

Medycyna Doświadczalna i Społeczna

TOM XVIII

KOMITET REDAKCYJNY:

S. Adamowiczowa — Warszawa, **L. Anigstein** — Warszawa, **W. Chodźko** — Warszawa, **S. Ciechanowski** — Kraków, **F. Czubalski** — Warszawa, **F. Eisenberg** — Kraków, **N. Gąsiorowski** — Lwów, **M. Gieszczykiewicz** — Kraków, **B. Gutowski** — Warszawa, **L. Hirsfeld** — Warszawa, **T. Janiszewski** — Warszawa, **M. Kacprzak** — Warszawa, **E. Leyko** — Warszawa, **A. Ławrynowicz** — Warszawa, **J. Modrakowski** — Warszawa, **R. Nitsch** — Warszawa, **J. Nowak** — Kraków, **B. Nowakowski** — Warszawa, **L. Padlewski** — Poznań, **J. Parnas** — Lwów, **L. Paszkiewicz** — Warszawa, **F. Przesmycki** — Warszawa, **S. Przyłęcki** — Warszawa, **L. Rajchman** — Genewa, **S. Sierakowski** — Warszawa, **S. Siengalewicz** — Wilno, **J. Sosnowski** — Warszawa, **H. Sparrow** — Warszawa, **G. Szulc** — Warszawa, **Z. Szymanowski** — Warszawa, **R. Weigl** — Lwów, **C. Wroczyński** — Warszawa, **Fr. Venulet** — Warszawa.



Cena podwójnego zeszytu Zł. 4.

Redakcja i Administracja tel. 883-90 Państw. Zakład Higieny

WARSZAWA, Chocimska 24.

Konto P. K. O. N-r 9223.



Reg. M. Zdr. Pub.
No 298.

Reg. M. Zdr. Pub.
No 295.

Balsam Thiocolan i Balsam Thiocolan c. phitino

są stosowane przez powagi lekarskie całego kraju w

CIERPIENIACH DRÓG ODECHOWYCH

Jesteśmy w posiadaniu kilkuset orzeczeń pp. Lekarzy, podkreślających dodatnie działanie tych środków, co jest

najlepszym świadectwem ich wartości leczniczej.

Preparaty te na I-ej Wystawie Przeciwgruźliczej we Lwowie nagrodzone zostały ZŁOTYM MEDALEM.

DLA PP. LEKARZY PRÓBY i LITERATURĘ WYSYŁAMY BEZPŁATNIE.

Mokotowska Fabryka Chemiczno-Farmaceutyczna

Adolf Gąsecki i Syn w Warszawie, Kantor: Leszno 41.

Gruźlica, grypa, bronchit, roz-
dyma płuc, przewlekły kaszel,
dyschawica. Wszelkiego rodzaju
nieżyt płuc i t. p.

UŻYCIĘ:

3—4 razy dziennie po łyżce de-
serowej, dzieciom stosunkowo
mniej.

Wobec ujawnionych następstw
niektw prosimy W.W. PP. Leka-
rzy o przepisywanie

„Balsamu Thiocolan”
tylko w oryż. opakowaniu.

Cultivacin-Paul

ORYG. BIOPHARMA
NAZWA PRAWNIE ZASTRZEŻONA



Oczekiwane skuteczne
działanie zależy od
prawidłowej techniki szczepienia

NADZWYCZAJ SKUTECZNIE LECZY

RWE KULSZOWA

NERWOBÓLE

GOŚCIEC

MYALGJE

Od 1927 roku
stałe stosowana
klinicznie
i praktycznie.

45
PRAC NAUKOWYCH
potwierdza
pomyślne wyniki
LECZENIA



Typowy odczyn skórny

Przedstawicielstwo i Skład na Polskę i w.m. Gdańsk:

Dom Handlowy R. ARCICHOWSKI

Warszawa, Gal. Luxemburga 61/63. Tel. 613-21. Adres telegr. „Era”.

PREPARATY CZOSNKU

(Allium sativum). Wyrabiane od wielu lat;

TRA ALLII.

Krople czosnkowe.

Cena zł. 1.50

TABL. ALLII.

Ekstrakt czosnku w tabl.

Cena zł. 3.60

CARBALIN GESSNER.

Udoskonalony preparat czosnku i węgla. Cena zł. 4.—

APTEKA

Jana Gessnera

Warszawa, Al. Jerozolimska 11.

WSZECHŚWIAT

PISMO POPULARNO-PRZYRODNICZE

Organ Polskiego Towarzystwa Przyrodników im. Kopernika

Wychodzi w 11 zeszytach rocznie pod redakcją

JANA DEMBOWSKIEGO

PRZY UDZIALE

LUDWIKA WERTENSTEINA

Redakcja i administracja: **WARSZAWA, POLNA 40 m. 10**

P. K. O. **21.650**. Prenumerata roczna zł. 15, półroczna zł. 8.

Zeszyt pojedynczy 1 zł. 50 gr.

Zapomnienie i spokój

nieśie

IRENAL-MOTOR

pewnie

szybko

bez złych następstw

DAWKA KOJĄCA
0.1—0.2

DAWKA NASENNA
0.2—0.4

NOWOŚĆ!



Lek ocucający i wykrztuśny.

CALCIO-CORAMINA „Ciba”

Dwu-pyridino-dwuetylamido-beta-karbonowy rodanek wapnia

Tabletki po 0,4 g.

Do wewnętrznego użytku w

zapaleniu oskrzeli, nieżytach zastoinowych,
zapaleniu płuc, rozedmie płuc, wrzodach
- - płucnych, opuchlinach płucnych i t. d. - -

Wzmoczone działanie wykrztuśne oraz pobudzenie oddechu i krążenia.

Rurki oryginalne po 20 tabletek po 0,4 g.

PABJANICKA SPÓŁKA AKCYJNA PRZEMYSŁU CHEMICZNEGO

WYRÓB POLSKI

Uricedin

jest połączeniem soli zasadowych kwasów roślinnych z podstawowymi składnikami siarczanymi wód zdrojowych.

Przez dowóz alkali kwasów owocowych i przez potęgowanie działania siarczanów, Uricedin pozwala niezasobnym zastępować kosztowną kurację zdrojową leczeniem w domu.

Własności:

rozpuszcza i wydala kwas moczowy,
zmienia reakcję kwaśną moczu na zasadową,
wzmaga utlenianie,
zwiększa rezerwy zasadowe krwi,
usuwa zastoje w krążeniu krwi, zwłaszcza w obrębie żyły wrotnej,
pobudza perystaltykę i diurezę.

