

JÓZEF STANOSEK

BADANIA NAD WPŁYWEM POŁA AKUSTYCZNEGO  
I ULTRAAKUSTYCZNEGO NA PROCESY BIOCHEMICZNE

V. WPŁYW NA AKTYWNOŚĆ TRANSAMINAZY GLUTAMINOWO-SZCZAWIOOCTOWEJ I TRANSAMINAZY GLUTAMINOWO-PIROGRONOWEJ ORAZ NA POZIOM ALANINY, KWASU ASPARAGINOWEGO I KWASU GLUTAMINOWEGO W SUROWICY KRWI ŚWINEK MORSKICH\*

Z Zakładu Chemii Fizjologicznej Śląskiej A. M. w Zabrze-Rokitnicy  
Kierownik: doc. dr S. Jóźkiewicz

Z pierwszych badań naszego ośrodka nad wpływem pola akustycznego i ultraakustycznego na procesy biochemiczne, wyłoniła się hipoteza o czasowym uszkodzeniu wątroby świnek morskich silnie nadźwiękawianych. Za taką możliwością przemawiały: hipoglikemia przy wzroście poziomu kwasu pirogronowego [8], spadek albumin przy zwyżce frakcji globuliny-owych [13], wreszcie znaczny wzrost aktywności aldolazy i transaminazy glutaminowo-szczawiooctowej [9] we krwi badanych zwierząt.

Wykonany przez nas z kolei test na aktywność cholinesteraz krwi świnek morskich nie potwierdził jednak tego przypuszczenia [12], co skierowało naszą uwagę na drugą możliwość, iż w ustroju silnie nadźwiękawianym, w którym stwierdziliśmy zaburzenia w przemianach węglowodanowych [8] i zwiększenie przemian lipidowych [13], dochodzi ponadto do zwiększenia transaminacji i glikoneogenezy. W takim razie należało przewidywać zwyżkę aktywności i drugiej transaminazy: glutaminowo-pirogronowej, a także zmian w poziomach niektórych aminokwasów, uczestniczących w transaminacjach.

Mając to na względzie postanowiłem w niniejszej pracy przebadać równocześnie aktywność transaminazy glutaminowo-szczawiooctowej (SGOT) i transaminazy glutaminowo-pirogronowej (SGPT), ponadto oznaczyć poziom alaniny, kwasu glutaminowego i kwasu asparaginowego.

\* Praca doktorska przedstawiona Radzie Wydziału Lekarskiego Śląskiej Akademii Medycznej w Zabrze-Rokitnicy w dniu 29 czerwca 1960. Promotor: doc. dr S. Jóźkiewicz.

## METODYKA

## A. Materiał zwierzęcy i nadźwiękawianie

Świnki morskie obojga płci i średniej wagi 500 g, u których nie stwierdzało się zmian patologicznych, hodowałem w klatkach po 10 sztuk. 3 miesiące przed rozpoczęciem doświadczeń zwierzęta przeniosłem do pomieszczenia, w którym miały przebywać w okresie doświadczeń. Warunki hodowli: światło, temperatura pomieszczenia, wilgotność powietrza oraz pasza — były komfortowe i nie zmieniały się podczas doświadczeń. Zwierzęta były dobierane tak, że 8 sztuk każdej klatki przeznaczono do doświadczeń, pozostałe zaś 2 sztuki każdej klatki przeznaczono dla kontroli. Świnki morskie kontrolne traktowano jak zwierzęta doświadczalne z tą jednak różnicą, że w czasie nadźwiękawiania zwierząt badanych były one przenoszone do innego pomieszczenia. Postępowanie takie miało stworzyć jednakowe warunki zarówno dla zwierząt badanych jak i kontrolnych, a przy oznaczaniu aktywności enzymów oraz aminokwasów w surowicy krwi usunąć błędy, mogące powstać w czasie poszczególnych oznaczeń. Oprócz tego kilka zwierząt kontrolnych hodowałem w osobnej klatce w tych samych warunkach. Sumę wszystkich zwierząt kontrolnych traktowałem jako grupę kontrolną.

Każda grupa świnek badanych otrzymała inną dawkę urazów. Podział grup, ilość ekspozycji oraz dawki dla poszczególnych grup przedstawia tab. 1.

