

M. KRAUSE

WPŁYW WILGOTNEGO GORĄCA NA ZAWARTOŚĆ ACETYLOCHOLINY (ACh) W PÓLKULACH MÓZGOWYCH MYSZY

Z Instytutu Medycyny Pracy w Przemysle Węglowym i Hutniczym
w Zabrzcu-Rokitnicy

Dyrektor: prof. dr B. Nowakowski

Liczne fakty doświadczalne wskazują na to, że w układzie nerwowym elementami najbardziej wrażliwymi na działanie rozmaitych czynników są synapsy. Jeśli np. przez dłuższy czas drażnić pośrednio preparat nerwowo-mięśniowy, to w pewnym momencie mięsień przestanie się kurczyć. Preparat wykazuje objawy zmęczenia. Ten stan preparatu jest wynikiem zmęczenia synapsy, gdyż zarówno nerw jak i mięsień, drażnione bezpośrednio, wykazują normalną czynność. W pierwszym wskazują na nią niezmiennione prądy czynnościowe, w drugim normalne skurcze. Odprowadzając mikroelektrodą w czasie drażnienia nerwu ruchowego potencjały płytki końcowej, można się przekonać, że potencjały te zmniejszają się w miarę drażnienia, co wskazywałoby na wyczerpywanie się przekaźnika we włóknach nerwowych (22). Na wyczerpywanie się przekaźnika w drażnionych włóknach nerwowych wskazuje również obniżenie się jego zawartości po drażnieniu (20). Podobnie badania nad odruchami proprioreceptywnymi pokazały, że różne substancje chemiczne, np. barbiturowce, działając w obrębie OUN* na wszystkie elementy łuku odruchowego, szczególnie silnie atakują synapsę. To samo dotyczy anoksji i asfiksji (anoksja plus hiperkapnia) (2). Z dalszych dowodów na dużą wrażliwość synaps można przytoczyć fakt, że pojedynczy ortodromowy impuls może wywołać zmniejszenie reakcji odruchowej (monosynaptycznej) trwające do 3 sekund. Jest to zbyt długi okres czasu, aby mógł być wytłumaczony okresem refrakcyjnym lub fazą subnormalną błony zasynaptycznej, tym bardziej że heterosynaptyczne pobudzenie tych samych neuronów ruchowych nie wykazuje zmniejszenia reakcji odruchowej (10). Ponieważ samo włókno nerwowe jest bardzo odporne na zmęczenie, dlatego przyczyny zmniejszenia reakcji odruchowej należy doszukiwać się w zakończeniu nerwowym, a więc w synapsie.

Duża wrażliwość synaps na zaburzenia homeostazy jest zrozumiała, jeśli weźmie się pod uwagę złożoność zjawisk zachodzących w synapsach w czasie przenoszenia impulsu. Impuls doszedłszy do zakończenia nerwowego powoduje jednoczesne wydzielenie przekaźnika z kilkudziesięciu czynnych punktów błony przedsynaptycznej zakończenia nerwowego lub guziczek końcowych. W zależności od rodzaju przekaźnika wywołuje on

* OUN = Ośrodkowy Układ Nerwowy.

depolaryzację lub hiperpolaryzację błony zasynaptycznej. Po spełnieniu swej roli przekaźnik musi ulec unieczynnieniu, tak aby błona zasynaptyczna mogła wrócić do stanu, w jakim znajdowała się poprzednio. Powrót błony do stanu sprzed pobudzenia jest nieodzownym warunkiem prawidłowej reakcji błony na następną porcję przekaźnika. Inaktywacją przekaźnika zajmuje się specjalny enzym, zlokalizowany w synapsie.

Przyczyną zaburzenia procesu przenoszenia może być: niedośćateczne wytwarzanie przekaźnika, zakłócenie prawidłowego wydzielania przekaźnika z czynnych punktów błony przedsynaptycznej, zablokowanie substancji recepcyjnej lub wadliwe działanie enzymu rozkładającego przekaźnik.

Jednym z najlepiej poznanych przekaźników w układzie nerwowym jest acetylocholina. Jest ona przekaźnikiem wytwarzanym (20, 36) w neuronach, które Dale (6) nazwał cholinergicznymi. Jakże istnieją dowody na to, że w mózgowiu występują neurony cholinergiczne i że wyzwalana z nich ACh bierze udział w przenoszeniu synaptycznym? Dowodów bezpośrednich, takich jakich dostarczyli odnośnie udziału ACh w przenoszeniu przez synapsę nerwowo-mięśniową Del Castillo i Katz (7), wstrzykując mikropipetą w okolice płytki końcowej roztwór ACh i uzyskując w ten sposób normalne potencjały płytki końcowej, do tej pory nie posiadamy. Istnieje jednak wiele dowodów pośrednich, które w sumie przemawiają za udziałem ACh w przenoszeniu synaptycznym w OUN.