Wskazania:

dna, gościec, rwa kulszowa,
choroby nerek i pęcherza,
choroby wątroby i pęcherzyka żółciowego,
zaburzenia żołądkowe, zaparcie, otyłość,
cukrzyca, miażdżyca tętnic

Dawkowanie:

2 — 3 razy dziennie po łyżeczce Uricediny w szklance wody na $\frac{1}{2}$ godziny przed jedzeniem. Ciepły roztwór Uricediny potęguje działanie.

ZAKŁADY PRZEMYSŁOWE CHEMICZNO-FARMACEUTYCZNE

P R O T O N

WARSZAWA, ŚW. STANISŁAWA 9 — 11

MEDYCyna DOŚWIAADCZALNA i SPOŁECZNA

(Dawniej Przegląd Epidemiologiczny).

TOM XVIII.

WARSZAWA 1934

ZESZYT 3-4

Wpłynęło 10.II.1933.

(Z Zakładu Fizjologii Uniwersytetu Jagiellońskiego).

OPORNOŚĆ KRWINEK W SZTUCZNIE OBNIŻONEM CIŚNIENIU.

P o d a l i

JERZY KAULBERSZ i EMIL WISCHNOWITZER

W związku z badaniami oporności krwinek w górach wydało się wskazanem porównanie uzyskanych tam wyników ze zmianami, powstającymi pod wpływem sztucznie obniżonego ciśnienia atmosferycznego. Daje to bowiem możliwość przekonania się, które z pośród czynników, wchodzących w skład klimatu wysokogórskiego grają główną rolę w wywoływaniu tych zmian. Jeżeli rezultaty w obu wypadkach okazałyby się indentycznymi, to przemawiałoby za tem, że sam fakt niskiego ciśnienia i tem samem zmniejszenia ilości tlenu jest tu miarodajnym. Gdyby w komorze pneumatycznej wynik był ujemny, to wskazywałoby, że prawdopodobnie inne czynniki, działające w górach, jak wzmożone promieniowanie, suchość powietrza lub obniżona ciepłota, grają rolę ważniejszą. Można poddawać zwierzęta wpływowi każdego z tych bodźców i analizować w ten sposób działanie klimatu wysokogórskiego.

W badaniach niniejszych chodziło też o stwierdzenie, jak odbijają się na rezystencji krwinek okresowe zmiany wysokości ciśnienia i czas przebywania w komorze pneumatycznej. Zależało również na sprawdzeniu, czy zwierzęta zupełnie białe, podobnie jak w górach, wolniej reagują na obniżone ciśnienie.

Dotychczas badania oporności krwinek zwierząt, trzymanyh w komorach pneumatycznych, przeprowadzała tylko *Klara Naegeli* (1), posługując się przytem wyłącznie królikami. Zwierzęta przebywały 6—8 dni w ciśnieniu wahającym się między—260 mm. Hg i — 340 mm. Hg, jednakowoż tak źle aklimatyzowały się, że w ciągu tego czasu zupełnie prawie nie przyjmowały pożywienia, a niektóre z nich po paru dniach ginęły, wykazując przy sekcji bardzo daleko posunięte otluszczenie wątroby. Wyniki jej, które polegały na stwierdzeniu obniżenia rezystencji minimalnej, a powiększeniu maksymalnej, nie mogą być dlatego uważane za odpowiadające wpływowi niskiego ciśnienia na zdrowe zwierzęta.

Nasze badania przeprowadzane były wyłącznie na świnkach morskich, które doskonale znoszą przez długi przeciąg czasu wpływ ujemnego ciśnienia. Zwierzęta te, trzymane nieraz przeszło miesiąc w komorach pneumatycznych o ciśnieniu —260 do—380 mm Hg, zachowywały się zupełnie normalnie, przyjmowały pożywienie i przy dobrem działaniu wentylu nigdy nie ginęły. Podczas gdy *Naegeli* wyjmowała króliki codziennie na 2—3 godziny z komory, u nas świnki morskie uwalniane były z pod wpływu ujemnego ciśnienia tylko na parę minut, w celu wyczyszczenia skrzyni i włożenia pożywienia, składającego się zwykle z marchwi i pszenicy.

Za komorę pneumatyczną służyła skrzynia z drzewa jodłowego, pokryta dyktą, i obita nazewnątrz blachą. Pośrodku górnej ściany znajdowała się wystająca 3 cm ponad jej poziom pokrywka z 2-ma okienkami szczelnie przylegająca do blachy przez pośrednictwo plasteliny. Tędy od góry codziennie czyszczono wnętrze i wkładano pożywienie. Pozatem małe okienko umieszczone było w jednej z bocznych ścian.

Komora łączyła się rurami szklanemi i kauczukowemi o grubej ścianie z jednej strony z pompą ssąco-tłoczącą, wprowadzaną w ruch zapomocą elektromotoru, z drugiej strony z wentylem i rurą z rtęcią, umożliwiającą określenie panującego w komorze ciśnienia.

Wentyl, doprowadzający powietrze, urządzony był podobnie do stosowanego w doświadczeniach *Lintzela* (2). Szklana rura o średnicy $1\frac{1}{2}$ —1 cm i długości 50 cm przytrzymywaną była zapo-

mocą statywu i zanurzana do rtęci, umieszczonej w dwukrotnie szerszem szklanym naczyniu o wysokości 30 cm. Przez korek, zalany klejem Mendelejewa, zamykający od góry tę rurę, przechodziły 2 szklane wąskie rurki: jedna o średnicy większej służyła do połączenia z komorą, druga bardzo wąska, w której umieszczano swobodnie szpilkę tam się poruszającą, grała rolę wentylu. Przy wytwarzaniu ujemnego ciśnienia w komorze rtęć podnosiła się do góry w zanurzonej do rtęci rurze szklanej i przesuwiała na swej powierzchni znajdujący się korek, który, uderzając o dolny koniec szpilki, otwierał wentyl. Ciągłe bardzo nieznaczne podnoszenie i opadanie szpilki, a przedewszystkiem dobrze słyszany syk, świadczyły, że wentyl należy funkcjonuje. Z wysokości podniesionej rtęci określić można było ciśnienie, panujące w skrzyni. Wymiary komory wynosiły: długość 62 cm, szerokość 40 cm i wysokość 35 cm.

Metoda, zastosowana do oznaczenia rezystencji krwinek wobec osmozy i saponiny, niczem nie różniła się od opisanej w pracach jednego z nas (4) o oporności krwinek w górach i na równinie. Również ilość retikulocytów oznaczana była, jak w poprzednich pracach, przez barwienie przyżyciowe brylantyną krezylową.

W y n i k i.

Ilość oznaczeń oporności wobec osmozy wynosiła 28 wobec saponiny 18.

