

WPLYW WITAMINY E NA WYSPY LANGERHANSA KRÓLIKA I NA CUKRZYCĘ ALOKSANOWĄ

Z Zakładu Histologii i Embriologii Śląskiej A. M.

Kierownik: prof. dr T. Pawlikowski

z Zakładu Farmakologii Eksperymentalnej Śląskiej A. M.

Kierownik: doc. dr J. Jeske

Badania wpływu witaminy E na ustrój są bardzo liczne. Rozpoczęli je *Matill* i *Conclin* (1920), którzy zwrócili uwagę na wpływ witaminy E na rozmnażanie się szczurów.

Wśród wielu tysięcy prac na temat witaminy E zwrócono również uwagę na jej rolę w przemianach węglowodanów. Tak na przykład *Bomskov* wraz z współpracownikami (1941) stwierdził u zwierząt z awitaminozą E obniżenie zawartości glikogenu w wątrobie, sercu i w mięśniach szkieletowych. Natomiast po podaniu witaminy E *Prosperi* (1950) i *Koch* (1952) stwierdzili wzrost ilości glikogenu w wątrobie. Badając krzywą cukrową u zwierząt po podaniu im glikozy *Morgulis* (1938) zauważył, że w przypadku awitaminozy E krzywa ta jest przedłużona. Badania *Hottin-gera* (1941) wykazały, że równoczesne podanie glikozy i witaminy E powoduje nagły wzrost krzywej cukrowej, natomiast według *Massobrio* i *Boglione* (1952) w przypadku, gdy na 5 do 15 minut przed obciążeniem cukrowym podaje się 200 mg witaminy E, wówczas następuje obniżenie krzywej w porównaniu z wykresami uzyskanymi z doświadczeń, w których nie podano witaminy E. *Bellotti* (1953) przeprowadzając swe badania na ludziach stwierdził, że równoczesne podanie witaminy E i glikozy zdrowym ludziom, głodzonym uprzednio przez 12 godzin, powoduje szybszy wzrost poziomu cukru we krwi niż u tych ludzi, którym podano tylko glikozę. Autor ten porównywał również krzywe cukrowe po podaniu glikozy i insuliny z krzywymi po podaniu glikozy z insuliną i witaminą E. Jak wykazały badania, witamina E nie zmieniała charakteru krzywej. Na podstawie tych obserwacji *Bellotti* dochodzi do wniosku, że wpływ witaminy E na przemianę cukrową nie ma nic wspólnego z działaniem insuliny.

Heinsen (1949) donosi, że podanie witaminy E chorym na niewydolność przysadkową zmniejsza u znacznej części przebadanych wrażliwość na insulinę. Odmiennie natomiast reagują tacy chorzy na adrenalinę. *Bellotti* przypisywał witaminie E działanie regulujące czynność wydzielniczą przysadki mózgowej.

Dalsze obserwacje opierają się na wynikach badań klinicznych przeprowadzanych szczególnie w przypadkach cukrzycy. *Vogelsang* (1948) opisuje korzystne działanie witaminy E w przypadkach cukrzycy u chorych w wieku powyżej 25 lat, stosowanej w dawkach dziennych około

300 mg przez okres co najmniej jednego miesiąca, po czym ilość podawanej insuliny stopniowo zmniejszano. Jak bardzo rozbieżne są spostrzeżenia z tego zakresu świadczą prace *Pollacka* i współpr. (1950), *Bensleya* wraz z współpr. (1949) oraz *Guesta* (1949). Autorzy ci w przeciwieństwie do *Vogelsanga* nie stwierdzili korzystnego wpływu witaminy E w leczeniu cukrzycy.

Ostatnio, już w okresie opracowywania niniejszego zagadnienia, pojawiła się praca *Barbieriego* i *Esposti'ego* (1954), a której autorzy posługując się metodą histologiczną donoszą, że podawanie witaminy E w dawkach około 100 mg na kg wagi zwierzęcia powoduje po dłuższym czasie zanik komórek β wysp Langerhansa.

Jak wynika z przytoczonego piśmiennictwa poglądy na działanie witaminy E na przemianę węglowodanów nie są ujednocicone a wyniki otrzymane przez różnych autorów są rozbieżne.

Celem naszej pracy było: 1) ustalenie wpływu różnych dawek witaminy E podawanych przez dłuższy okres czasu na obraz histologiczny wysp Langerhansa i na ich wydolność. 2) ustalenie wpływu tych samych dawek witaminy E na wywołanie i przebieg cukrzycy aloksanowej.

Jeden z nas (*F. Kokot* wraz z *J. Chelminem*) opracował to zagadnienie metodami farmakologicznymi i praca ta stanowi oddzielne doniesienie. Dlatego tę część pracy podajemy tutaj w streszczeniu.

METODYKA

Doświadczenia wykonaliśmy na 40 królikach. Zwierzęta zostały podzielone na 2 równe grupy I i II. Każda z tych grup została z kolei podzielona na 4 podgrupy (po 5 królików w każdej podgrupie): I_1-4 i II_1-4 . Pierwsza podgrupa (I_1) stanowiła zwierzęta kontrolne. Podgrupa I_2 otrzymywała codziennie 15 mg witaminy E na kg wagi zwierzęcia, podgrupa I_3 30 mg witaminy E na kg wagi, podgrupa I_4 50 mg witaminy E na kg wagi. Witaminę E podawaliśmy w roztworze olejowym podskórnie przez okres 16 dni. Przed rozpoczęciem badań oznaczono kilkakrotnie dla każdego zwierzęcia krzywą cukrową po wstrzyknięciu dożylnym 0,3 g glikozy na kilogram wagi. Identyczne badania obciążenia cukrowego przeprowadzano co 3 do 4 dni (od 1 do 16 dnia doświadczenia).