Sam fakt występowania ACh w mózgowiu, jakkolwiek przemawia za istnieniem tam neuronów cholinergicznymi, nie stanowi jeszcze żadnego dowodu, gdyż ACh zawierają również takie narządy, w których brak jest zupełnie komórek nerwowych, np. łożysko (4). Acetylocholina mogłaby w mózgowiu znajdować się w komórkach glejowych. Inne fakty wskazują jednak na to, że ACh w mózgowiu jest związana z czynnością neuronów. Są to m. i. następujące fakty:

1. Acetylocholina podana na okolicę ruchową kory mózgowej zwierząt, którym do krwi wprowadzono ezerinę, pobudza neurony tej okolicy kory. W rezultacie dochodzi do ruchów kończyn po przeciwnej stronie ciała (27). Podobnie wprowadzenie ACh na dno IV komory i podrażnienie nią w tej okolicy jądra nerwu podjęzykowego wywołuje odruch połykania i ruchy języka (28).

2. Acetylocholina wprowadzona w okolice *nucleus supraopticus* hamuje diurezę. ACh działa w tym wypadku podobnie jak drażnienie włókien nerwowych w lejku przysadki (8, 29). Te doświadczenia wskazywałyby na to, że neurony kończące się na neuronach *nucl. supraopticus* są neuronami cholinergicznymi.

3. Acetylocholinę można otrzymać metodą wiwidyfuzji kory mózgowej kota (25). Stężenie ACh w płynie z kory jest z grubsza proporcjonalne od aktywności elektrycznej odcinków kory, z której płyn pochodzi.

4. Elektryczne drażnienie skrawków kory mózgowej powoduje przechodzenie do płynu, w którym umieszczono skrawki, ACh w ilości $0,056 \mu\text{g g}^{-1}$ świeżej wagi mózgowia min.^{-1} . Ilość wydzielonej ACh jest o 40% większa niż w kontrolnych nie drażnionych skrawkach (30).

5. Jeżeli drażni się korę mózgowia, np. w okolicy wzrokowej, wówczas można w symetrycznym punkcie drugiej półkuli odprowadzać potencjały synaptyczne. Impuls przechodzi przez włókna spoidłowe. Dojście impulsu do zakończeń nerwowych drugiej półkuli objawia się elektrododatnością kory mózgowej w tym punkcie. Gdy impuls zostanie przeniesiony na neu-

rony zasynaptyczne, kora mózgowa staje się w tym miejscu elektryczna. W ten sposób można elektrofizjologicznie prześledzić przybycie impulsu i przeniesienie go przez synapsę. Wprowadzenie do tętnicy szyjnej wewnętrznej ACh w stężeniu $1 \mu\text{g kg}^{-1}$ wagi ciała powoduje przy bodźcu subnormalnym wyraźne wzmoczenie elektryczności, świadczące o pobudzeniu większej liczby neuronów zasynaptycznych. Podwojenie dawki ACh zmniejsza reakcję synaptyczną (26). Synapsy kory mózgowej zachowują się w tym przypadku tak samo jak synapsy nerwowo-mięśniowe.

6. Wprowadzenie do tętnicy szyjnej ACh w dawce 0,1—1,0 g powoduje desynchronizację EEG, taką samą jaką uzyskuje się po zastosowaniu bodźca akustycznego (23).

Ze względu na dużą wrażliwość synaps na różne czynniki, należało się spodziewać, że zaburzenia homeostazy wywołane przez działanie wilgotnego gorąca na organizm zwierzęcy odbiją się w jakiś sposób na synapsach w OUN. Obserwacje na ludziach, przebywających w spoczynku w wilgotnym gorącu, wskazują na wyraźne zmiany w zachowaniu się tych ludzi (9). Na zaburzenia w OUN wskazują również badania nad wpływem gorąca na wyższe czynności nerwowe (21). Ponieważ odporność OUN na działanie gorąca zależy od najbardziej wrażliwych na gorąco elementów OUN, dlatego rozpoczęto badania, których celem było wykrycie właśnie tych struktur. Inaczej mówiąc, chodziło o znalezienie histofizjologicznego podłoża zaburzeń czynności OUN wywołanych przez gorąco.