Już po 24 — 48 godzinach przebywania w ciśnieniu 380 mm Hg, czyli w $\frac{1}{2}$ ciśnienia atmosferycznego, powstawały bardzo charakterystyczne zmiany w obrazie krwi. W miejsce 0,6—1,2% retikulocytów stwierdzanych w ciśnieniu zwykłym, ilość ich podnosiła się do 3,1%. Oporność minimalna wzmożona była o 0,02%, maksymalna o 0,08%, a we wszystkich roztworach pośrednich, jak wykazuje kolumna 2, tablicy 1, uwydatniał się mniejszy % hemolizy. Zależność od wysokości ciśnienia grała tu rolę bardzo ważną. Poddając zwierzę działaniu ciśnienia — 120 mm, zmian tak wyraźnych nie uzyskiwało się, jednak i tutaj można było spostrzec wzmożenie oporności jednocześnie z powiększeniem ilości retikulocytów do 2,5%. Nigdy nie dochodziło w pierwszych dniach do

obserwowanego na królikach przez *Eliasa* i współpracowników (3), obniżenia oporności krwinek, które autorowie ci uważają za następstwo wyrzucania przez śledzionę z magazynowanych tam ciałek czerwonych o małej wytrzymałości. Przeciwnie, już po tak krótkim pobycie w komorze wzrasta oporność jednocześnie ze zjawieniem się większej ilości retikulocytów w krwiobiegu. To ostatnie zjawisko jest zawsze tak wyraźne, że uzyskać je można stale, jakby na zawołanie. Natomiast powiększenie oporności w niektórych wyjątkowych wypadkach może nie być tak jaskrawo zaznaczone.

Po 5 dniach przebywania zwierząt w niskim ciśnieniu rezystencję krwinek badaliśmy 7 razy. Z tego w 5 wypadkach nastąpiło wyraźne powiększenie oporności zarówno minimalnej, jak i maksymalnej. Wytrzymałość minimalna rosła w sposób prawie że całkiem jednakowy w ciśnieniu—250 mmHg i—320 do—380 mmHg. Natomiast w roztworach bardziej hypotonicznych, a przede wszystkim w odpowiadających rezystencji maksymalnej, przy mniejszym obniżeniu ciśnienia (do—250 mm Hg) oporność wzrastała się stosunkowo silniej, niż przy spadku znacznie większym (—320 do—380 mm Hg) (tabl. 1, 3-a kolumna). Ilość retikulocytów wynosiła przy ciśnieniu — 250 mm Hg 4 — 5 %, przy — 32 do — 38 cm Hg, 7,6 do 10,3 %. Pomimo więc, że w ciśnieniu niższym ilość młodych krwinek w większym stopniu się wzrastała, to jednak wzrost oporności okazywał się tu mniej wybitny, prawdopodobnie z powodu większych procesów rozpadowych; brak było proporcjonalności między powiększeniem oporności i ilości retikulocytów. W łączności z tem ogólna ilość erytrocytów okazywała się większa w ciśnieniu — 24 niż —32 i —38 cm Hg 5,2 wobec 4,6 miliona w 1 mm³.

W 2 badaniach, przeprowadzonych po 12 dniach, większy wzrost oporności uwydatnił się w ciśnieniu bardziej ujemnem, dotyczyło to jednak tylko wytrzymałości względem bardziej hypotonicznych roztworów. Przy — 32 cm Hg rosła szczególnie oporność maksymalna, podczas gdy przy hypotonji słabszej wytrzymałość okazywała się w bardziej, rozcieńczonem ciśnieniu mniejsza, niż w — 24 cm Hg. Ilość retikulocytów dochodziła do 13,7 %.

W trzech dalszych doświadczeniach badana była rezystencja krwinek i ilość retikulocytów po 19 — 20 dniach przebywania

T A B L I C A I.

Świnki morskie. Oporność osmotyczna. Hemolizy ‰.

NaCl ‰	Średnia z 12-u oznaczeń w normalnych warunkach	Po 24 — 48 godzinach w ciśnieniu		Po 5 dniach w ciśnieniu		Po 12 dniach		Po 19—20 dn. w —32cmHgśred. nia z 3 oznaczeń	Po 5 dniach w—32 cm Hg	Biała św. mor- ska po 2 dniach w—27 cm Hg
		—12 cm Hg	—38 cm Hg	—25 cm Hg	Średnia z 5 oznaczeń w—32 do —38cmHg	—12 cm Hg	—32 cm Hg			
0,85	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
0,52	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
0,50	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
0,48	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
0,46	2	1	1	1	1	1	1	1	1	2
0,44	2	2 ¹ / ₂	1	1 ¹ / ₄	1 ¹ / ₅	1	1	3 ¹ / ₂	2	2
0,42	3	3 ¹ / ₂	2	1 ¹ / ₄	1 ¹ / ₅	1	2	4 ¹ / ₃	2 ¹ / ₂	2 ¹ / ₂
0,40	7	4 ¹ / ₂	2 ¹ / ₂	2 ¹ / ₄	1 ² / ₅	2	2 ¹ / ₂	24	3	3
0,38	28	8	5	3 ¹ / ₄	2 ¹ / ₂	2 ¹ / ₂	10	43 ¹ / ₃	5	3
0,36	35	20	10	5 ¹ / ₄	12 ¹ / ₂	6—7	10	51 ² / ₂	12 ¹ / ₂	5
0,34	75	50	40	27 ¹ / ₂	45	70	25	63 ¹ / ₂	30	60
0,32	90	80	70	67 ¹ / ₂	57 ¹ / ₂	90	70	70	70	100
0,30	100	100	80	82 ¹ / ₂	85	100	70	80	80	„
0,28	„	„	90	90	100	„	80	83 ¹ / ₂	90	„
0,26	„	„	95	95	„	„	90	90	„	„
0,24	„	„	100	100	„	„	100	96 ² / ₃	„	„
0,22	„	„	„	„	„	„	„	100	100	„
0,20										
		Retikulocyty 3,1‰		Retik. 4,45‰	Retik. 8,95‰		Retik. 13,7‰	Retik. 10‰	Retik. 10‰	Retik. 3,2‰

w ciśnieniu—32 cm Hg. We wszystkich trzech oznaczeniach nie można było stwierdzić większego wzmoczenia rezystencji, przeciwnie następowało dość wybitne obniżenie w stosunku do wyników, uzyskanych po 5 wzgl. 12 dniach. Obniżenie to dotyczyło jednak tylko rezystencji minimalnej i wytrzymałości względem słabszych roztworów hypotonicznych; maksymalna pozostawała niezmienioną, lub nawet wzmagala się dalej. Tutaj świnki morskie znajdowały się jakby w tym okresie zmian, powstających we krwi pod wpływem ujemnego ciśnienia, które obserwowała *Naegeli* już po kilku dniach u królików: zmniejszenia oporności minimalnej, a powiększenia maksymalnej. Retikulocytoza wynosiła 7 do 10%.