Druga grupa zwierząt (II_1-4) została również podzielona na 4 podgrupy. Pierwsza podgrupa (II_1) składała się ze zwierząt kontrolnych, podgrupa II_2 otrzymywała codziennie 5 mg wit. E na kg wagi, trzecia podgrupa (II_3) otrzymywała 25 mg wit. E na kg wagi, ostatnia zaś podgrupa (II_4) otrzymywała codziennie 50 mg wit. E na kg wagi. Przed rozpoczęciem doświadczeń podano każdemu zwierzęciu dożylnie 0,4 g glikozy na kg wagi i wykreślono krzywą hiperglikemiczną. Witaminę E podawano przez okres 21 dni. Krzywe hiperglikemiczne określano dla każdego królika co 5 dni i porównywano je z krzywymi uzyskanymi przed rozpoczęciem doświadczeń. W 22 dniu doświadczeń po głodzeniu zwierząt przez 18 godzin podano im dożylnie aloksan w ilości 100 mg na kg wagi pod postacią 5% roztworu w soli fizjologicznej. Następnie w ciągu od 2 do 14 dnia trwania cukrzycy aloksanowej oznaczano krzywe cukrowe.

Po wykonaniu doświadczeń z krzywymi hiperglikemicznymi zwierzęta uśmiercono przez ogłuszenie i pobrano trzustkę do płynu Bouina i do 10% formaliny. Materiały zatopiono w parafinie. Skrawki grubości 6 mikronów barwiono następnie hematoksyliną i eozyną, azokarminem wg *Heidenhaina* (wg modyfikacji przystosowanej szczególnie dla różnicowania komórek wyspowych podanej przez *Gomoriego*, 1939) oraz częściowo metodą srebrną (modyfikacja *Woltera*, 1950).

WYNIKI

A. B a d a n i a f a r m a k o l o g i c z n e.

Podawanie królikom witaminy E w dawkach określonych wyżej nie ma wyraźniejszego wpływu na poziom cukru we krwi oznaczonego na czczo. Po kilkudniowym podawaniu witaminy E stwierdzono aczkolwiek nieznaczne, jednak wyraźne opóźnienie powrotu poziomu cukru we krwi do wartości wyjściowych. Czas opóźniania nie był jednak uzależniony od wielkości podawanych dawek witaminy E.

U królików z cukrzycą aloksanową poziom cukru we krwi oznaczony na czczo jest tym wyższy, im większa była dawka witaminy E podawana zwierzętom przed wywołaniem cukrzycy. Otrzymane wyniki świadczą, że witamina E działa hamująco na układ wyspowy królika, co wyraża się prawdopodobnie zaburzeniami czynnościowymi komórek β .

B. B a d a n i a m o r f o l o g i c z n e.

1. Układ wyspowy u królików kontrolnych. Wyspy Langerhansa u królika posiadają kształt najczęściej kulisty lub owalny, rzadziej nieregularny. Średnica wysp jest stosunkowo mała i waha się najczęściej w granicach od 50 do 100 mikronów. Wprawdzie można również spotkać wyspy większe, których średnica dochodzi, a nawet przekracza 200 mikronów, jest to jednak zjawisko rzadkie. Wyspy Langerhansa u królika leżą z reguły w pobliżu przewodów odprowadzających trzustki (międzyzrazikowych lub śródzrazikowych). W przypadku, gdy wyspa leży w pobliżu przewodu odprowadzającego międzyzrazikowego posiada ona najczęściej nieznacznej grubości torebkę, natomiast w przypadkach, gdy wyspa leży w pobliżu przewodu śródzrazikowego torebki najczęściej nie posiada i jej odgraniczenie od części zewnątrzwydzielniczej trzustki jest nieostre.

Wyspy Langerhansa u królika zbudowane są przede wszystkim z 2 rodzajów elementów gruczołowych, a mianowicie z komórek α i β . Przy barwieniu preparatów mikroskopowych metodą azanową wg modyfikacji Gomori'ego po uprzednim utrwaleniu w płynie Bouina, komórki α barwią się na kolor oranżowy, natomiast komórki β na kolor czerwony. Większe wyspy zbudowane są z reguły z obu rodzajów komórek, natomiast wyspy o mniejszej średnicy (poniżej 50 mikronów) mogą być zbudowane w całości bądź tylko z komórek α , bądź też tylko z komórek β . Stosunek komórek β do α w całym układzie wyspowym wynosi mniej więcej 80:20. Ściślej według naszych obliczeń w wyspach królików kontrolnych komórek β jest 82,3%, natomiast komórek α jest 17,7% (liczby podawane są w zaokrągleniu do 0,1%). Komórki wyspowe wyliczono u 4 królików w ilości 3000 do 3500 komórek w każdym przypadku. Uzyskano wyniki, jak w tabeli I.