Biorąc pod uwagę wszystkie zastrzeżenia, jakie nasuwają się przy przenoszeniu wyników uzyskanych na niższych zwierzętach na ludzi, zdecydowano się na przebadanie zaburzeń wywoływanych przez działanie gorąca na ustrój na półkulach mózgowych myszy. W pierwszym etapie rozpoczęto badania nad zachowaniem się układu neuronów cholinergicznym półkul mózgowych myszy wystawionych na działanie gorąca. Ze względu na stosunkowo duży współczynnik temperatury dla opóźnienia synaptycznego ($Q_{10} = 2,37$) (31) oczekiwano, że wskutek wzrostu temperatury ciała ACh łatwiej będzie uwalniana z zakończeń nerwowych. Jeśli by synteza ACh nie wzrastała w odpowiednim stopniu, wówczas zawartość ACh w neuronie musiałaby się zmniejszyć. Zmniejszenie się zawartości ACh w neuronach cholinergicznym było wynikiem, którego się spodziewano. Gdyby doświadczenia potwierdziły przypuszczenie, wówczas można by nie tylko wyjaśnić zaburzenia w OUN pod wpływem gorąca, ale otrzymano by fizjologiczny sposób obniżania zawartości ACh w neuronach cholinergicznym mózgowia. Znalezienie takiego sposobu byłoby korzystne, gdyż zwierzętom o obniżonej zawartości ACh w mózgowiu można by podawać różne substancje, o których wiadomo, że biorą udział w syntezie ACh *in vitro* i badać ich wpływ na syntezę ACh w mózgowiu *in vivo*.

Przebieg syntezy ACh *in vitro* został już dosyć dobrze poznany (15). Jednakże wiadomo, że wpływ różnych substancji na syntezę ACh jest inny *in vivo*, a inny *in vitro*. Np. glukoza hamuje w pewnych stężeniach *in vitro* syntezę ACh (13), natomiast *in vivo* glukoza w szerokim zakresie stężeń (0,05—0,55%) nie ma wpływu ani na potencjały płytki końcowej, ani na okres odpoczynku po drażnieniu tężcowym (18). Możliwości wybiórczego wzmoczenia resyntezy ACh w neuronach cholinergicznym mózgowia wydają się realne, zważywszy że znane są substancje, które przyspieszają tę resyntezę. Do takich substancji należą np. glukozydy naparstnicy, których ujemne działanie chronotropowe na serce ma polegać na wzmaganiu syntezy ACh w zazwojowych neuronach parasympatycznych serca (32).

Glukozydy naparstnicy wzmagają również syntezę ACh w mózgowiu świnki morskiej *in vitro* (33). Jest rzeczą bardzo prawdopodobną, że znalazłyby się inne substancje (np. hormony sterydowe) mniej szkodliwe dla ustroju, którymi można by selektywnie wzmacniać syntezę ACh, i jeśli zaburzenia w OUN pod wpływem gorąca są związane z wyczerpaniem się ACh w neuronach cholinergicznym mózgowia, zapobiegać względnie usuwać tego rodzaju zaburzenia.

METODYKA

Doświadczenia wykonywano na białych myszkach różnej płci i wieku. Myszkę zabijano parami chloroformu, po czym natychmiast wyjmowano półkule mózgowe. Po odcięciu pnia mózgu, przecinano mózgowie żyłką w płaszczyźnie strzałkowo-środkowej na dwie równe części. Po szybkim zważeniu oddzielnie każdej półkuli sporządzano z niej wyciąg. Wyciągi sporządzano wg metody podanej przez *Feldberga* (12) zmodyfikowanej przez autora. Półkule rozcierano pałeczką szklaną w parownicze, w której znajdowało się: 1 ml płynu Ringera dla żab (bez NaHCO_3), 0,5 ml 0,2 N HCl oraz 0,06 mg salicylanu fizostygminy. Czas od momentu zabicia zwierzęcia do chwili umieszczenia mózgowia w HCl nie przekraczał 2 minut. Po roztarciu mózgowia wlewano zawartość parowniczkę do płaskodennej probówki o średnicy 1 cm i gotowano przez 2 min. Po ochłodzeniu wstawiano probówkę na 24 godz. do lodówki. Na drugi dzień przesączało zawartość probówki, po czym zobojętniano wyciąg 0,5 ml 0,2 N NaOH i uzupełniano płynem Ringera dla żab (bez NaHCO_3), początkowo do 4, a później do 5 ml. Stwierdzono, że objętość wyciągu wynosząca 5 ml jest najodpowiedniejsza dla mózgowia myszy, ważącego przeciętnie 130 mg, ponieważ zapewnia ona optymalne stężenie ACh (10^{-8} — 10^{-7} gml $^{-1}$) dla mięśnia prostego brzucha żaby. Obojętność odczynu sprawdzano papierkiem indykatorowym. Stężenie ACh w wyciągach oznaczano metodą Changa i Gadduma na mięśniu prostym żaby (3). Przed użyciem żaby wstawiano na 24 godz. do lodówki. Zabieg ten zwiększa wrażliwość mięśnia prostego żaby na ACh (24). Stosowano mięśnie żab wodnych (*Rana esculenta*) i żab płowych (*Rana temporaria*). Mięsień prosty brzucha żaby, po starannym wypreparowaniu, umocowywano w aparaturze, tak że jeden jego koniec przymocowany był do haczykowato wygiętego końca szklanej rurki, drugi do miografu. Skurcze mięśnia zapisywano na nieruchomym walcu. Przez rurkę szklaną przepuszczano stale O_2 (1 banieczkę sek $^{-1}$). Przed rozpoczęciem oznaczania ACh mięsień zanurzano na 30 min. do płynu Ringera dla żab zawierającego fizostygminę w stęż. 10^{-5} . Technika i kolejność zapisywania skurczu mięśnia w celu oznaczania stężenia ACh w wyciągach z półkul mózgowych była następująca:

1. Zanurzenie mięśnia do roztworu wzorcowego ACh 10^{-7} lub 10^{-8} (w celu stwierdzenia czułości preparatu).

2. Zanurzenie w wyciągu z półkuli mózgowej.

3. Zanurzenie mięśnia w roztworze ACh o znanym stężeniu, zbliżonym do stężenia ACh w wyciągu z półkuli mózgowej. Z uwagi na to, że wielkość skurczu mięśnia nie jest proporcjonalna do stężenia ACh, trzeba zabieg powtarzać tak długo, aż natrafia się na stężenie ACh, dające skurcz jak najbardziej zbliżony do skurczu po zanurzeniu mięśnia w wyciągu z półkuli mózgowej.

4. Zanurzenie w roztworze wzorcowym jak w punkcie 1. Jednakowa wysokość skurczu mięśnia pod wpływem ACh o tym samym stężeniu na początku i na końcu doświadczenia pozwala przyjąć, że wrażliwość mięśnia na ACh nie uległa w toku doświadczenia zmianie i że stężenie ACh w badanych wyciągach i odpowiednich roztworach wzorcowych są prawie jednakowe.

Mięsień zanurzano za każdym razem na 2 minuty. Przerwy między poszczególnymi zanurzeniami wynosiły 30 min. (15 min. w świeżym za każdym razem płynie Ringera i 15 min. w płynie Ringera z fizostygminą). Zapisy skurczów robiono dla każdego roztworu dwukrotnie kolejno po sobie. Roztwory wzorcowe ACh przygotowywano stosując chlorek ACh firmy Hoffmann — La Roche, rozpuszczony w ilości 100 mg w 99 ml wody destylowanej plus 1 ml kwasu octowego lodowatego. 1 ml tego płynu rozcieńczano do pożądaných stężeń płynem Ringera dla żab (bez NaHCO_3).

Z uwagi na to, że do przyrządzania roztworów wzorcowych używano chlorku ACh, podane stężenia ACh w półkulach mózgowych odnoszą się nie do czystej zasady, lecz do jej chlorku.

Dokładność podanej metody biologicznego oznaczania stężeń ACh sprawdzono w ten sposób, że laborantka wykonująca oznaczenia otrzymywała roztwory ACh o nieznanym stężeniu i oznaczała stężenie na mięśniu prostym żaby. Tego rodzaju badanie wykonano 20-krotnie. Błąd metody ustalony w ten sposób wynosi 27%. Przytoczona liczba oznacza, że 67% pomiarów nie odbiega od faktycznej wartości o więcej aniżeli 27%.

Myszy, u których badano zawartość ACh w półkulach mózgowych po zadziałaniu gorąca, umieszczano w termostacie o wymiarach $67 \times 45 \times 60$ cm. Temperatura w termostacie, mierzona suchym termometrem, wynosiła 40°C . Wybrano tę temperaturę, gdyż jest to średnia maksymalnej temperatury, jaką mysz może znieść przez 2 godz. (1). W termostacie znajdowało się naczynko z wodą, która parując stwarzała wilgotność względną, wahającą się w granicach 45—55%. Na 49 przebadanych myszy tylko 30 wytrzymało te warunki. 19 myszy, przeważnie młode osobniki, padało w ostatnich minutach pobytu w termostacie. Myszy w termostacie znajdowały się bez przerwy pod obserwacją, tak że z chwilą śmierci (zanik ruchów oddechowych) natychmiast wypreparowywano mózgowie i sporządzano wyciąg. Temperatura ciała myszy, mierzona w odbyciu, wynosi w temp. pokojowej około 36°C (16). Po wyjęciu z termostatu temperatura ciała wahała się w granicach 40° — 41°C .