W doświadczeniu, zrobionem po 35 dniach trzymania świnki morskiej w ciśnieniu—320 mm Hg, ilość retikulocytów również wynosiła 10%. W porównaniu ze zmniejszoną opornością po 19—20 dniach tutaj znów nastąpiło pewne podwyższenie, szczególnie w bardziej hypotonicznych roztworach oporność jeszcze więcej wzrosła. Jeśli porównać wyniki otrzymywane po 35 dniach i po 20 dniach, to różnica dotyczy, tylko wytrzymałości w stężeniach powyżej 0,34% NaCl, natomiast we wszystkich bardziej hypotonicznych roztworach cyfry są do siebie zbliżone.

Ostatni ślad osadu krwinek po odwirowaniu, czyli właściwa rezystencja maksymalna, w różnie obniżonem ciśnieniu przypadały na roztwory 0,22 do 0,16% NaCl.

W związku z rezultatami, otrzymanymi w górach, (na Gornegat 3100 m) było rzeczą ciekawą sprawdzić, czy białe świnki morskie, które w górach w znacznie mniejszym stopniu podlegały wpływowi klimatu wysokogórskiego i wolniej wykazywały charakterystyczne zmiany we krwi, reagują również w komorze pneumatycznej inaczej, aniżeli zabarwione. Okazało się, że po 3 dniach przebywania w ciśnieniu—270 mm Hg całkiem biała świnka morska wykazywała hemolizę pełną w 0,32% NaCl, a więc w tem samym stężeniu co w ciśnieniu normalnem, w roztworach jednak mniej hypotonicznych oporność była powiększona i odpowiadała wzmoczonej rezystencji innych świnek. Retikulocyty stanowiły 3,2% wszystkich erytrocytów. Podczas gdy w górach zarówno oporność minimalna, jak maksymalna, nie były wcale powiększone, tutaj to odrębne zachowanie się białych świnek do-

tyczyło tylko rezystencji maksymalnej. W każdym razie i w komorze pneumatycznej bezbarwne zwierzęta inaczej reagowały, aniżeli zabarwione.

Oporność wobec *saponiny* w komorach pneumatycznych badaliśmy we wszystkich wypadkach jednocześnie z rezystencją osmotyczną. Już po 2 dniach przebywania w ciśnieniu—32 cm Hg obniżała się rezystencja minimalna i maksymalna. Podczas gdy w zwykłych warunkach w 0,3 cm³ *saponiny*¹⁾ dochodziło do początku hemolizy, to w komorze pneumatycznej przy — 32 cm Hg, już w 0,2 cm³. Pełna hemoliza powstająca w warunkach zwykłych przeciętnie w 1,7 cm³ *saponiny*, po 24 do 48 godzin przebywania w—32 cm Hg przypadała na 1,2 cm³ *saponiny*. We wszystkich roztworach pośrednich również ‰ hemolizy był większy, czyli oporność krwinek mniejsza. Kolumna II przedstawia średnią z dwu doświadczeń. Resztką osadu krwinek znikała w 1,9 cm³ *saponiny*.

Po 5 dniach przebywania w ciśnieniu — 250 mm Hg obniżenie oporności było mniejsze, niż po 2 dniach w—320 mm Hg, jednak wyraźne wobec normy w warunkach zwykłych. Średnia z 6-u doświadczeń, zrobionych po 5 dniach trzymania zwierząt w ciśnieniu—32 do —38 cm Hg (kolumna 4, w tablicy 2), wykazywała, wyraźny spadek w porównaniu z średnią w warunkach zwykłych. Tylko oporność względem najsilniejszych roztworów pozostawała niezmienną.

Po 12 dniach (I.II.32) obniżenie oporności było znaczniejsze, osłabła przede wszystkim oporność minimalna.

Po 19 — 20 dniach nie można już było stwierdzić, dalszego obniżenia wytrzymałości krwinek w większości roztworów, procent hemolizy pozostawał ten sam, tylko oporność maksymalna rosła, a więc i hemoliza pełna, mierzona kolorymetrycznie, uwydatniała się w roztworach dopiero bardziej stężonych (tabl. 2, kolumna 6).

Po 35 dniach oporność maksymalna była jeszcze bardziej powiększona, również w słabszych roztworach *saponiny* powstawał mniejszy procent hemolizy, tylko rezystencja minimalna pozostawała niezmienną (tabl. II, kolumna 7).

¹⁾ Patrz tablica II.

T A B L I C A I I .
Świnki morskie. Oporność wobec saponiny. Hemolizy $\%$.

Roztwory				Średnia z 12 oznaczeń przed włożeniem do komory pneumat.	Średnia z 2 oznaczeń po 24 — 48 godzinach w — 38 cm Hg	Po 5 dniach w — 25 cm Hg	Średnia z 6 oznaczeń po 5 dniach w — 32 do 38 cm Hg	Średnia z 3 oznaczeń po 12 dniach w — 39 cm Hg	Średnia z 3 oznaczeń po 19 — 20 dniach w — 32 cm Hg	Po 35 dniach w — 32 cm Hg	Biała św. morska po 2 dniach w — 27 cm Hg
0,1 cm ³ sapon. + 1,9 cm ³ NaCl 0,85%				1	1	1		1			
0,2	..	1,8	..	1	1 $\frac{1}{2}$	1	1 $\frac{1}{4}$	2 $\frac{1}{2}$	1 $\frac{1}{2}$	1 $\frac{1}{2}$	2 $\frac{1}{2}$
0,3	..	1,7	..	2	2	2	2	2 $\frac{1}{2}$	2	2	2 $\frac{1}{2}$
0,4	..	1,6	..	2	3	2		4	4 $\frac{1}{3}$	4	5
0,5	..	1,5	..	2	5	3 $\frac{1}{2}$	4	8	7 $\frac{1}{2}$	5	7 $\frac{1}{2}$
0,6	..	1,4	..	2 $\frac{1}{2}$	7 $\frac{1}{2}$	7 $\frac{1}{2}$	5	10	14 $\frac{1}{2}$	10	15
0,7	..	1,3	..	4	27 $\frac{1}{2}$	15	10 $\frac{1}{2}$	20	18 $\frac{1}{2}$	10	40
0,8	..	1,2	..	8	55	28	22	25	25	15	60
0,9	..	1,1	..	14	65	40	35	30	35	15	60
1,0	..	1,0	..	24	65	55	46	50	46 $\frac{2}{3}$	25	70
1,1	..	0,9	..	40	85	70	66	70	61 $\frac{2}{3}$	30	80
1,2	..	0,8	..	60	100	90	66	90	73 $\frac{1}{3}$	40	90
1,3	..	0,7	..	80	..	100	80	90	80	50	100
1,4	..	0,6	..	85	..	..	91	100	83 $\frac{1}{3}$	80	..
1,5	..	0,5	..	90	..	..	93	..	90	..	..
1,6	..	0,4	..	95	..	..	98	..	93 $\frac{1}{3}$	..	..
1,7	..	0,3	..	100	..	..	100	..	100	90	..
1,8	..	0,2	..	..	..	..	..	..	..	..	..
1,9	..	0,1	..	..	..	..	..	..	..	100	..
2,0	..	0	..	..	..	..	..	..	..	..	..