Tabela 1. Podział zwierząt na grupy oraz ilość nadźwiękawiania  
Table 1. Groups of animals and time of exposures

Grupa (a)	I	II	III	IV	V	Kontrola (e)
Ilość świnek (b)	8	8	2 × 8	8	8	12
Ilość urazów po 30 minut (c)	10	20	30	30	30	
Przerwa pomiędzy urazami (d)	24 godz.	24 godz.	24 godz.	48 godz.	72 godz.	

Group (a); number of guinea pigs (b); number of 30 minutes' exposures (c); interval between exposures (d); control group (e).

Zwierzęta poddawałem działaniu pola akustycznego i ultraakustycznego generatora strumieniowego typu Hartmanna. Analiza pola (częstotliwość: 100 Hz do 50 000 Hz; natężenie: 160 (± 5) db), wytwarzanego przez generator tego typu, oraz technika nadźwiękawiania jest opisana poprzednio [8].

## B. Pobieranie prób

Zwierzęta poszczególnych grup otrzymały ostatni pokarm 18 godzin przed pobieraniem krwi. Materiał pobierałem u zwierząt będących na czczo, by uniknąć zmian w stężeniu składników, jakie pojawiają się po pewnym czasie po pobraniu pokarmu [11, 15, 18, 23, 24]. W dniu doświadczenia w klatkach nie było żadnego pożywienia.

Zwierzęta zabijałem w godzinach popołudniowych przez dekapitację. Narkozy nie stosowałem, gdyż taki zabieg prowadzi początkowo do pobudzenia zwierząt, może też doprowadzić do zmian w poziomie badanych składników.

Krew zbierałem przy pomocy lejków do dużych probówek wirowniczych i odstawałem do chłodni w celu zapobiegnięcia hemolizie. Po 3 godzinach wirowałem przy 2000 obr./min. przez 15 minut. Następnie oddzielałem surowicę przy pomocy pipet pasterowskich i wirowałem powtórnie w celu usunięcia pozostałych elementów morfotycznych. Tak uzyskany materiał służył mi do dalszych oznaczeń. Część surowicy, potrzebnej do oznaczania aminokwasów przerobiłem natychmiast, pozostałość zaś, przeznaczoną dla pomiarów aktywności transaminaz, odstawiłem na noc do lodówki.

### C. Metodyka badań

a) *Chromatografia aminokwasów*: 1 ml surowicy każdej świnki odbiałczałem metodą *Avapary*. Po dokładnym wymieszaniu odstawałem na 10 minut, po czym wirowałem przez 10 minut przy 2000 obr./min., 2,5 ml klarownego płynu z nad osadu wymieszałem z 3-krotną ilością chloroformu, a zakorkowane probówki odstawałem na noc w celu dokładnego rozdzielania warstw. Z dalszego odsalania górnej warstwy, do której przechodzą wszystkie aminokwasy, zrezygnowałem ze względu na straty niektórych aminokwasów [22]. Z 0,5 ml tej warstwy nakładałem 0,27 ml (= 0,337 ml nie odbiałczonej surowicy) na uprzednio buforowaną bibułę Whatman Nr 1 w postaci paska długości 2,5 cm. Bibułę buforowałem buforem fosforanowym o pH 12, po czym suszyłem. Na pół arkusza bibuły nakładałem 3 surowice świnek badanych, jedną próbę surowicy świnki kontrolnej oraz dwa roztwory wzorcowe badanych aminokwasów o różnym stężeniu. Odstępy pomiędzy paskami poszczególnych próbek wynosiły 1,5 cm. Dalsze etapy analizy przeprowadzałem ściśle według *Fischera* i *Dörfla*. Metoda ta według *Opieńskiej-Blauth* daje najlepsze wyniki. Jako fazy rozdzielającej używałem układu fenol—bufor fosforanowy o pH 12. Przed wprowadzeniem układu rozdzielającego do wanienek nasycałem komorę przez 24 godziny parami buforu fosforanowego, po wprowadzeniu zaś płynu — dodatkowo gazem świetlnym, który zapobiega utlenianiu fenolu. Rozdział prowadziłem przez 20 godzin. Utrwalone solami miedzi aminokwasy eluowałem alkoholem metylowym, a natężenie barw poszczególnych aminokwasów mierzyłem przy pomocy fotometru Pulfricha w półmikrokuwetach o grubości warstwy 2 cm dla alaniny i 5 cm dla kwasu glutaminowego. Ekstynkcje dla kwasu asparaginowego przy użyciu kuwet o grubości warstwy 5 cm były bardzo niskie i nie dochodziły do wartości 0,1. Pomiarów dokonywałem przy użyciu filtra S<sub>50</sub>. Stężenie ostateczne dla alaniny i kwasu glutaminowego obliczałem na podstawie krzywych wzorcowych, wykonanych w sposób identyczny z różnymi stężeniami czystych aminokwasów. Ze względu na niskie wartości uzyskanych ekstynkcji dla kwasu asparaginowego zrezygnowałem z wykonania krzywej oraz dalszych obliczeń.