W analizie statystycznej znamienność określano wg tablic Fishera przytoczonych przez Gorzelaka (14a). Za statystycznie znamienne przyjęto prawdopodobieństwo $p < 0,1$ (90% prawdopodobieństwa).

WYNIKI I OMÓWIENIE WYNIKÓW

Stwierdzono, że zawartość ACh w półkulach mózgowych myszy wynosi w warunkach laboratoryjnych około $2,20$ — $0,11 \mu\text{gg}^{-1}$ świeżej wagi mózgowia. Otrzymane wyniki przedstawiono w tab. I.

Zawartość ACh w obydwu półkulach jest prawie jednakowa. Różnica $0,03 \mu\text{gg}^{-1}$ jest nieznamienna ($p > 0,1$). Otrzymane wyniki są zgodne z wynikami podanymi przez Crosslanda i Merricka (5), wg których stężenie ACh w mózgowiu myszy wynosi $2,30$ — $0,22 \mu\text{gg}^{-1}$. Są one również zbliżone do wyników podanych przez Hobbigera i Wernera (17), którzy oznaczając zawartość ACh w całym mózgowiu myszy otrzymali wartości $3,25$ — $0,4 \mu\text{gg}^{-1}$ ($1,9$ — $0,2 \mu\text{gg}^{-1}$ dla wolnej ACh i $1,35$ — $0,2 \mu\text{gg}^{-1}$ dla związanej ACh). Niewielkie różnice w wartościach dla ilości ACh w mózgowiu tego samego gatunku zwierzęcia, podawanych przez różnych badaczy, wynikają z różnego sposobu przygotowywania wyciągów oraz zależą od tego, w jakiej części mózgowia oznacza się zawartość ACh. Na ogół jest ona większa w istocie szarej, a więc w okolicach bogatych w synapsy. Dla przykładu można wymienić korę mózgową, w której zawartość ACh wynosi średnio $7,35 \mu\text{gg}^{-1}$ (34). Na marginesie można dodać, że istnienie za-

leżności między zawartością ACh i ilością synaps w OUN, jest jeszcze jednym faktem przemawiającym za udziałem ACh w procesie przenoszenia w synapsach.

Zawartość ACh w mózgach myszy poddanych działaniu gorąca przedstawiono w tab. II.

Tabela I

Zawartość ACh w półkulach mózgowych myszy w mikrogramach na gram (świeżej) wagi mózgowia

The content of ACh in the cerebral hemispheres of mice in micrograms for a gram of weight of brain (fresh).

Mierniki statystyczne	Lewa półkula	Prawa półkula
Liczebność	35	35
Średnia arytmetyczna	2,25	2,22
Średni błąd \pm	0,11	0,11
Odchylenie wzorcowe	0,67	0,68
Zakres szeregu liczb	0,80 — 3,47	0,60 — 3,22

Tabela II

Zawartość ACh w półkulach mózgowych myszy przebywających 2 godz. w wilgotnym gorącu w mikrogramach na gram (świeżej) wagi mózgowia

The content of ACh in the cerebral hemispheres of mice which were placed for 2 hrs in moist heat. The content of ACh is given in micrograms for a gram of brain (fresh).

Mierniki statystyczne	Lewa półkula	Prawa półkula
Liczebność	30	30
Średnia arytmetyczna	2,15	2,31
Średni błąd \pm	0,11	0,14
Odchylenie wzorcowe	0,63	0,78
Zakres szeregu liczb	0,97 — 3,65	0,97 — 4,01

Zawartość ACh w lewej półkuli wynosi $2,15 \mu\text{gg}^{-1}$, w prawej półkuli $2,31-0,14 \mu\text{gg}^{-1}$. Różnica między zawartością ACh w lewej i prawej półkuli mózgowej myszy poddanej działaniu gorąca nie jest znamienna ($p > 0,1$). Nie jest również znamienna różnica między odpowiednimi półkulami mózgowymi zwierząt przebywających w temperaturze pokojowej i poddanych działaniu gorąca. P dla lewej półkuli $> 0,1$, P dla prawej półkuli $> 0,1$. Wyniki te świadczą o tym, że w neuronach cholinergicznym półkul mózgowych myszy przebywających w wysokiej temperaturze otoczenia nie dochodzi do zaburzenia równowagi między szybkością syntezy ACh i szybkością wychodzenia jej z zakończeń nerwowych w czasie procesu przenoszenia synaptycznego. Neurony cholinergiczne półkul mózgo-

wych zachowują się podobnie do przedzwojowych neuronów górnego zwoju szyjnego kota. Kostial i Vouk (19) stwierdzili, że ilość ACh wyzwalana z zakończeń tych neuronów nie zmienia się znamienne w zakresie temperatur ciała od 20 do 42°C.