Oporność białej świnki morskiej na saponinę po 3 dniach przebywania w—270 mm Hg obniżyła się w tym samym stopniu, co i u innych zwierząt (tabl. 2, kolumna 8). W kolumnie 2 i 8 cyfry są do siebie zbliżone. Spotykamy się więc tu z tem samem zjawiskiem, co i w górach: białe świnki morskie reagują wolniej na osmozę, podczas gdy w stosunku do saponiny zmiany u nich powstające nie różnią się od reakcji zwierząt barwnych.

Streszczenie i wnioski.

Wynikiem doświadczeń, odnoszących się do wpływu ujemnego ciśnienia na wytrzymałość krwinek, jest stwierdzenie, że, podobnie jak w górach, tak i w komorze pneumatycznej powstaje bardzo szybko wzmożenie rezystencji względem osmozy, zarówno minimalnej, jak i maksymalnej, osiągające najwyższy poziom już w drugim tygodniu. Później rezystencja minimalna zaczyna się zmniejszać, podczas gdy maksymalna rośnie dalej. Już po 12 dniach w ciśnieniu—320 mm Hg zauważyć się daje pewien spadek minimalnej rezystencji, który po 19—20 dniach osiąga najwyższy stopień, rezystencja maksymalna rośnie zaś dalej. Po 35 dniach rezystencja minimalna znów okazuje się trochę większa, nie przekracza jednak poziomu, osiągniętego w pierwszych dniach przebywania zwierząt w sztucznie obniżonem ciśnieniu. Dłuższe pozostawienie więc świnek morskich w komorach pneumatycznych nie powiększa już dalej, podobnie jak dłuższy pobyt w górach, szybko powstającego, przejściowo potem zanikającego, wzmożenia oporności. Aklimatyzacja następuje bardzo prędko, świnka morska jest wysoce czułym wskaźnikiem spadku ciśnienia atmosferycznego i łatwo potrafi się do niego dostosować. Przy mniej znacznem obniżeniu ciśnienia do aklimatyzacji dochodzi jeszcze prędzej np. po 5 dniach pozostawienia zwierząt w—250 mm Hg, oporność powiększała się bardziej, niż w—320 mm Hg.

Ilość retikulocytów rośnie w obniżonem ciśnieniu tem więcej, im niższe stosuje się ciśnienie. Poziom osiągnięty w 5 — 12 dni nie zostaje już potem przekroczony.

Świnki białe, podobnie jak w górach, wolniej reagują na zmiany ciśnienia, nie dochodzi u nich bowiem tak prędko do wzmożenia rezystencji maksymalnej.

Ze wzrostem oporności osmotycznej obniża się ogromnie w komorach pneumatycznych wytrzymałość krwinek względem saponiny. Zmiana ta jest jeszcze bardziej stała, aniżeli wzmożenie rezystencji wobec osmozy. Powstaje już po 24 — 48 godzinach w stopniu najwyższym (tabl. 2, kolumna 2), a po 5 dniach wyraźniejsza jest u zwierząt, trzymanyh w — 250 mm Hg, niż w—320 mm Hg. Po 12 i 20 dniach obniżenie rezystencji w roztworach słabszych okazywało się bardzo znaczne, natomiast wytrzymałość końcowa rosła, hemoliza pełna zjawiała się dopiero w większem stężeniu. Po 35 dniach zauważyć można było zarówno w roztworach słabych, jak i silniejszych, wzmożenie oporności, a więc zmianę przeciwną do początkowo występującej, podobnie, jak i w górach po dłuższym pobycie. Zmiany oporności względem saponiny przebiegają naogół tak samo jak w górach, czyli w kierunku odwrotnym do zmian względem osmozy, chociaż i tutaj zdarzają się wyjątki. Ta ogromnie powiększona wrażliwość krwinek na działanie saponiny zgadza się ze spostrzeżeniem, zrobionem przez jednego z nas w Davos, że oporność krwinek wobec saponiny u morskich świnek jest tam bardzo obniżona, podczas gdy wobec osmozy pozostaje niezmienną w porównaniu do równiny.

Wyniki powyższe uprawniają do wniosku, że zmiany oporności krwinek, powstające w górach, są następstwem zmniejszonego ciśnienia i obniżonej prężności tlenu, że natomiast czynniki inne, jak wzmożone promieniowanie, zimno, suchość powietrza i inne nie grają tu w każdym razie roli decydującej.

Institut de physiologie de l'Université de Cracovie.

LA RÉSISTANCE DES ÉRYTHROCYTES DANS L'AIR ARTIFICIELLEMENT RAREFIÉ.

Par JERZY KAULBERSZ et EMIL WISCHNOWITZER

R É S U M É.

Ce travail présente les résultats des recherches sur la résistance des globules rouges des cobayes sous l'influence de l'air rarefié dans les boîtes pneumatiques. Aussi bien que dans la haute montagne il se produit ici une augmentation prompte, de la résistance à l'osmose, qui atteint la plus grande élévation au commencement de la seconde semaine. Après 12 jours passés sous une pression de — 330 mm Hg, on observe déjà une décroissance de la résistance minimale qui est vers le 20-ième jour la plus distincte, tandis que la résistance maximale augmente à mesure que dure le séjour dans la boîte pneumatique. Au bout de 35 jours la résistance minimale est de nouveau un peu plus élevée, mais elle ne surpasse pas le niveau de la résistance dans les premiers jours passés sous une pression artificiellement diminuée. Ainsi un long séjour dans une boîte pneumatique, aussi bien que dans la haute montagne, n'augmente plus la résistance minimale chez les cobayes en comparaison avec l'accroissement pendant la première quinzaine des jours. Si la diminution de la pression atmosphérique est plus faible, p. ex — 250 mm Hg, l'augmentation de la résistance après quelques jours est encore plus distincte.

La quantité de réticulocytes augmente davantage sous l'influence d'une pression fortement diminuée que sous une diminution légère. Après 12 jours passés dans la boîte pneumatique sous une pression constante, la quantité de réticulocytes ne s'élève plus.