b) *Oznaczanie aktywności transaminaz*: Aktywność transaminazy glutaminowo-szczawiooctowej (GOT) i transaminazy glutaminowo-pirogronowej (GPT) oznaczałem metodą *Reitmanna* i *Frankla* w surowicy przechowywanej przez 12—14 godzin w lodówce. Pomiarów ekstynkcji dokonałem przy pomocy fotometru Pulfricha w kuwetach 2 cm i przy użyciu filtra S<sub>53</sub>.

Stwierdziłem, że dostępny kwas pirogronowy oraz dostępne preparaty pirogronianu sodu różnych firm posiadają różne stopnie czystości, dając w ostateczności krzywe wzorcowe o różnym kącie nachylenia. Dlatego też zrezygnowałem z krzywej stan-

dartowej. Do ostatecznego obliczenia dobrałem współczynnik, który w tych warunkach pomnożony przez ekstynkcję daje wyniki przybliżone do wartości SGOT i SGPT według Karmena. Współczynnik ten w wyżej opisanych warunkach wynosi 200.

Obliczenie: Ekstynkcja dla SGOT  $\times$  200 = aktywność SGOT w jednostkach Karmena. Ekstynkcja dla SGPT  $\times$  200 = aktywność SGPT w jednostkach Karmena

### WYNIKI

Aktywność transaminaz, średnie wartości arytmetyczne, wartości Fm oraz test na znamienność statystyczną dla zwierząt nadźwiękawianych i kontrolnych podałem w tab. 2 i 3.

*Tabela 2.* Aktywność transaminazy glutaminowo-szczawiooctowej (SGOT) u zwierząt nadźwiękawianych i kontrolnych.

*Table 2.* The SGOT activity in exposed and control animals.

Grupa (a)	I	II	III	IV	V	Kontrola (g)
Ilość urazów (b)	10	20	30	30	30	
Przerwa pomiędzy urazami (c)	24 godz.	24 godz.	24 godz.	48 godz.	72 godz.	
Średnia arytmetyczna (d)	81	86,5	105,5	74	63,88	62,5
Fm (e)	$\pm 4,58$	$\pm 4,35$	$\pm 2,21$	$\pm 5,35$	$\pm 3,75$	$\pm 2,62$
Test znamienności (f)	—	+	+	—	—	

Group (a); number of exposures (b); interval between exposures (c); mean value (d); standard error (e); significance test (f); control group (g).

*Tabela 3.* Aktywność transaminazy glutaminowo-pirogronowej (SGPT) u zwierząt nadźwiękawianych i kontrolnych.

*Table 3.* The SGPT activity in exposed and control animals.

Grupa (a)	I	II	III	IV	V	Kontrola (g)
Ilość urazów (b)	10	20	30	30	30	
Przerwa pomiędzy urazami (c)	24 godz.	24 godz.	24 godz.	48 godz.	72 godz.	
Średnia arytmetyczna (d)	51,5	69	89,6	52	39,25	43,66
Fm (e)	$\pm 2,83$	$\pm 4,55$	$\pm 2,16$	$\pm 2,44$	$\pm 1,2$	$\pm 2,85$
Test znamienności (f)	—	+	+	—	—	

Determinations like in table 2.