T a b e l a I

| | komórek α | komórek β |
|--------------------|------------------|-----------------|
| królik 1 | 17,1% | 82,9% |
| „ 2 | 19,0% | 81,0% |
| „ 3 | 18,4% | 81,6% |
| „ 4 | 16,3% | 83,7% |
| średnio | 17,7% | 82,3% |

Należy zaznaczyć, że liczono wszystkie kolejno napotkane w preparatach komórki wyspowe, pomijano natomiast komórki wewnątrzwydzielnicze znajdujące się w obrębie nabłonka przewodów odprowadzających trzustki.

W obliczeniach tych pominięty został również trzeci rodzaj komórek wyspowych dostrzeżonych na naszych preparatach. Są to elementy nieco większe od komórek β , różniące się od pozostałych komórek wyspowych przede wszystkim jasną cytoplazmą, pozbawioną ziarnistości, słabo barwiącą się eozyną. Elementy te widocznie odróżniają się od komórek α i β już w preparatach barwionych hematoksyliną i eozyną. W preparatach barwionych metodą azanową opisywany trzeci typ komórek jest jeszcze wyraźniejszy. Powstaje zagadnienie, do którego z rodzajów komórek należy je zaliczyć. Z całą pewnością nie są to ani komórki α ani też β . Thomas (1937-38) opisywał wprawdzie, jakoby widział w wyspach królika komórki γ , inni jednak autorzy, między innymi również i Gomori, nie potwierdzili tego. W naszym przypadku sposób wybarwiania się opisywanych elementów również nie daje podstaw, by je zaliczyć do komórek γ . Liczbowo komórki te występują w minimalnych ilościach (około 0,1 do 0,3%).

Przewody odprowadzające trzustki posiadają charakterystyczną budowę. Otóż oprócz komórek nabłonkowych wyścielających światło tych przewodów (tak śródzrazikowych jak i międzyzrazikowych) widoczne są w tym nabłonku typowe elementy wyspowe, a mianowicie komórki α i β . Ponieważ z komórek tych tworzą się następnie wyspy, staje się wobec tego zrozumiałe, że mogą istnieć wyspy zbudowane wyłącznie z komórek α lub też z komórek β . Jest to o tyle charakterystyczne, że obecność komórek β w przewodach odprowadzających trzustki zostaje stwierdzona jak dotychczas przez innych autorów tylko u szczura i obecnie przez nas u królika.

Rozmieszczenie poszczególnych rodzajów komórek w większych wyspach Langerhansa u królika nie jest zbyt charakterystyczne. Tylko w części wysp komórki β znajdują się raczej w środkowym odcinku wyspy, podczas gdy komórki α układają się wtedy obwodowo, co w wyniku daje tzw. typ wysp płaszczowych. Natomiast charakterystyczne wydaje się być ułożenie opisywanych przez nas jasnych, pozbawionych ziarnistości cytoplazmatycznych komórek, które leżą na granicy skupień komórek α i β .

2. Zmiany, które zauważono w wyspach Langerhansa królików po podawaniu witaminy E są bardzo subtelne. Zmiany te można sprowadzić do trzech postaci: a) częściowej degranulacji komórek β , b) znacznego rozwoju naczyń krwionośnych, c) przesunięcia stosunku liczbowego komórek β do α .

U zwierząt podgrupy I₂ i I₃ widoczny jest tylko nieznaczny rozrost naczyń włosowatych zatokowych. Natomiast u zwierząt podgrupy I₄, którym podawano na kg wagi ciała 50 mg witaminy E dziennie, zaznaczone są wszystkie trzy postacie zmian.

Ziarnistości cytoplazmatyczne komórek β u tych zwierząt wybarwiają się słabiej w porównaniu z komórkami β zwierząt kontrolnych. Nie jest to oczywiście całkowita degranulacja komórek β , niemniej jednak różnice w nasileniu ich barwliwości w obu grupach zwierząt są widoczne.

Wyspy Langerhansa u królików, którym podawano witaminę E sprawiają wrażenie tworów przerośniętych. Jest to jednak przerost względny,

który polega tylko na rozszerzeniu naczyń krwionośnych włosowatych. Naczynia te, mimo iż nie zawsze wypełnione są krwinkami posiadają szerokie światło. Również i w części egzokrynowej trzustki dochodzi do podobnych zmian w obrębie najmniejszych naczyń krwionośnych.

Trzecią postacią zmian budowy dostrzeżonych w wyspach Langerhansa pod wpływem dziennego podawania większych dawek witaminy E jest przesunięcie stosunku liczbowego komórek α do β . U królików, którym podawano dziennie 50 mg witaminy E na kg wagi spotyka się liczniejsze wyspy zbudowane wyłącznie z komórek α . Są to najczęściej wyspy zawierające zaledwie kilka do kilkanaście komórek. Wydaje się, iż ten fakt właśnie powoduje zmianę w wspomnianym stosunku poszczególnych rodzajów komórek wyspowych do siebie. Trudno bowiem przypuszczać, że pod wpływem witaminy E dochodzi do zmniejszenia ogólnej liczby komórek β . Wyliczenia przeprowadzono u 2 zwierząt, którym podawano przez 16 dni po 50 mg witaminy E na kg wagi. U zwierząt tych stwierdzono, jak w tab. II:

Tabela II

| | komórek α | komórek β |
|--------------------|------------------|-----------------|
| królik 1 | 20,8% | 79,2% |
| „ 2 | 23,4% | 76,6% |
| średnio | 22,1% | 77,9% |

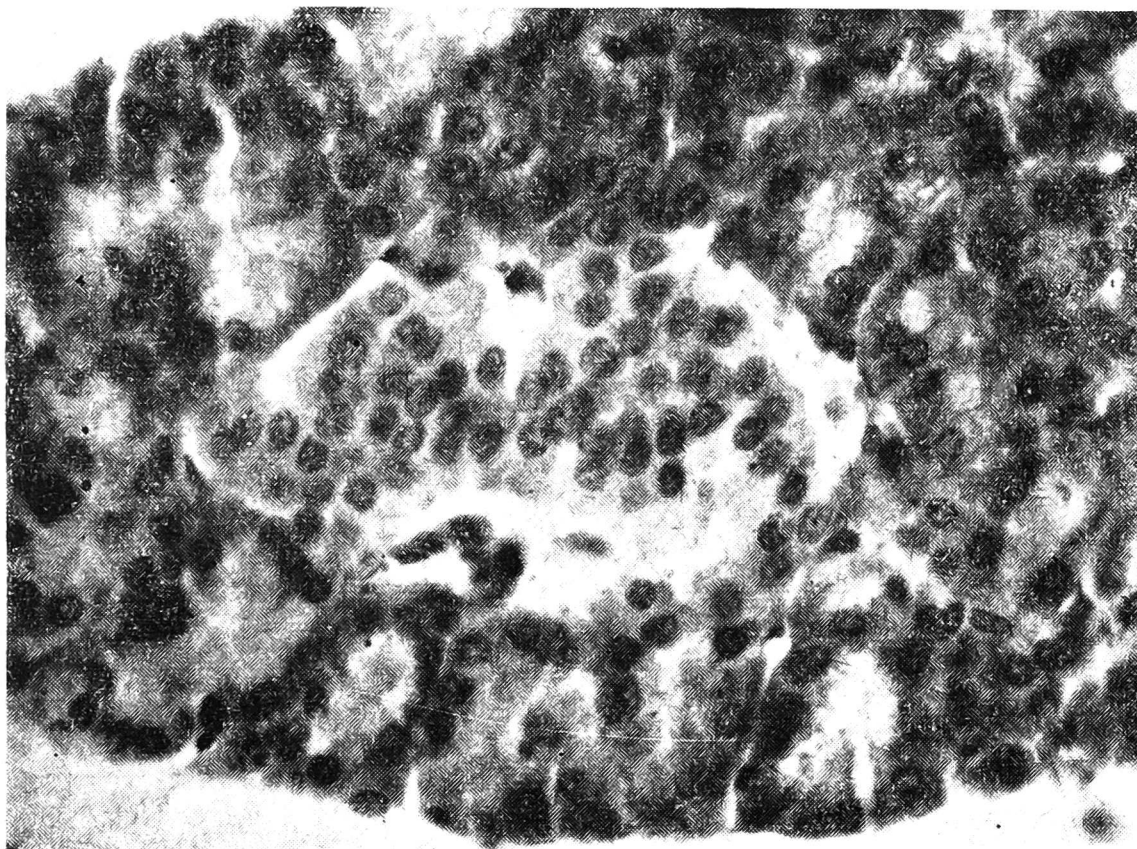
Należy jednak podkreślić, że uzyskane różnice pod względem statystycznym nie są znamienne, gdyż rozrzut komórek α i β w różnych preparatach wynosi od 8 do 12%, co przekracza znacznie różnice w liczbie poszczególnych rodzajów komórek u zwierząt kontrolnych i u zwierząt poddanych działaniu witaminy E. Uwzględniając jednak całokształt zmian w dokrewnej części trzustki wywołany podaniem witaminy E jak również i charakter przyrostu liczbowego komórek α przez pojawienie się małych wysp można przyjąć, że przyrost komórek α jest w warunkach przeprowadzonych doświadczeń istotny.

3. Pod wpływem aloksanu w wyspach królików dochodzi do całkowitego zaniku ziarnistości komórek β i do pojawienia się zmian wodniczkowych wewnątrz tych komórek. Komórki α pod wpływem aloksanu pozostają nieuszkodzone. Komórki β są znacznie jaśniejsze a ich jądra komórkowe często wykazują budowę pyknotyczną. Zmiany wodniczkowe są tym większe, im większą ilość witaminy E dostarczono zwierzętom przed wywołaniem cukrzycy aloksanowej. Poza tym witamina E nie ma wpływu na obraz morfotyczny wysp królika w cukrzycy aloksanowej.