Les cobayes au pelage blanc réagissent plus lentement, la résistance de leurs globules s'élève dans les boîtes pneumatiques seulement après un séjour plus prolongé que chez les autres cobayes. En même temps que la résistance osmotique augmente,

il se produit dans les boîtes pneumatiques une diminution de la résistance à la saponine. Elle est toujours très distincte déjà après 24 — 48 heures. Après 5 jours elle est plus marquée chez les animaux séjournants sous — 250 mm Hg que sous — 320 mm Hg. Après 35 jours on pouvait constater aussi bien dans les solutions plus faibles, que dans les plus fortes, une certaine augmentation de la résistance, un changement analogue à ceci, qu'on observe dans la haute montagne après un temps plus prolongé.

Ces résultats nous permettent de tirer la conclusion, que les changements de la résistance des globules rouges dans la haute montagne présentent la conséquence d'une diminution de la pression et de la tension de l'oxygène tandis que les autres facteurs, comme la radiation, le froid, la secheresse de l'air, ne sont pas ici d'une importance décisive.

P I Ś M I E N N I C T W O.

1) Clara Naegeli. Biol. Ztschr. Nr. 95, 1931, 231. 2) Elias Kasswitz, Singer. Wiener kl. Wochschr. 1932. 3) Lintzel W. Zeitschr. für Biologie Bd. 87, 1928, s. 137. 4) Kaulbersz Jerzy. Medyc. Dóśw. i Społ. 1933. Bulletin de l'Academie polonaise des sciences et des lettres classe de Médecine 1932, s. 261.



Wpłynęło 1.IV.1933.

(Z Zakładu Patologii Ogólnej i Doświadczalnej Uniwersytetu Warszawskiego,
Kier. Prof. Dr. F. Venulet).

WPŁYW WYCIĄGÓW MIĘŚNIOWYCH NA POZIOM CUKRU WE KRWI.

P o d a ł

FRANCISZEK GOEBEL.

Komórki zużytkowują w czasie pracy cukier, wątroba zaś ma za zadanie dostarczanie tkankom nowych ilości glukozy przez uruchomienie zapasów swego glikogenu. O ile tkanki cukru już nie potrzebują, wtedy ustaje mobilizacja glikogenu wątrobowego.

Claude Bernard przypuszczał, że zjawisko to odbywa się, za pośrednictwem odruchu poprzez rdzeń przedłużony. *Noorden*, a ostatnio i *Pártos* decydującą rolę w mobilizowaniu glikogenu wątrobowego przypisują kwasowi mlekowemu; *Elias* znów sądzi, że regulatorem tej sprawy jest przesunięcie równowagi kwasowo-zasadowej w stronę kwaśną.

Ostatnio *G. Hetényi* wypowiada przypuszczenie, że przyczyną uruchomienia glikogenu wątroby są ciała powstałe w mięśniach i narządach w razie głodu węglowodanowego; ciała te bezpośrednio pobudzają wątrobę do mobilizacji glikogenu przez co tkanki otrzymują niezbędny im cukier.

Wymieniony autor przygotowywał wyciągi z mięśni i narządów zwierząt zdrowych i dobrze odżywionych; wyciągi te zastrzykiwał innym zwierzętom u których następnie badał zachowanie.

się poziomu cukru we krwi. Okazało się, że wyciągi zarówno z mięśni jak i z narządów zwierząt normalnych nie wywierają wpływu na poziom cukru we krwi. Natomiast wyciągi z mięśni lub narządów królików i psów, znajdujących się w okresie głodu węglowodanowego, zastrzyknięte innym zwierzętom, powodują znaczne podniesienie się poziomu cukru we krwi, posiadając zdolność mobilizowania glikogenu wątrobowego.

W celu sprawdzenia danych *Hetényi'ego* oraz ewentualnego ich uzupełnienia, wykonałem szereg doświadczeń. Naprzód przyrządziłem wyciągi z mięśni królików normalnych według metody *Hetényi'ego*.

W tym celu 100 gr mięśni królika, pozbawionych tłuszczu i powięzi, zmielono w maszynce od mięsa, na jednolitą miazgę. Miazgę tę trzykrotnie wyciągano zapomocą 100 cm³ 0,7% roztworu chlorku sodu. Z pierwszą porcją soli kuchennej (33 cm³) pozostawiano zmielone mięśnie w ciepłocie pokojowej w ciągu 15 — 20 minut. Potem ogrzewano je szybko do 50° C dodawano 0,7 cm³ 4n kw. siarkowego. Mieszaninę utrzymywano w temp. 50° przez 5 minut, potem sączono przez płótno w ciepłocie 35 — 40° C. Pozostałość po przesączeniu zadawano następną porcję roztworu soli kuchennej i ogrzewano do 75°. Znów dodawano 0,7 cm³ 4n kwasu siarkowego i mieszaninę trzymano w ciepłocie 75° C przez 5 min., poczem sączono w temp. 40°. Wyciąganie po raz trzeci jak poprzednio, odbywało się już w temperaturze 100° w ciągu 1 — 2 min. Połączone wyciągi odbiałczono. Mętnawy, żółty wyciąg, bez względu na powstały osad, ogrzewano, stale mieszając; w ciepłocie 68 — 72° ścinają się białka zawieszane oraz rozpuszczone. Następnie temperaturę podnosi się do 75—78° i dodaje się powoli, stale mieszając, liq. ferri oxychlorati, tak długo, aż osad powstający stanie się brunatny, a powierzchnia płynu przestanie się pienić. Zazwyczaj do odbiałczenia 100 cm³ wyciągu, zużywa się 9,6 — 11,7 cm³ liq. ferri oxydati. Przesącz zlekką żółtawo zabarwiony, sprawdza się na nieobecność białka zapomocą kwasu sulfosalicylowego. Odbiałczony wyciąg zagęszcza się na łaźni wodnej w temp. 40° C. w ten sposób żeby cm³ wyciągu odpowiadał 1 gr mięśni. Wyciągi takie posiadają odczyn słabo kwaśny, są pozbawione białka i wolne od żelaza.

Można również przygotowywać wyciągi obojętne (bez dodawania kwasu) lub zasadowe, używając zamiast kwasu $n||\text{NaOH}$.

Otrzymane w sposób powyższy wyciągi mięśniowe królików normalnych podawano dożylnie psom i królikom w ilości 1 cm^3 na 1 kg wagi ciała i następnie badano poziom cukru we krwi (makrometodą Macleana) w odstępach $15'$, $30'$, 1h , 2h , 3h . Wyciągi takie zgodnie z założeniem nie wywoływały wahań w poziomie cukru we krwi (tablica I).

T A B L I C A I.