Stężenie aminokwasów w mikrogramach/ml surowicy, średnie wartości arytmetyczne, wartości Fm oraz test na znamienność statystyczną przedstawiłem w tab. 4 i 5.

Obliczenia statystyczne wykonałem na podstawie wzorów podanych przez *Mozołowskiego*.

*Tabela 4.* Poziom alaniny w mikrogramach/ml surowicy u zwierząt nadźwiękawianych i kontrolnych.

*Table 4.* Concentration of alanin in micrograms per 1 ml serum of exposed and control animals.

Grupa (a)	II	III	IV	V	Kontrola (g)
Ilość urazów (b)	20	30	30	30	
Przerwa pomiędzy urazami (c)	24 godz.	24 godz.	48 godz.	72 godz.	
Średnia arytmetyczna (d)	32,3	36,24	30,63	24,86	25,99
Fm (e)	±1,69	±1,04	±2,17	±0,82	±0,82
Test znamienności (f)	—	+	—	—	

Determinations like in table 2.

*Tabela 5.* Poziom kwasu glutaminowego w mikrogramach/ml surowicy u zwierząt nadźwiękawianych i kontrolnych.

*Table 5.* Concentration of glutamic acid in micrograms per 1 ml serum of exposed and control animals.

Grupa (a)	II	III	IV	V	Kontrola (g)
Ilość urazów (b)	20	30	30	30	
Przerwa pomiędzy urazami (c)	24 godz.	24 godz.	48 godz.	72 godz.	
Średnia arytmetyczna (d)	6,0	7,12	5,96	5,3	5,12
Fm (e)	±0,212	±0,236	±0,215	±0,158	±0,126
Test znamienności (f)	—	+	—	—	

Determination like in table 2.

#### OMÓWIENIE WYNIKÓW

Jak wynika z tab. 2—5 pole akustyczne i ultraakustyczne generatora Hartmanna prowadzi do zmian biochemicznych, charakteryzujących się wzrostem aktywności transaminazy glutaminowo-szczawiooctowej (SGOT)

i transaminazy glutaminowo-pirogronowej (SGPT), a także zwyżką poziomom alaniny i kwasu glutaminowego.

Wydaje się, że wartości kwasu asparaginowego nie ulegają zmianom. Ze względu na niskie wartości uzyskanych ekstynkcji w wyżej opisanych warunkach doświadczenia zrezygnowałem z ostatecznych obliczeń, dla uniknięcia zasadniczych błędów.

Z doświadczeń moich wynika, że zmiany aktywności transaminaz oraz wzrost poziomu aminokwasów zależą od ilości urazów akustycznych i przerw pomiędzy poszczególnymi urazami. Zwierzęta grupy I, II i III (tab. 1) poddawałem wzrastającym dawkom urazów akustycznych i ultraakustycznych generatora Hartmanna przez 30 minut dziennie. Okazuje się, że zaobserwowane zmiany są zależne od ilości urazów akustycznych i ultraakustycznych. 10 urazów prowadzi już do zmian wspomnianych składników. Uzyskane wartości nie są jednak jeszcze statystycznie znamienne. Dopiero 30 urazów prowadzi do statystycznie znamiennej zwyżki przebadanych enzymów i aminokwasów. Wydaje się, iż to stwierdzenie ma swoje głębsze znaczenie.

Według *Kwieka* uraz akustyczny i ultraakustyczny ulega po pewnym czasie wygasaniu. W konsekwencji — jeżeli przerwa pomiędzy poszczególnymi urazami będzie dostatecznie długa, to każdy następny uraz może działać na ustrój jak uraz pierwotny. Natomiast skrócenie czasu pomiędzy poszczególnymi dawkami może według poglądów *Kwieka* prowadzić do kumulacji, co w ostateczności wywołuje poważne zaburzenia.

Zaobserwowany przeze mnie wzrost zmian biochemicznych w surowicy krwi zwierząt grupy I, II i III dałby się wytłumaczyć kumulacją urazów. Przerwa 24-godzinna pomiędzy poszczególnymi urazami nie jest dostatecznie długa, by doszło do wygasania objawów wywołanych przez jednorazowe nadźwiękowanie.

