płynu odżywiającego skrawki *in vitro*.

Fig. 2. In vitro oxygen uptake by liver tissue, as measured manometrically in Warburg's apparatus in Ringer-Krebs solution.

All other conditions and marking as in Fig. 1.

puszczać, że serotonina powinna działać odwrotnie, gdyż z cytowanej pracy wynika, że 5-hydroksytryptamina działa wybitnie depresyjnie na zużycie tlenu przez homogenizaty mózgu i wątroby badane *in vitro*. Nie ma tam jednak mowy o wpływach, jakie na oddychanie krajanych tkanek wywierać może serotonina podawana zwierzętom doświadczalnym na pewien czas przed sekcją i pobieraniem tkanek do badania poza ustrojem.

Zasadniczy wniosek z drugiej grupy naszych doświadczeń, który mówi, że dożylny podanie serotoniny wyraźnie zwiększa zużycie tlenu przez tkanki szczura oddychające *in vitro*, trudno też na pierwszy rzut oka po-

godzić z najnowszą koncepcją *Labourita* i *wsp.* (5) oraz z doświadczeniami *Brenka*. Zdaniem tych autorów serotonina jest czynnikiem wzrostowym u roślin i zwierząt, a istotę tego działania stanowią jej własności antyoksydacyjne. Istnieje też pogląd, że toksyczne działanie tlenu stosowanego pod zwiększonym ciśnieniem [6] i promieniowania jonizującego polega na wspólnym mechanizmie, któremu przeciwdziałają ciała utrudniające oksydację, do jakich ma należeć serotonina [5]. Jeśli by istotnie na tej zasadzie polegać miało ochronne działanie serotoniny przed promieniowaniem jonizującym i szkodliwością zwiększanego ciśnienia tlenu, to trzeba by się spodziewać, że wprowadzenie większych dawek serotoniny do krwioobiegu powinno zmniejszać zużywanie tlenu przez tkanki pobrane wkrótce po tym do oddychania poza ustrojem.

Tym bardziej ciekawe stają się przez to wyniki III grupy naszych doświadczeń, które stanowią pewne poparcie wyników uzyskanych w grupie II. Tym razem przy pomocy rezerpiny do minimum zmniejszyliśmy zawartość serotoniny wewnątrzustrojowej. Do badania zużycia tlenu przez skrawki oddychające *in vitro* pobieraliśmy tkanki od zwierząt, które przed 16 godzinami otrzymały dożylnie wstrzyknięcia 5 mg/kg rezerpiny. W tym czasie nie powinna już działać sama rezerpina, która szybko opuszcza ustrój, ale na długo pozostawia prawie zupełny brak serotoniny. Okazało się, że tkanki sztucznie uwolnione od ich własnej serotoniny wykazują wyraźne zmniejszenie zużycia tlenu, podobnie jak te same tkanki sztucznie wzbogacane w serotoninę egzogenną wykazywały zwiększone oddychanie poza ustrojem. Skrawki mózgu zmniejszyły zużycie tlenu z 6,84 na 5,76 mm³, a ta sama tkanka oddychająca w płynie z dodatkiem glikozy zużywała 7,83 zamiast 9,31 mm³ tlenu. Wskaźniki istotności różnicy są w obu przypadkach dużo większe niż 2, gdyż wynoszą 3,5 i 4,0. Podobnie wyraźnie zmniejszyło się oddychanie nerki, wątroby i przepony, dla których zużycie tlenu zmniejszyło się z 14,57 na 11,99, z 6,58 na 5,61 i z 3,03 na 1,77 mm³ przy wskaźnikach znamienności tych różnic również dużo większych od 2.

W IV grupie doświadczalnej chcieliśmy się przekonać, czy opisane poprzednio zmniejszenie zużycia tlenu jest skutkiem zmniejszenia zawartości serotoniny wewnątrzustrojowej, a nie spowodowane działaniem samej rezerpiny. Dlatego też tym razem wstrzykiwaliśmy dożylnie mniejszą dawkę 0,5 mg/kg rezerpiny, ale pobieraliśmy tkanki do badania już po 15 minutach. Chodziło o wykorzystanie takiego momentu, kiedy nie zdążył wybitnie zmniejszyć się poziom serotoniny, a wstrzyknięta rezerpina nie została jeszcze wydalona. Wyniki tej grupy doświadczeń są już nieco mniej zgodne i przekonujące, ale pozwalają jeszcze na wysunięcie wniosku, że wkrótce po dożylnym wstrzyknięciu 0,5 mg/kg rezerpiny zmniejsza się zużycie tlenu przez tkanki badane *in vitro*. Zużycie tlenu przez skrawki