Do zabijania myszy używano par chloroformu, a więc substancji należącej do grupy narkotyków, o których wiadomo, że zwiększają zawartość ACh w mózgowiu (5, 11). Należało dodatkowo sprawdzić, czy brak różnicy w zawartości ACh w mózgowiu obydwu grup zwierząt doświadczalnych nie jest spowodowany niewłaściwą metodyką. Możliwość taka była mało prawdopodobna, zważywszy że otrzymane wyniki są bardzo zgodne z wynikami Crosslanda i Merricka (5), którzy stosowali metodę uważaną obecnie za najlepszą, a mianowicie zabijali zwierzęta przez zanurzenie ich w skroplonym powietrzu. Poza tym stosując przed i po ekspozycji na gorąco tę samą metodykę, można się spodziewać, że w obydwu przypadkach otrzymuje się ten sam błąd doświadczalny. Otrzymane wartości różnią się od rzeczywistych, ale mają znaczenie porównawcze. Mimo to postanowiono sprawdzić, czy używanie chloroformu do zabijania zwierząt rzeczywiście wpływa na zawartość ACh w mózgowiu. W tym celu oznaczano zawartość ACh również w mózgach myszy, które padły w czasie ekspozycji na gorąco. Wyniki tych oznaczeń przedstawiono w tab. III.

Tabela III

Stężenie ACh w półkulach mózgowych myszy, które padły w czasie próby cieplnej, w mikrogramach na gram świeżej wagi mózgowia.

Concentration of ACh in the cerebral hemispheres of mice which died during the thermal test — in micrograms for a gram of weight of brain (fresh).

Mierniki statystyczne	Lewa półkula	Prawa półkula
Liczebność	19	19
Średnia arytmetyczna	2,26	2,44
Średni błąd \pm	0,14	0,17
Odchylenie wzorcowe	0,63	0,74
Zakres szeregu liczb	1,11 — 3,81	1,21 — 3,59

Z tabeli III wynika, że zawartość ACh w półkulach mózgowych myszy, nie zabijanych chloroformem, jest prawie taka sama, jak u myszy zabijanych chloroformem. Różnice między wynikami dla odpowiednich półkul mózgowych z tab. II i III nie są statystycznie znamienne. P dla lewej półkuli $> 0,1$, p dla prawej półkuli $> 0,1$. Po śmierci zwierzęcia zawartość ACh w mózgowiu stopniowo spada. Krzywą spadku można wyrazić równaniem $A = \frac{K}{\sqrt{t}}$ (A — zawartość ACh, K — stała dla danego gatunku zwierzęcia, t — czas od chwili śmierci) (34). W wykonanych doświadczeniach czas upływający od momentu śmierci do momentu zanurzenia mózgowia w HCl nie przekraczał 2 min. Straty ACh były więc niewielkie.

Wykonane badania wykazały, że u zwierzęcia, które przebywa w wilgotnym gorącu i którego temperatura ciała wzrasta do ponad 40°C, nie stwierdza się spadku zawartości ACh w półkulach mózgowych. Po-

ziom ACh w neuronie cholinergicznym jest uwarunkowany szybkością przebiegu dwóch procesów, a mianowicie szybkością syntezy ACh w neuronie i szybkością wyzwalań ACh z zakończeń nerwowych. Szybkość wyzwalań ACh z zakończeń nerwowych może ulec zmniejszeniu, a nawet spaść do zera, gdy stężenie jonów Na i Ca w płynie otaczającym neuron spadnie poniżej pewnej krytycznej wartości (37, 38). Ponieważ jednak OUN jest chroniony przez barierę hematoencefaliczną przed gwałtownymi zmianami stężeń jonów w płynie tkankowym (35), dlatego jest rzeczą mało prawdopodobną, aby w czasie dwugodzinnej ekspozycji na działanie gorąca demineralizacja płynu tkankowego w OUN osiągnęła taki stopień, że doszłoby do upośledzenia wyzwalań ACh z zakończeń nerwowych. Skoro wyzwalań ACh z zakończeń nerwowych nie ulega większym zaburzeniom, a zawartość ACh nie zmienia się, to znaczy, że podwyższenie temperatury ciała nie wpływa w większym stopniu na procesy syntezy ACh w neuronach cholinergicznym półkul mózgowych.