Zwierzęta grupy IV i V otrzymały taką samą ilość urazów jak zwierzęta grupy III. Różnica polegała jedynie na długości przerwy pomiędzy poszczególnymi urazami. Zwierzęta grupy IV nadźwiękowałem 30 razy co drugi dzień w ciągu dwóch miesięcy, zwierzęta zaś grupy V co trzeci dzień przez trzy miesiące. Wartości poszczególnych składników uzyskanych dla tych zwierząt wskazują na to, że zmiany są minimalne. Wydaje się, iż przerwa trzy, a nawet dwudniowa pomiędzy urazami wystarcza, by nie dopuścić do wystąpienia zaburzeń biochemicznych. Jest to pierwszy wniosek z niniejszych doświadczeń.

Zaobserwowaną przeze mnie zwyżkę aktywności obu transaminaz można zrazu by uznać za objaw schorzeń wątroby [6, 26, 27]. Nie sposób jednak pominąć obserwacji i tych autorów, którzy stwierdzili, iż przy uszkodzeniu mięszu wątrobowego dochodzi do silniejszego wzrostu aktywności transaminazy SGPT w porównaniu ze zwyżką aktywności trans-

aminazy SGOT [1, 4, 25]. W konsekwencji prowadzi to do zmniejszenia ilorazu SGOT/SGPT do wartości poniżej jedności.

Porównując wyniki zmian aktywności transaminaz w moich doświadczeniach takiego zmniejszenia ilorazu nie stwierdzam (tab. 6). Równomierny wzrost aktywności enzymów transaminujących, w łączności z wspomnianym uprzednio stwierdzeniem braku zmian w poziomie cholinesteraz krwi [12], przemawiają ostatecznie przeciwko hipotezie o czasowym uszkodzeniu wątroby świnek morskich pod wpływem silnych urazów akustycznych i ultraakustycznych. Jest to drugi wniosek z niniejszych doświadczeń.

Tabela 6. Iloraz SGOT/SGPT u zwierząt nadźwiękawianych i kontrolnych.

Table 6. SGOT/SGPT Quotient in exposed and control animals

Grupa (a)	I	II	III	IV	V	Kontrola (g)
Ilość urazów (b)	10	20	30	30	30	
Przerwa pomiędzy urazami (c)	24 godz.	24 godz.	24 godz.	48 godz.	72 godz.	
SGOT	81,0	86,5	105,5	74,0	63,88	62,5
SGPT	51,5	69,0	89,6	52,0	39,25	43,65
SGOT/SGPT	1,57	1,24	1,17	1,42	1,62	1,43

Determination like in table 2.

Wybiórcze uszkodzenie mięśnia sercowego, jakie mogło by zaistnieć przez bezpośrednie oddziaływanie ultradźwięków na mięsień sercowy należy także wykluczyć. W takim wypadku bowiem nie doszłoby do tak wyraźnego podwyższenia poziomu transaminazy SGPT w surowicy krwi zwierząt nadźwiękawianych [1, 2, 17]. Z tych względów jestem raczej skłonny uznać zaobserwowany wzrost aktywności transaminaz (tab. 2 i 3) za wyraz zwiększonych transaminacji ustrojowych, a także — przy stwierdzonych zaburzeniach w przemianach węglowodanowych [8] za objaw zwiększonej glikoneogenezy [7]. Nasuwa się tym samym częściowa odpowiedź na wyłaniające się zagadnienie, jak w ustroju zwierząt silnie nadźwiękawianych przebiegają, niewątpliwie upośledzone, spalania w cyklu cytrynianowym.