mózgu w płynie bez glikozy zmniejszyło się średnio z 6,84 na 6,27, a w środowisku z glikozą z 9,31 na 7,92 mm³. Takie same zmniejszenia dla pozostałych tkanek kształtują się następująco: 14,57 na 11,34 mm³ dla nerki, 6,58 na 4,41 mm³ dla wątroby i 3,03 na 2,76 mm³ dla przepony. Jednak za statystycznie znamienne przyjąć tu można jedynie zmniejszenie zużycia tlenu przez skrawki mózgu w środowisku z glikozą oraz dla nerki i wątroby, gdyż wskaźnik istotności różnicy dla skrawków mózgu w środowisku bez glikozy wynosił tylko 1,4, a dla przepony 0,56. W ten sposób wyniki naszych doświadczeń z rezerpiną można by porównać z danymi Voigta i Kiesslinga. Ci autorzy podają jednak, że zużycie tlenu przez skrawki wątroby i nerek od szczurów, które przewlekłe otrzymywały około 0,5 mg/kg rezerpiny dziennie, nie wykazuje żadnych odchyłeń od normy.

Doświadczenia grupy V VI i VII możemy omówić wspólnie, gdyż całe postępowanie było w nich jednakowe z wyjątkiem wielkości dawek serotoniny w płynie odżywiającym tkanki *in vitro*. We wszystkich doświadczeniach tych trzech grup pobieraliśmy mózg, nerkę, wątrobę i przeponę od zwierząt niczym nie przygotowanych. Dopiero do płynu odżywczego w naczynkach Warburga dodawaliśmy serotoninę w trzech stężeniach końcowych, a mianowicie po 5 µg/ml w grupie V, 50 µg/ml w grupie VI i po 500 µg/ml w grupie VII. Razem możemy omawiać wyniki tych badań i z tej przyczyny, że wspólna jest im niewielka zgodność zarówno pod względem kierunku zmian jak przede wszystkim w zakresie statystycznej znamienności stwierdzonych różnic. Naocznie wynika to z porównania tych grup na ryc. 1 i 2. Okazało się, że serotoninina zastosowana *in vitro* rozmaicie wpływa na zużywanie tlenu przez poszczególne rodzaje tkanek, w mózgu i przeponie powoduje rozmaicie wyraźny wzrost zużycia tlenu, podczas gdy skrawki nerki i wątroby wykazują wtedy stałe, chociaż statystycznie dosyć często nieistotne, zmniejszenie pochłaniania tlenu.

Tę część naszych badań możnaby przeto uznać za częściowo zgodną z wynikami Salgarello, który badał wprawdzie nie skrawki, ale hemogenizowane tkanki nerek i wątroby i stwierdził bardzo wyraźne zmniejszenie zużycia tlenu pod wpływem *in vitro* dodawanej serotoniny. Znacznie trudniej jest nam tymczasem objaśnić wyraźną niezgodność między wynikami II, a ostatnio omawianymi grupami doświadczeń własnych. W II grupie stwierdziliśmy bardzo zgodny i przekonywujący wzrost zużycia tlenu przez wszystkie z badanych tkanek, gdy serotoninę podawaliśmy dożylnie na 15 minut przed sekcją zwierząt, a obecnie widzimy mało pewne i nie zawsze występujące zmniejszenie zużycia tlenu pod wpływem serotoniny dodawanej do skrawków oddychających *in vitro*. Wynikałoby z tego przypuszczenie, że serotoninina zwiększa zużycie tlenu w ustroju za pośrednictwem innych mediatorów chemicznych lub na drodze nerwowej skoro

dodawana wprost do tkanek oddychających *in vitro* nie ma już tego działania lub nawet w pewnym stopniu zmniejsza zużycie tlenu przynajmniej w niektórych tkankach.

W ostatniej grupie doświadczeń mieliśmy się przekonać, jak na zużycie tlenu wpływa sama rezerpina dodawana do tkanek *in vitro*, gdyż w III i IV grupie stosowaliśmy ją w zastrzykach dożylnych i zawsze widzieliśmy wyraźne zmniejszenie zużycia tlenu przez tkanki badane później poza ustrojem. Uzyskane wyniki nie są wprawdzie bardzo znamienne, ale pozwalają na tymczasowe wnioskowanie, że zużycie tlenu przez mózg, nerkę, wątrobę i przeponę zmniejsza się pod wpływem rezerpiny dodawanej do płynu odżywiającego te tkanki *in vitro*. Szczególnie wyraźne różnice wykazują pod tym względem mózg w płynie z glikozą, wątroba i przepona, dla których wskaźniki istotności różnic wynoszą 6,0, 3,9, i 2,1.