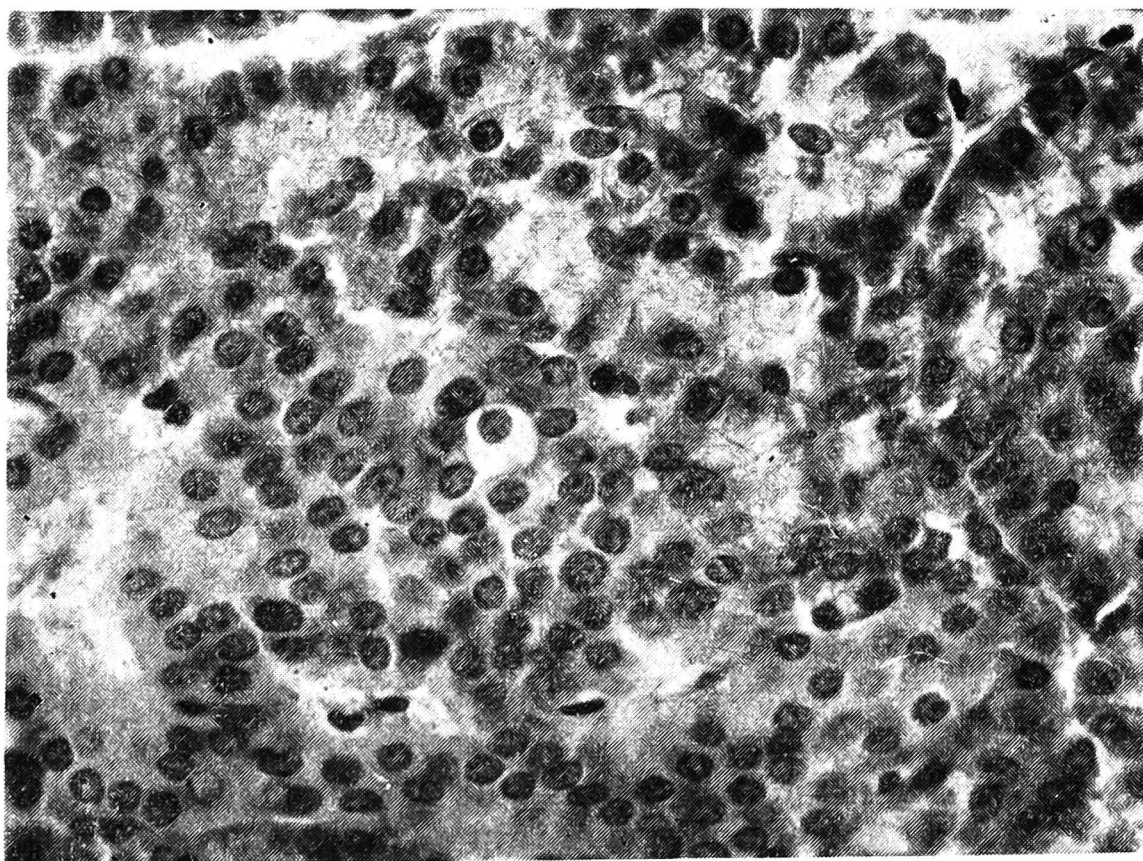
OMÓWIENIE WYNIKÓW

W badaniach naszych stwierdziśmy wyraźny wpływ witaminy E na wyspy Langerhansa u królika (degranulacja komórek β , zwiększenie średnicy naczyń, zwiększenie liczby komórek α). Wyraźniejsze zmiany histologiczne notowaliśmy dopiero po podawaniu zwierzętom większych dawek witaminy E (50 mg na kg wagi). Być może, że mniejsze dawki witaminy E również wpływają na komórki wyspowe, zmian tych jednak przy posługiwaniu się opisaną metodyką nie potrafiliśmy wykazać.

Wyniki uzyskane przez nas zgodne są z wynikami *Barbieri'ego* i *Esposti'ego* (1954), którzy podając zwierzętom znacznie większe dawki witaminy E (około 100 mg na kg wagi) przez okres dłuższy obserwowali zanik komórek β wysp Langerhansa. Praca nasza obrazuje zmiany, które