	Poziom cukru w 100 cm^3 krwi					
	Przed podaniem wyciągu	Po podaniu wyciągu				
		$15'$	$30'$	1h	2h	3h
3.III.31. Pies 21 kg , 21 cm^3 dożylnie wyciągu mięśniowego z królika normalnego.	0.085	0.085	0.085	0.085	0.085	0.086
7.III.31. Suka 10 kg , 10 cm^3 wyciągu mięśniowego z królika normalnego	0.095	0.095	0.090	0.098	0.096	0.096
8.III.31. Pies wagi 14.2 kg , otrzymał dożylnie 14.2 cm^3 wyciągu mięśniowego z królika normalnego.	0.077	0.077	0.080	0.077	0.079	0.075
11.III.31. Królik 3.2 kg , otrzymał dożylnie 3.2 cm^3 wyciągu mięśniowego z królika normalnego.	0.090	0.092	0.090	0.095	0.095	0.093
14.III.31. Królik 2.8 kg , otrzymał dożylnie 2.8 cm^3 wyciągu mięśniowego z królika normalnego.	0.098	0.098	0.100	0.101	0.097	0.097

W dalszych badaniach sporządzano wyciągi z mięśni królików, pozbawionych zapasów glikogenu. W tym celu zwierzęta głodzano przez dni kilka; jednocześnie co drugi dzień wprowadzano podskórnie florydzynę, w ilości 1 gr w 20% roztworze oliwy. Po dwóch lub trzech wstrzyknięciach dawano jednorazowo pod-

skórnie 1,5 mgr. strychniny. Wskutek wywołanych drgawek pozostały jeszcze po głodzeniu glikogen został zmobilizowany i zużyty; zwierzęta zabijano, z ich mięśni przygotowywano wyciągi.

Okazało się, że na siedem badanych wyciągów pięć posiadało własność podnoszenia poziomu cukru we krwi (od 19,5 do 42,8%) dwa były nieczynne, czyli nie wywierały żadnego wpływu na zachowanie się cukru we krwi (tablica 2).

T A B L I C A II.

	Poziom cukru w 100 cm ³ krwi					
	Przed podaniem wyciągu	Po podaniu wyciągu				
		15'	30'	1h	2h	3h
26.II.31. Pies 8 kg. 8 cm ³ dożylnie wyciągu mięśni królika pozbawionego zapasów glikogenu.	0,070	0,075	0,100	0,100	0,098	0,130
27.II.31. Pies 12 kg. 12 cm ³ dożylnie wyciągu mięśni królika pozbawionego glikogenu.	0,080	0,081	0,082	0,082	0,082	0,080
2.III.31. Pies 18 kg. 18 cm ³ dożylnie wyciągu mięśni królika pozbawionego zapasów glikog.	0,092	0,100	0,100	0,110	0,110	0,110
8.III.31. Pies 11 kg. 11 cm ³ dożylnie wyciągu mięśni królika pozbawionego zapasów glikog.	0,090	0,100	0,110	0,110	0,100	0,100
11.III.31. Suka 17 kg. 17 cm ³ wyciągu mięśni królika pozbawionego glikogenu.	0,095	0,100	0,100	0,100	0,110	0,110
14.III.31. Królik 3,2 kg. 5 cm ³ dożylnie wyciągu mięśni królika pozbawionego glikogenu.	0,090	0,098	0,110	0,112	0,110	0,108
17.III.31. Królik 2,8 kg. 3 cm ³ dożylnie wyciągu mięśni królika pozbawionego glikogenu.	0,085	0,087	0,085	0,085	0,085	0,087

Zachodzi więc pewna rozbieżność między wynikami naszymi a *Helënyi'ego*, który w tych samych warunkach po stosowaniu

wyciągów stale i bez wyjątku stwierdzał nawet znaczniejszą jeszcze hiperglikemję.

Pomimo tej pewnej rozbieżności musimy potwierdzić ciekawy fakt spostrzeżony przez *Helényi'ego*, że w przeciwieństwie do wyciągów z mięśni normalnych, które żadnego wpływu na cukier krwi nie wywierają, wyciągi z mięśni zwierząt pozbawionych glikogenu, przeważnie powodują przecukrzenie krwi.

Wobec tego postanowiliśmy rozszerzyć zakres naszych badań. Chodziło nam o ustalenie czy i jaką rolę pośród czynników oddziałujących na własność wyciągów, odgrywają gruczoły wkrwne, ograniczając się na razie do gruczołu tarczowego.

Wiadomo, że nadczynność tarczycy zmniejsza zdolność asymilacyjną dla cukru oraz ułatwia mobilizację glikogenu wątrobowego. Stąd obciążenie węglowodanowe w takich stanach (hyperthyreoidismus) prowadzi do silnego przecukrzenia krwi i często sprowadza cukromocz. Stwierdzono dalej (Mansfeld), że serce izolowane królika, wyjęte w czasie podniesionej ciepłoty, której towarzyszy wzmożenie czynności tarczycy, zużywa znacznie więcej cukru, niż serce królika normalnego. Zwiększone zużytkowywanie cukru przez mięsień sercowy królików z podniesioną ciepłotą nie występuje u zwierząt, pozbawionych tarczycy.

Ewentualny wpływ tarczycy na własności hiperglikemizujące wyciągów mięśniowych badaliśmy w dwóch kierunkach. Z jednej strony u pewnej grupy zwierząt normalnych wywoływaliśmy stan nadczynności tarczycy przez podawanie tarczycy, w drugiej odwrotnie wytwarzaliśmy atyreozę przez usunięcie tarczycy.

Doświadczenia z hipertyreozą.

W tym celu podawano królikom podskórnie w ciągu trzech tygodni co drugi dzień 1 cm³ extr. gland thyroid. (w ilości odpowiadającej 0,25 gr subst. gruczołowej). Następnie w 2 — 3 tygodnie po zaprzestaniu podawania tarczycy, zwierzęta zabijano, a z mięśni ich przygotowywano wyciągi, jak wyżej. Wyciągi takie, posiadają wybitne własności hiperglikemizujące. Przecukrzenie krwi jest bardzo znaczne, gdyż wynosi od 37,5 do 128,5 % (tablica 3).

T A B L I C A III.

	Poziom cukru w 100 cm ³ krwi w gr					
	Przed podaniem wyciągu	Po podaniu wyciągu				
		15'	30'	1h	2h	3h
4.V.31. Pies 10 kg. 10 cm ⁵ wyciągu mięśni królika, który otrzymywał tarczycę.	0.098	0.080	0.110	0.080	0.080	0.082
7.V.31. Pies 10 kg. 10 cm ³ wyciągu mięśni królika, który otrzymywał tarczycę.	0.070	0.140	0.160	0.105	0.105	0.090
27.V.31. Królik 2.5 kg. 5 cm ³ wyciągu mięśni królika, otrzymującego tarczycę.	0.090	0.120	0.120	0.110	0.125	0.100
1.VI.31. Pies 14 kg. 14 cm ³ wyciągu mięśni królika, który otrzymywał tarczycę.	0.095	0.110	0.115	0.117	0.110	0.105

Doświadczenia nasze przemawiają za tem, że w mięśniach królików, którym podawano nadmiar hormonu tarczycy, znajdują się ciała, wywierające znaczny wpływ na przemianę węglowodanową, powodując zapewne wzmożenie glikogenolizy w wątrobie.