Sprawne funkcjonowanie normalnych obrotów cyklu cytrynianowego jest uzależnione od stałego poziomu kwasów C<sub>4</sub>-dwukarboksylowych. Kwasami tymi są: jabłkowy, fumarowy, bursztynowy i  $\alpha$ -ketoglutaryny. Niedobór tych związków, spowodowany ich ucieczką z cyklu do innych

reakcji ustrojowych poza cyklem, jest uzupełniany w warunkach prawidłowych szczególnymi reakcjami, których mechanizm jest nam dziś w dużej mierze znany. Mowa tu o regeneracji kwasu szczawiooctowego bezpośrednio przez karboksylację kwasu pirogronowego, lub z tego ostatniego na drodze pośredniej przez karboksylację reduktywną w obecności enzymu jabłkowego. Następnie — regeneracja kwasu szczawiooctowego przez transaminację z kwasem asparaginowym, kwasu  $\alpha$ -ketoglutazarowego przez transaminację z kwasem glutaminowym i kwasu fumarowego w odwracalnej dezaminacji z kwasu asparaginowego. Przytoczone mechanizmy stwarzają ponadto możliwości usuwania nadmiaru kwasów  $C_4$ -dwukarboksylowych z cyklu cytrynianowego.

W warunkach szkodliwych wpływów urazów akustycznych i ultraakustycznych na świnki morskie, przy hipoglikemii i zwyżce kwasu pirogronowego, nasuwających się stąd blokach metabolicznych w pewnych ogniwach cyklu cytrynianowego, wreszcie przy zwiększonych przemianach tłuszczowych, wspomniane procesy regulacji poziomów kwasów  $C_4$ -dwukarboksylowych muszą odgrywać znaczniejszą rolę.

Wydaje mi się, że uzyskane przeze mnie wartości poziomów alaniny i kwasu glutaminowego (tab. 4 i 5) w łączności z obserwacjami *Grzesika* [10] o zwyżce kwasu  $\alpha$ -ketoglutazarowego przy zachowanym poziomie kwasu szczawiooctowego i cytrynowego — są właśnie odzwierciedleniem zwiększonych transaminacji i dezaminacji w ustroju silnie nadźwiekawianym, jako wyraz mechanizmów obronnych w warunkach szkodliwych wpływów pola akustycznego i ultraakustycznego.

Z teoretycznego punktu widzenia kwas pirogronowy w nadmiarze, nie wchodząc u zwierząt nadźwiekawianych bezpośrednio na tory cyklu cytrynianowego, może być usuwany (poza przejściem na kwas mlekowy) również przez pośrednie wejście w cykl kwasów trójkarboksylowych, co tak czy inaczej powinno się zaznaczyć zwyżką poziomu kwasu szczawiooctowego i kwasu cytrynowego. Jeżeli w takich warunkach poziom tych ostatnich związków jest — jak stwierdzono [10] — nadal utrzymany, to wyjaśniam ten fakt zwiększeniem reakcji transaminacji, co usprawiedliwia zwyżkę aktywności transaminaz i poziomu alaniny, kwasu glutaminowego i kwasu  $\alpha$ -ketoglutazarowego [10].

Zaobserwowany przeze mnie wzrost alaniny i kwasu glutaminowego potwierdza ponadto ponownie uprzednio stwierdzone zwiększenie przemian tłuszczowych [13], stoi też w zgodzie z doniesieniem *Wissa* i *Kruegera* o dużej zwyżce alaniny i kwasu glutaminowego u zwierząt, znajdujących się na diecie bogato tłuszczowej.



Ю. Станосек

ИССЛЕДОВАНИЯ ВЛИЯНИЯ АКУСТИЧЕСКОГО И УЛЬТРААКУСТИЧЕСКОГО ПОЛЯ  
НА БИОХИМИЧЕСКИЕ ПРОЦЕССЫ

V. Влияние на активность глутаминово-шавелевоуксусной трансаминазы и глутаминово-пировиноградной трансаминазы, уровень аланина, аспарагиновой кислоты и глутаминовой кислоты в сыворотке крови морских свинок

*Содержание*

Морские свинки подвергались действию сильных акустических и ультразвуковых воздействий. После этого обнаружено повышение активности глутаминово-шавелевоуксусной и глутаминово-пировиноградной трансаминазы, повышение уровня аланина и глутаминовой кислоты. (Не обнаружено статистически характерных изменений в уровне аспарагиновой кислоты).

Эти данные обращают внимание на повышение процессов трансаминирования и гликонеогенеза у наблюдаемых животных. Не подтверждают они прежней гипотезы о временной дисфункции печени под влиянием ультразвуковой энергии.

Показано, что длительные перерывы в применении акустических или ультразвуковых ударов не вызывают больших изменений обозначаемых веществ в сыворотке крови морских свинок.