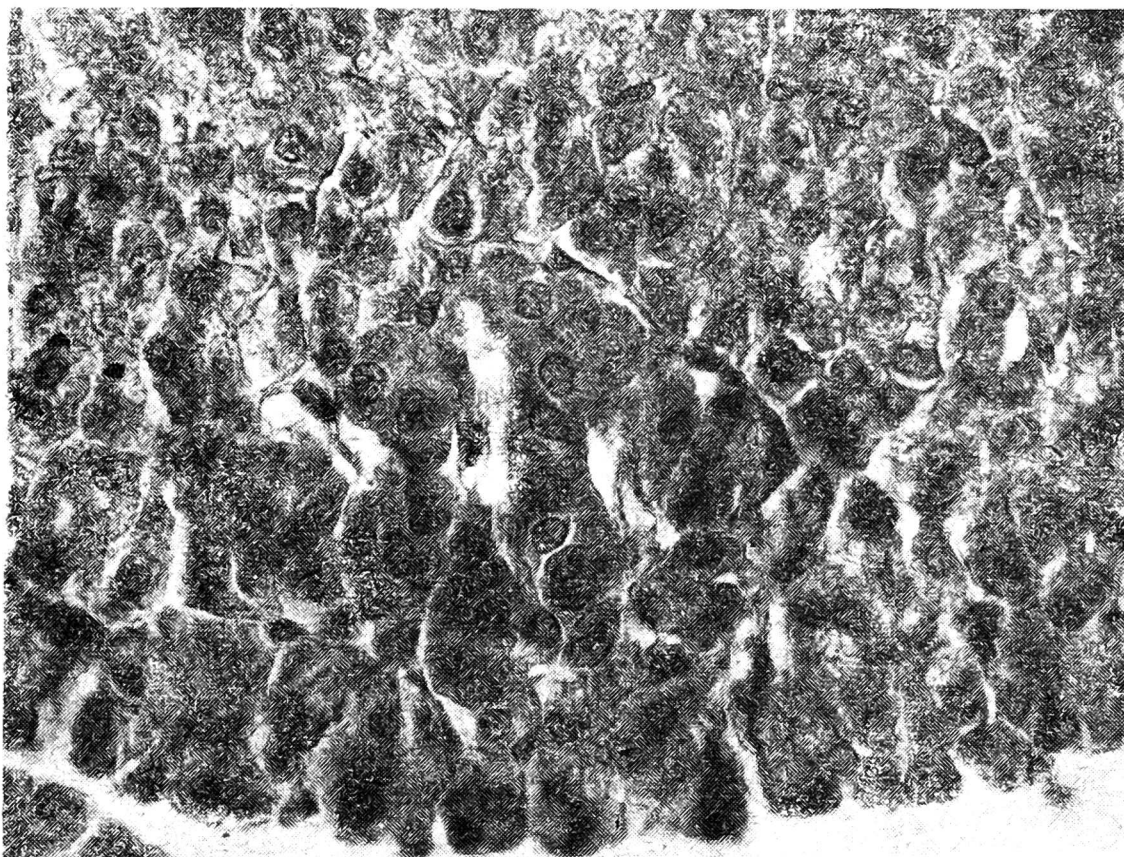


Ryc. 1. Trzustka królika kontrolnego. Utrw. — Bouin, Barw. — hematoksylina eozyna. Mikrofotografia pow. ok. 435 \times . W środku zrazika trzustki widoczna wyspa Langerhansa. Tuż przy wyspie mały przewód odprowadzający

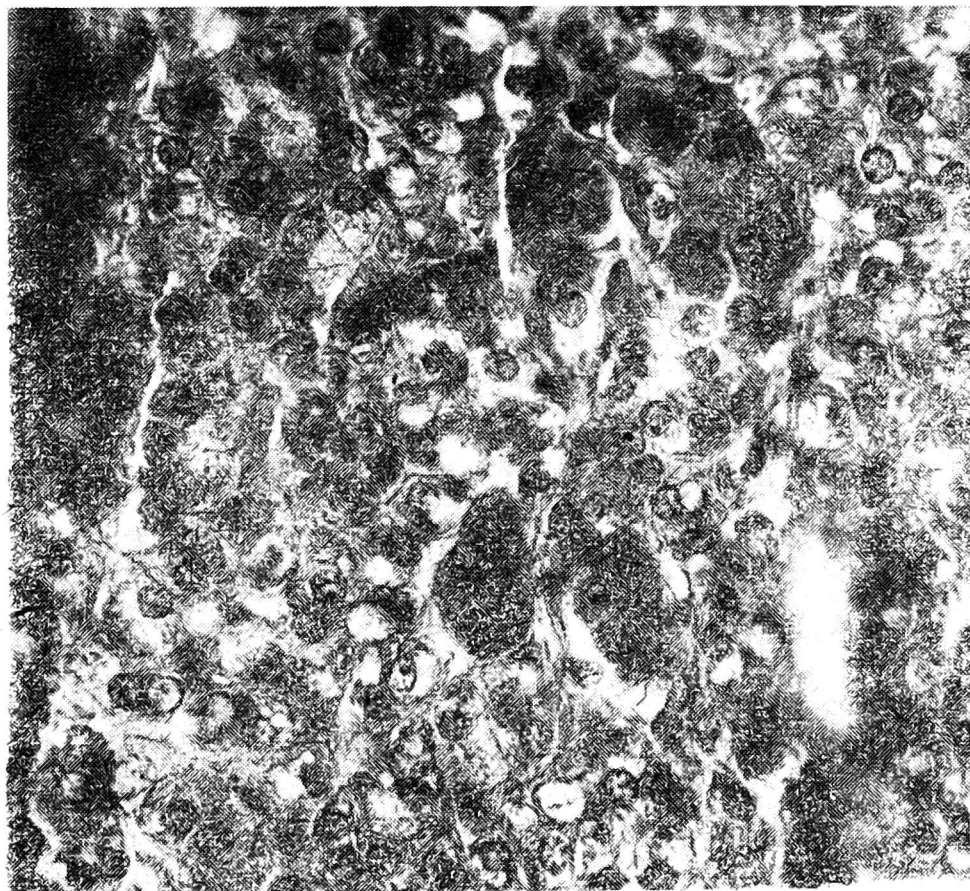


Ryc. 2. Trzustka królika kontrolnego. Utrw. — Bouin. Barw. — hematoksylina eozyna. Powiększenie około 45 \times . Wewnątrz wyspy komórka jasna

zachodzą w wyspach pod wpływem stosowania znacznie mniejszych dawek witaminy E.