Do wyjaśnienia pozostaje nam przeto jeszcze szereg wątpliwości. W pierwszym rzędzie musimy zbadać jak dożylne wstrzykiwanie serotoniny i rezerpiny wpłynie na gazową przemianę całego zwierzęcia, gdyż dotychczas badaliśmy to zagadnienie tylko na podstawie zużycia tlenu przez niektóre tkanki *in vitro*. Ponadto o wpływie serotoniny na oddychanie mózgu usiłowaliśmy wnioskować na razie na podstawie doświadczeń, w których 5-hydroksytryptaminę podawaliśmy dożylnie, wiedząc o tym, że istnieje bardzo trudna do przebycia bariera hematoencefaliczna. W dalszych badaniach na ten temat usiłujemy ominąć tę barierę na drodze dożylnego podawania prekursorów serotoniny i inhibitorów monoamino-oksydazy. Powinno się też pamiętać o uwagach w sprawie uogólniania wyników uzyskanych w badaniach nad mózgiem i innymi tkankami *in vitro* na zjawiska i korelację w całym ustroju. Za bardzo słuszne uważamy zastrzeżenia, że wyników uzyskanych w doświadczeniach z mózgiem nie można też wprost przenosić na stosunki *in vivo*, gdyż samo pobieranie mózgu i badanie go *in vitro* jest już tak silnym urazem, że powinno prowadzić do zmian, których nie da się uniknąć, odwrócić ani przewidzieć. Pod tym względem godzimy się z wynikami badań Kellera, który stwierdził, że mózg zwierząt badanych w stanie drgawek wywoływanych kardiazolem, znacznie intensywniej zużywa tlen, podczas gdy ten sam preparat dodawany do mózgu oddychającego *in vitro* zupełnie na zużywanie tlenu nie wpływa.

WNIOSKI

1. Zużycie tlenu przez skrawki mózgu, nerki, wątroby i strzępy mięśnia szkieletowego, badane w płynie fosforanowym Ringera-Krebsa aparatem Warburga, podlega zmianom pod wpływem serotoniny i rezerpiny dodawanych do płynu odżywiającego tkanki *in vitro*, a jeszcze wyraźniej po

dożylnym wstrzyknięciu serotoniny lub rezerpiny na pewien czas przed pobieraniem materiału do badania poza ustrojem.

2. Najbardziej zgodne i przekonywujące jest zwiększenie zużycia tlenu przez skrawki mózgu, nerki, wątroby i strzępy mięśnia szkieletowego pobrane od zwierząt, którym na 15 minut przed sekcją wstrzyknięto 10 mg/kg serotoniny.

3. Tak samo wyraźne i zgodne jest zmniejszenie zużycia tlenu przez tkanki zwierząt, które na 16 godzin przed sekcją otrzymały dożylnie 5 mg/kg rezerpiny w celu usunięcia endogennej serotoniny z ich komórek.

4. Serotonina dodawana do płynu odżywiającego *in vitro* skrawki mózgu, nerki, wątroby i strzępy mięśnia szkieletowego, nieznacznie zmniejsza zużycie tlenu przez nerkę i wątrobę, podczas, gdy w pozostałych tkankach nie powoduje zmian w ogóle, lub nawet zużycie tlenu powiększa.

5. Rezerpina zmniejsza zużycie tlenu przez skrawki mózgu, nerki, wątroby i strzępy mięśnia szkieletowego zarówno dodana do płynu odżywczego *in vitro* jak również wstrzyknięta dożylnie na 15 minut przed pobraniem materiału do badania poza ustrojem.

E. Miętkiewski, H. Jankowska

ВЛИЯНИЕ СЕРТОНИНА И РЕЗЕРПИНА НА ПОТРЕБЛЕНИЕ КИСЛОРОДА ТКАНЯМИ КРЫСЫ IN VITRO

Содержание

Исследования проводились в 9 группах на 100 белых крысах, которым после усыпления эфиром, брали мозг, почку, печень и диафрагму, для определения потребления кислорода срезами этих тканей, исследуемого манометрически непосредственным методом Варбурга в фосфатном растворе Рингер-Кребса. Потребление кислорода выражали в мм³ на 1 час и 1 мг сухой массы исследуемой ткани.

На 20 крысах 1 группы исследованной предварительно определили нормальные величины потребления кислорода отдельными тканями, что составляло контрольные данные, для сравнения с ними полученных результатов от остальных 7 экспериментальных групп.

Во II группе исследовалось потребление кислорода срезами мозга, почек, печени и диафрагмы у 10 крыс, которым на 15 минут до секции внутривенно вводили 10 мг/кг серотонина. Оказалось, что после серотонина потребление кислорода значительно и заметно повышалось.