J. Stanosek

INVESTIGATIONS ON THE INFLUENCE OF ACOUSTIC AND ULTRAACOUSTIC  
FIELD ON BIOCHEMICAL CHANGES

V. The influence on the activity of SGOT and SGPT, the level of alanin, glutamic and aspartic acid in serum of guinea pigs

*Summary*

An increase in the guinea pigs' SGOT and SGPT activity after an exposure to strong acoustic and ultraacoustic stimuli has been observed. These changes do not allow to accept the hypothesis of a temporary livers' disfunction under the influence of the applied energy, but draw the attention to the increase of transamination and glyconeogenetic processes in the animals. Also the increase of the alanin and glutamic acid levels could lead to the same assumption.

No statistically significant changes in the level of aspartic acid have been found. It has been demonstrated that longer periods between single acoustic and ultrasonic stimuli do not lead to rapid changes in the level of the examined constituents of the blood.

## PIŚMIENNICTWO

1. *Abderhalden R.*: Klinische Enzymologie, G. Thieme, Stuttgart 1958.
2. *Amelung D., Horn H. D.*: Deutsch. Med. Wschr., 1956, 81, 1701.
3. *Avapara J.*: Arch. Bioch. Bioph., 1948, 19, 172.

4. De Ritis F., Coltorigi M., Giusti G.: Clin. Chim. Acta. 1957, 2, 70.
5. Fischer F. G., Doerfel H.: Biochem. Z., 1953, 324, 544.
6. Franken F. H.: Klin. Wschr., 1957, 35, 1203.
7. Gavosto F., Pileri A., Brusko A.: Biochim. et Biophys. Acta. 1957, 24, 250.
8. Grzesik J., Jóźkiewicz S., Puchalik M., Stanosek J.: Acta Physiol. Polon., 1960, 11, 2, 223.
9. Grzesik J., Jóźkiewicz S., Puchalik M., Stanosek J.: Acta Physiol. Polon. 1961, 12, 129.
10. Grzesik J.: Acta Physiol. Polon. (w druku).
11. Hatz F.: Helv. Chim. Acta, 1949, 32, 251.
12. Jóźkiewicz S., Krause M.: Acta Physiol. Polon., 1961, 12, 193.
13. Jóźkiewicz S., Stanosek J., Puchalik M., Grzesik J.: Acta Physiol. Polon., 1960, XI, 2, 231.
14. Karmen A.: J. Clin. Invest., 1955, 34, 131.
15. Krueger R., Wiss O.: Helv. Chim. Acta, 1949, 32, 1341.
16. Kwiek M.: Zagadnienie poziomu dawki przy nadzwyczajaniu, VI Otwarte Seminarium z Akustyki, 1959, Zabrze-Rokitnica (w druku).
17. La Due J. S., Wróblewski R.: Science, 1954, 120, 497.
18. Longenecker J. B., Hause N. L.: Arch. Bioch. Bioph., 1959, 84, 46.
19. Mozołowski W.: Postępy Biochemii, 1954, 2, 8.
20. Opieńska-Blauth J.: Chromatografia, P. W. N. Warszawa, 1957.
21. Reitman S., Frankel S.: Am. J. Clin. Path., 1957, 28, 56.
22. Stein W. S., Moore S.: J. Biol. Chem., 1948, 176, 377.
23. Wiss O., Hatz F.: Helv. Chim. Acta, 1949, 32, 533.
24. Wiss O., Krueger R.: Helv. Chim. Acta, 1949, 32, 527.
25. Wróblewski F.: The Clinical Significance of Alteration in Transaminase Activities of Serum and other Body Fluids, Advances in Clinical Chemistry, Edited by Harry Sobotka, C. P. Steward, Vol. I, New York and London 1958, 314.
26. Wróblewski F., La Due J.: J. Lab. Clin. Med., 1954, 44, 958.
27. Wróblewski F., La Due J.: Ann. Int. Med., 1956, 45, 801.

Otrzymano: 3. 11. 1960.

Adres autora: Zakład Chemii Fizjologicznej Śląskiej A. M. Zabrze-Rokitnica, ul. K. Marksa 19.