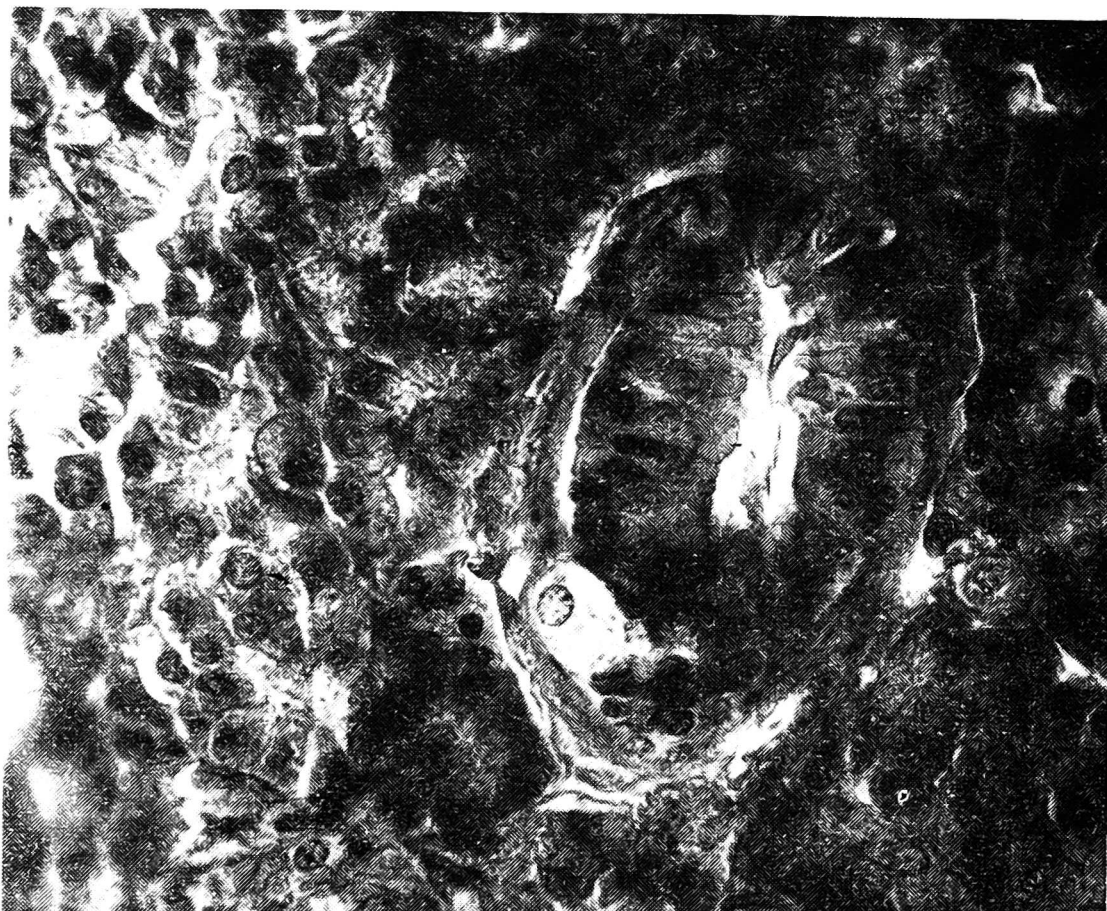
Ryc. 3. Trzustka królika po 16-dniowym podawaniu witaminy E (po 50 mg na 1 kg wagi). Utrw. Bouin. Barw. — azan. Pow. ok. 435 \times . W wyspie zwracają uwagę bardzo szerokie naczynia krwionośne. Komórki β w porównaniu ze zwierzętami kontrolnymi barwią się słabiej



Ryc. 4. Trzustki królika po 21 dniowym podawaniu witaminy E (50 mg na kg wagi) i po następnym wywołaniu cukrzycy aloksanowej. Utrw. — Bouin. Barw. — azan. Powiększenie około 435 \times . Widoczne 3 małe skupienie komórek α

Obserwacje histologiczne są całkowicie zgodne z doświadczeniami farmakologicznymi. Częściowa degranulacja komórek β po podaniu zwierzętom witaminy E w doświadczeniach farmakologicznych przejawia się w zmianie przebiegu krzywej obciążeniowej cukrowej w tym sensie, że spadek zawartości cukru we krwi do poziomu wyjściowego jest opóźniony.

Przerost naczyń krwionośnych wewnątrz wysp Langerhansa jest bezsprzecznie czynnikiem, który ułatwia i przyspiesza rozwój cukrzycy po podaniu zwierzętom aloksanu. Toteż zrozumiałe staje się, że cukrzyca aloksanowa po uprzednim podawaniu zwierzętom witaminy E przez okres 21 dni występuje pod postacią cięższą w porównaniu z cukrzycą aloksanową wywołaną u królików, którym nie podawano witaminy E. Twier-



Ryc. 5. Trzustka królika w cukrzycy aloksanowej. Utrw. — Bouin. Barw. — azan. Pow. około $435\times$. W środku mikrofotografii widoczny jest międzyzrazikowy przewód odprowadzający. Uwidocznione jest pączkowanie komórki β

dzenie, że rozwój naczyń krwionośnych wewnątrz wysp stwarza niewątpliwie pomyślniejsze warunki do powstania cukrzycy aloksanowej może być poparte spostrzeżeniem, że szereg metod przeciwdziałania cukrzycy aloksanowej sprowadza się do wywołania skurczu naczyń krwionośnych w wyspach. I tak na przykład, jeżeli przed podaniem toksycznej dawki aloksanu wstrzykniemy zwierzęciu odpowiednią ilość adrenaliny wówczas powstały skurcz naczyń wyspowych ogranicza działanie aloksanu na wyspy.