В III группе исследовалось дыхание тканей 10 крыс, которым на 16 часов до секции впрыскивали 5 мг/кг резерпина, чтобы максимально уменьшить содержание эндогенного серотонина в их клетках. Оказалось, что резорбция кислорода уменьшается одинаково регулярно и заметно как увеличивалась в предыдущей группе.

В IV группе методика эксперимента не отличалась от группы III, с той разницей, что резерпин вводили в 10-кратной меньшей дозе чем в III группе и на 15 минут до секции, чтобы он не успел еще освободить эндогенного серотонина а также выделиться из организма. И так оказалось, что внутривенное введение резерпина

само по себе уменьшает потребление кислорода срезами мозга, почки и печени, исследуемыми после *in vitro*.

В трех следующих группах определялось потребление кислорода срезами исследуемых органов на 30 крысах, которым не вводился ни серотонин, ни резерпин прижизненно, а только сам серотонин прибавлялся к оживляющей ткани жидкости *in vitro*. В V группе применяли по 5 μg , в VI по 50 μg , в VII по 500 μg серотонина на 1 мл жидкость и в сосудах аппарата Вартбурга. Оказалось, что серотонин, применяемый таким образом *in vitro* вызывает небольшое и не всегда знаменательное статистически, уменьшение потребления кислорода.

На 10 крысах последней группы установлено, что и резерпин, прибавляемый в количестве 1 мг/мл жидкости в аппарате Варбурга, ведет к уменьшению потребления кислорода срезами мозга, почек, печени и диафрагмы.

M. Miętkiewski, J. Jankowska

THE EFFECTS OF SEROTONIN AND RESERPINE ON THE IN VITRO OXYGEN UPTAKE OF RAT TISSUES

Summary

The experiments involved nine groups of rats totalling 100 animals. The animals were anaesthetized with ether, specimens of brain, kidney, liver, and diaphragm were taken, and sections were prepared and their oxygen uptake studied manometrically by the direct Warburg method in Ringer-Krebs phosphate solution. Oxygen uptake was defined in cmm , per 1 hour per 1 mg. of dry weight of tissue.

For reference purposes, group I/20 rats was used to determine normal oxygen uptake of the respective tissues.

The animals in group II received each 10 mg./kg. of serotonin intravenously 15 min. before dissection. Oxygen uptake was invariably very distinctly increased.

In group III (10 rats), each animal received 5 mg./kg. of reserpine intravenously 16 hours before the dissecting, in order to minimize cellular content of endogenic serotonin. Oxygen was as invariably and distinctly diminished as it was increased in group II.

With group IV the procedure was essentially the same as with group III, except that reserpine was given in doses one tenth of the former and only 15 min. before the dissecting so that it should be able neither to liberate the endogenic serotonin nor to leave the organism. These experiments have shown intravenously given reserpine by itself to increase the *in vitro* oxygen uptake of brain, kidneys, and liver sections.

The 30 animals of the next three groups received neither serotonin nor reserpine. However, serotonin was added to the nutrient solution in which the tissue sections were kept in the Warburg apparatus, in proportions of 5, 50 and 500 μg . per 1 ml. as for groups V, VI and VII respectively. In these experiments the reduction of oxygen uptake was slight, and not always statistically significant.

In analogous experiments involving the ten rats of the last group (VIII), reserpine was added in a proportion of 1 μg /ml., and found to diminish the *in vitro* oxygen uptake of the four tissues.

PIŚMIENICTWO

1. *Brenk H. van den, Elliott K.*: Nature 1958, 182, 46—48, 1506—1507.
2. *Cerletti A.*: Helv. Med. Acta 1958, 25, 4, 330.
3. *Erspamer N.*: Arzneimittel-Forschung 1958, 8, 571.
4. *Keller H.*: 2 Vitamin-Hormon- u. Fermentforschung 1958, 9, 173.
5. *Laborit H., Niauxat P., Broussolle B., Juany J.*: La Presse Med. 1959, 23, 927.
6. *Laborit H., Broussolle B., Perimound-Trouchet R.*: J. de Phys. 1957, 49, 5, 953.
7. *Page I. H.*: Physiol. Rev. 1958, 38, 2, 277.
8. *Sargarello G.*: Boll. Soc. Ital. Biol. Sper. 1955, 31, 786.
9. *Shore P. A., Pletscher A., Tomich E., Carlson A., Kuntzman R., Brotie B.*: Arch. Nev. York Acad. Sc. 1957, 66, 609.
10. *Ulrich K. J.*: Ergebnisse der Physiologie 1959, 50, 433.
11. *Voigt K., Kiessling J.*: Z. Exper. Med. 1958, 130, 181.

Otrzymano: 3. 11. 1960.

Adres autorów: Pomorska Akad. Med. Zakład Fizjologii, Szczecin,
ul. Powstańców 72.