Jeśli chodzi o ewentualny związek między zaburzeniami termicznymi w OUN i neuronalnym układem cholinergicznym półkul mózgowych, to możliwe są jeszcze dwa inne przypadki, a mianowicie zakłócenia w prawidłowej czynności esterazy acetylocholinowej i ewentualnie zmiany w substancji receptyjnej na błonie zasynaptycznej. Badania wykonane nad czynnością esterazy acetylocholinowej w mózgowiu gorączkujących królików nie wykazały zaburzeń aktywności tego enzymu przy podwyższonej temperaturze ciała (14). Prowadzone w naszej pracowni badania nad aktywnością cholinoesterazy czerwonych krwinek (która jest podobna, jeśli nie identyczna z esterazą acetylocholinową OUN) u ludzi poddanych działaniu wilgotnego gorąca również nie wykazują większego wpływu gorąca na czynność tego enzymu. Pozostałaby możliwość wpływu wzrostu temperatury ciała na substancję receptyjną błony zasynaptycznej. Tej możliwości na razie wykluczyć nie można.

Badania wykazały, że zaburzenia w OUN pod wpływem wilgotnego gorąca nie są związane z wyczerpywaniem się ACh w neuronach cholinergicznym półkul mózgowych ani z upośledzeniem syntezy ACh w tych neuronach. Z podanych faktów można wyciągnąć wniosek, że histofizjologicznego podłoża zaburzeń w OUN, pod wpływem „stressu“ cieplnego, należy doszukiwać się w innych elementach OUN.

Dziękuję lab. Urszuli Bujoczek za dużą pomoc w wykonaniu części doświadczalnej niniejszej pracy.

М. Краузе

ВЛИЯНИЕ ВЛАЖНОГО ЖАРА НА СОДЕРЖАНИЕ АЦЕТИЛХОЛИНА (АХ) В МОЗГОВЫХ ПОЛУШАРИЯХ МЫШИ

С о д е р ж а н и е

Настоящую работу провели с целью исследовать поведение системы холинергических нейронов мозговых полушарий мыши, подверженных действию влажного жара. Вопрос сводился к открытию гистофизиологической основы расстройств в центральной нервной системе (Ц. Н. С.), вызванных действием влажного жара.

Констатировали, что содержание АХ в полушариях мышей, пребывающих в комнатной температуре, составляет в левом полушарии $2,25 \pm 0,11 \mu\text{г г}^{-1}$, в правом — $2,22 \pm 0,11 \mu\text{г г}^{-1}$ свежего веса головного мозга.

После двухчасового пребывания во влажном жару (40°C и 45—55% относительной влажности) содержание АХ равняется в левом полушарии $2,15 \pm 0,11 \mu\text{г г}^{-1}$, в правом — $2,31 \pm 0,14 \mu\text{г г}^{-1}$ свежего веса головного мозга. Различия статистически не характерны.

Ввиду крупного коэффициента температуры для синоптического замедления ($Q=2,37$) предполагается, что при повышении температуры тела, каждый импульс освобождает из нервных окончаний более значительную порцию переносителя. Так как содержание АХ в холинергических нейронах мозговых полушарий не уменьшается во время экспозиций на влажный жар следует принять, что увеличенному выделению сопутствует усиленный синтез.

Результаты исследований указывают на то, что причин расстройств в Ц. Н. С., вызванных влажным жаром, следует искать в иных нежели холинергические, нейронах мозговых полушарий.

M. Krause

THE INFLUENCE OF MOIST HEAT ON THE CONTENT OF ACETYLCHOLINE (ACh) IN THE CEREBRAL HEMISPHERES OF MICE

Summary

The study was carried out for the purpose of investigating the behaviour of the cholinergic neurons of the cerebral hemispheres of mice which were subjected to the action of moist heat. The point was to find the histophysiologic background of the disorders of the central nervous system brought about by the action of moist heat.

It was found that the content of ACh in the hemispheres of the mice which stayed at room temperature amounts to in the left hemisphere — $2.25-0.11 \mu\text{gg}^{-1}$, in the right hemisphere — $2.22-0.11 \mu\text{gg}^{-1}$ of weight of the fresh brain. After two hours stay in the moist heat (40°C and 45—55% relative humidity) the content of ACh in the left hemisphere amounts to $2.15-0.11 \mu\text{gg}^{-1}$, in the right hemisphere $2.31-0.14 \mu\text{gg}^{-1}$ of weight of the fresh brain. The differences are not significant statistically.

Due to the large coefficient of temperature for synaptic delay ($Q_{10} = 2,37$) it is supposed that during the increase of the body temperature each impulse liberated from the nerve endings a larger portion of transmitter. Since the content of ACh in cholinergic neurons of the cerebral hemispheres does not decrease during exposure to moist heat, it should be accepted that the increased excretion is accompanied by intense synthesis.