Badania nasze wyjaśniają częściowo pytanie, dlaczego podawana ludziom w przypadkach cukrzycy witamina E pozostaje bez dodatniego wpływu na przebieg tej choroby.

WNIOSKI

1. Witamina E podawana królikom przez okres 16 dni w dawkach 50 mg na kg wagi powoduje: a) częściową degranulację komórek β , b) znaczny rozwój naczyń krwionośnych wewnątrz wysp, c) zwiększenie liczby komórek α .

2. W cukrzycy aloksanowej zmiany wodniczkowe komórek β są tym większe, im większą ilość witaminy E podano zwierzętom przed wywołaniem cukrzycy aloksanowej.

К. Заюш, Ф. Кокот

ВЛИЯНИЕ ВИТАМИНА E НА ОСТРОВКИ ЛАНГЕРХАНСА У КРОЛИКА И НА АЛЛОКСАНОВЫЙ ДИАБЕТ

Содержание

Авторы исследовали, пользуясь фармакологической и гистологической методикой, влияние различных доз витамина E на инсулярную систему панкреатической железы, а также на развитие и течение аллоксанового диабета у кролика. Под влиянием витамина E, применяемого в течение 16 дней в дозах от 15 до 50 мгр на 1 кг веса животного найдено при нагрузке глюкозой отчетливое запаздывание возвращения уровня сахара в крови к исходным величинам. При гистологических исследованиях обнаружено частичную дегрануляцию клеток β , разрастание кровеносных сосудов внутри островков и увеличение количества клеток α .

У кроликов, которым в продолжении 21 дня вводился витамин E в дозах от 5 до 20 мгр на кг веса и затем вызывался аллоксановый диабет, уровень сахара в крови, определяемый на тощак, оказывается тем выше, чем больше была доза витамина E. Подобным образом возрастает напряжение процесса вакуолизации в клетках β островков Лангерханса.

Авторы описывают новый тип инсулярных клеток, выступающих у кролика в очень малых количествах. Они обращают также внимание на неописанный до сих пор факт присутствия типичных клеток β в выводных канальцах поджелудочной железы.

К. Zajusz, F. Kokot

ON THE INFLUENCE OF VITAMIN E ON LANGERHANS ISLETS AND ON THE ALLOXAN DIABETES IN RABBITS

Summary

The authors investigated the influence of various doses of vitamin E on the Langerhans islets of rabbit pancreas and on the course and development of alloxan diabetes by pharmacological as well as by histological methods. Under the influence of vitamin E administered during 16 days in doses from 15 to 50 mg/kg of body weight a marked flattening of the glucose curve was demonstrated. Histological examination demonstrated degranulation of β cells, vascular hypertrophy and an increase in α cells.

In rabbits, treated for 21 days by vitamin E in doses from 5 to 50 mg/kg body weight, alloxan diabetes was provoked. The sugar levels in blood were higher following administration of higher vitamin doses. The degree of vacuolation of β cells increases correspondingly.

The authors describe a new type of islets cells present in rabbit islets in small numbers. They stress also the hitherto undescribed presence of typical β cells in pancreatic ducts.

PIŚMIENICTWO

1. *Barbieri L., Esposti P. L.*: Minerva Medica 1954, 1324. — 2. *Bellotti R., Mezzano M.*: Inform. med. Geneva 1953, 6/5 123—129. Wg Exc. Med. Sect. II, 1953, 6/9. —
3. *Bensley i wsp.*: Canad. Med. Ass. J. 1949, 61/3, 260—264. — 4. *Bomskov C., Kaulla K. N.*: Klin. Wschr. 1941, 334. — 5. *Fernholz*: Amer. Soc. 1937, 59, 1154; 1938, 60, 700. — 6. *Gomori G.*: Anat. Rec., Suppl. 1939, 74, 439. — 7. *Guest G. M.*: Ann. N. Y. Ac. of Scienc. 1949, 53/3, 411. — 8. *Heinsen H. A.*: Dtsch. med. Wschr. 1949, 74/29. — 30, 908. — 9. *Hottinger A.*: Z. f. Vitaminforsch. 1941, 11, 334. — 10. *Koch R.*: Int. Z. f. Vitaminforsch. 1952, 24/1 —2, 66—74.
11. *Massobrio E., Boglione G.*: Arch. Sci. med. 1952, 94/4, 263. — 12. *Matill, Conclin*: J. Biol. Chem., 1920, 44, 137. — 13. *Morgulis S.*: Nutritional Muscular Dystrophy, Paris 1938. — 14. *Pollack i wsp.*: Am. J. Med. Sci. 1950, 6, 219. — 15. *Prosperi G.*: Riv. Clin. Pediatrica 1950, 48, 1, 1950, 48, 763. — 16. *Sobolew L. W.*: Virch. Arch. 1902, 91, 168. — 17. *Thomas T. B.*: Anat. Rec., Suppl., 1935 — 36, 64 Am. J. Anat. 1937 — 38, 62, 31. — 18. *Vogelsang E. V.*: Clin Endocrin. 1948, 8, 888. — 19. *Wolter J. R.*: Z. Zellforsch. 1950, 35, 229. — 20. *Kokot F., Chelmin J.*: Acta Pharm. Pol. — w druku.

Otrzymano: 13. IV. 1955 r.