The results of the investigations point out that the causes of disorders in the central nervous system caused by moist heat should be looked for in other neurons of the cerebral hemispheres and not in the cholinergic neurons.

PIŚMIENNICTWO

1. Adolph E. F.: Am. J. Physiol., 1947, 151, 564. — 2. Brooks C. McC. and Eccles J. C.: J. Neurophysiol., 1947, 10, 349. — 3. Chang H. C. and Gaddum J. H.: J. Physiol., 1933, 79, 255. — 4. Chang H. C.: Proc. Soc. Exper. Biol. and Med., 1935, 32, 1001. —

5. *Crossland J. and Merrick A. J.*: *Physiol.*, 1954, 125, 56. — 6. *Dale H. H.*: *J. Physiol.*, 1934, 80, 10P. — 7. *Del Castillo J. and Katz B.*: *J. Physiol.*, 1955, 128, 157. — 8. *Duke H. and Pickford M.*: *J. Physiol.*, 1951, 114, 325. — 9. *Dutkiewicz J. S., Giec L., Krause M. i Strzoda L.*: *Acta Physiol. Pol.*, 1955, 2, 159. — 10. *Eccles J. C. and Rall W.*: *Proc. Roy. Soc., Ser. B*, 1951, 138, 475.

11. *Elliott K. A. C., Roy L., Swank and Nora Henderson.*: *Am. J. Physiol.*, 1950, 162, 469. — 12. *Feldberg W.*: *J. Physiol.*, 1945, 103, 367. — 13. *Feldberg W.*: *Physiol. Rev.*, 1945, 25, 596. — 14. *Field J., Preiss C. N. and Hall V. E.*: *Feder. Proc.* 1948, 7, 33. — 14a. *Gorzalak E.*: *Med. Pracy*, 1951, 4, 329. — 15. *Hebb Catherine*: *Physiol. Rev.*, 1957, 37, 197. — 16. *Herrington L. P.*: *Heat production and thermal conductance*. Reinhold Publ. Company, N. York 1941, 450. — 17. *Hobbiger F. and Werner G.*: *Ztschr. Vi(Ho)Fe.*, 1948/49, 2, 234. — 18. *Jeffries G.*: 1952 Nieopublikowane badania cyt. wg *Eccles J. C.*: *The neurophysiological basis of mind str.*, 95., Oxford. University Press Oxford 1953. — 19. *Kostial Krista and Vouk. V. B.*: *J. Physiol.*, 1956, 132, 239.

20. *Krause M.*: *Acta Physiol. Pol.*, 1955, 6, 33. — 21 *Krause M.*: *Zentralbl. für Arbeitsmedizin w druku*. — 22. *Liley W. and North K. A. K.*: 1952. Nieopublikowane badania cyt. wg *Eccles J. C.* *The neurophysiological basis of mind; str.* 91 Oxford University Press. Oxford 1953. — 23. *Longo V. G.*: *Experiantia*, 1955, 11, 76. — 24. *Mac Intosh F. C. and Perry W. L. M.*: *Methods in medical research str.* 87. Vol. 3 The Year Book Publishers Inc., Chicago 1950. — 25. *Mac Intosh F. C. and Oborin E. E.*: cyt. wg *Perry W. L. M.* *Central and synaptic transmission (Pharmacological aspects)* *Annual Rev. Physiol.*, 1956, 18, 279. — 26. *Marazzi A. S.*: *Science*, 1953, 118, 367. — 27. *Miller F. R.*: *J. Physiol.*, 1937, 91, 212. — 28. *Miller F. R.*: *Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.*, 1943. 54. 285. — 29. *Pickford M.*: *J. Physiol.*, 1947, 106, 264. — 30. *Rowell E. V.*: *Biochem. J.*, 1954, 57, 666.

31. *Samojłow A. F.*: *Izbrannyje stati i reczi*, str. 212 Izdatelstwo Akademii Nauk S. S. S. R., Moskwa 1946. — 32 *Švec F.*: *Ustna informacija*. — 33. *Švec F. i Hlavayova E.*: *Českoslov. Fisiol.*, 1953, 2, 172. — 34. *Tower D. B. and Elliott K. A. C.*: *Am. J. Physiol.*, 1952, 168, 747. — 35. *Wang J. C.*: *J. gen. Physiol.*, 1948, 31, 259. — 36. *Zawadzki B.*: *Acta Physiol. Pol.*, 1955, 6, 16. — 37. *Zawadzki B.*: *Acta Physiol. Pol.*, 1955, 6, 277. — 38. *Zawadzki B.*: *Acta Physiol. Pol.*, 1955, 3, 285.

Otrzymano dnia: 24.III.1958 r.