Wykluczone jest, żeby działanie hyperglikemizujące wyciągów było zależne od obecności w nich hormonu tarczycy. Jak wykazały bowiem doświadczenia *G. Asimoffa*, *E. Estrina* i *S. Mileckiej* nawet po podaniu bardzo wielkich ilości tarczycy (25,0 — 30,0 gr) naraz, u kur już po 24 godz. w mięśniach znajdowano tylko ślady jodu. W naszych zaś doświadczeniach nie tylko nie stosowano tak wielkich ilości tarczycy, lecz po zaprzestaniu podawania hormonu zwierzęta żyły jeszcze 2 — 3 tygodnie.

Doświadczenia z atyreozą.

Zmniejszona czynność tarczycy wywiera odmienny wpływ na przemianę węglowodanową. Wprowadzone węglowodany nie spalają się łatwo, lecz zostają magazynowane. Stąd zdolności asymi-

lacyjne są u zwierząt beztarczycowych znacznie wzmożone. U zwierząt takich po zadziałaniu adrenaliny glikogen mobilizuje się znacznie trudniej, niż u zwierząt normalnych.

W celu przekonania się o własnościach wyciągów z mięśni beztarczyczych, królikom w uśpieniu eterowem usuwano tarczycę. Po 15 — 20 dniach zwierzęta zabijano i z mięśni ich przygotowywano wyciągi.

Wyciągi takie wywołują bądź nieznaczne obniżanie się poziomu cukru we krwi, bądź też wcale nań nie wpływają (tablica 4).

T A B L I C A IV.

	Poziom cukru we krwi w 100 cm ³ w gr					
	Przed podaniem wyciągu	Po podaniu wyciągu				
		15'	30'	1h	2h	3h
7.VI.31. Pies 13 kg. 15 cm ³ wyciągu z mięśni królika beztarczycowego dożylnie.	0.105	0.100	0.100	0.105	0.105	—
11.VI.31. Pies 8 kg. 8 cm ³ wyciągu mięśni królika beztarczycowego dożylnie.	0.090	0.090	0.088	0.088	0.088	0.090
15.VI.31. Pies 14 kg. 14 cm ³ wyciągu mięśni królika beztarczycowego dożylnie.	0.078	0.078	0.078	0.078	0.079	0.078
18.V.51. Pies 8.7 kg. 10 cm ³ wyciągu mięśnia królika beztarczycowego podskórnice.	0.096	0.086	0.084	0.086	0.086	0.090
19.VI.31. Królik 2 kg. 5 cm ³ wyciągu mięśnia królika beztarczycowego podskórnice.	0.070	0.064	0.065	0.070	0.072	0.070

Doświadczenia nasze wykazują, że z pośród czynników wpływających na wytwarzanie się w pewnych warunkach w mięśniach ciała swoistego oddziaływującego na przemianę, węglowodanową dużą rolę musi odgrywać i tarczyca.

Zestawiając otrzymane wyniki możemy powiedzieć, że

1. Wyciągi z mięśni królików normalnych nie wywierają żadnego wpływu na poziom cukru we krwi.

2. Wyciągi z mięśni królików pozbawionych zapasów glikogenu przez jednoczesne głodzenie i florydzynowanie, oraz przez podanie strychniny przeważnie wywołują hyperglikemję; przecukrzenie krwi nie jest jednak tak wielkie (19,5—42,8%) jak to stwierdził poprzednio Hetényi.

3. Wyciągi z mięśni królików hipertyreozynowanych posiadają wybitne własności hiperglikemizujące; wzrost poziomu cukru we krwi wynosi od 37,5 do 128,5%.

4. Wyciągi z mięśni królików, pozbawionych tarczycy, bądź nie wywierają wpływu na poziom cukru we krwi, bądź powodują nieznaczłą hipoglikemję.

5. Badania powyższe przemawiają za powstawaniem w mięśniach w pewnych warunkach, związków, oddziałujących na przemianę węglowodanową.

De l'Institut de Pathologie Générale et Expérimentale de l'Université de Varsovie.
Directeur: Prof. Dr. F. Venulet.

INFLUENCE DES EXTRAITS MUSCULAIRES SUR LA TENEUR EN SUCRE DANS LE SANG.

P a r

FRANÇOIS GOEBEL, Professeur Agrégé.

Les cellules utilisent le sucre, alors que le rôle du foie consiste à leur fournir de nouvelles quantités de glucose, en mobilisant les réserves de son glycogène.

Claude Bernard supposait que ce phénomène s'accomplissait par l'intermédiaire du réflexe à travers le bulbe rachidien. Noorden attribue à l'acide lactique la faculté de mobiliser le glycogène; d'après Elias le régulateur de ce phénomène serait le déplacement de l'équilibre acide-alcalin du côté acide. Dernièrement G. Hétenyi émit l'hypothèse que la cause de la mobilisation du glycogène du foie serait due aux corps formés dans les muscles et les organes en cas de manque de substances hydrocarbonées. On a pu constater que les extraits musculaires des lapins normaux (5 expériences) ne possèdent pas la faculté d'augmenter la teneur en sucre dans le sang (le sang a été examiné dans les intervalles de 15', 30', 1h, 2h, 3h).

Cependant quand on prive les animaux de réserves de glycogène par le jeûne, par la florisation simultanée, (1 gr de florisine dans l'huile, tous les 2 jours en injections sous cutanées pour un lapin de 2,8 à 3,3 kg), ainsi que par l'administration de 1,5 mg de strychnine, les extraits de leurs muscles possèdent le plus souvent les propriétés hyperglycémiques (dans 5 sur 7 cas examinés). La teneur en sucre dans le sang s'élève de 19,5 — 42,8‰. Il se produit donc une certaine divergence entre nos résultats et ceux de Hétenyi qui dans les mêmes conditions, après l'application des extraits trouvait constamment et sans exception une hyperglycémie notable dans le sang.

Ensuite il s'agissait d'établir si parmi les facteurs agissant sur les propriétés des extraits, les glandes endocrines ne jouaient pas un certain rôle et quel était-il, en nous bornant pour le moment à l'examen de thyroïde.

A cet effet on a injecté aux lapins (4 expériences) par voie sous-cutanée, tous les deux jours pendant trois semaines 1 ccm d'extrait de thyroïde (quantité correspondant à 0,25 gr de substance glandulaire). Ensuite 2 — 3 semaines après avoir cessé d'administrer la thyroïdine, on a tué les animaux et des extraits furent préparés de leurs muscles. Ces extraits, comme on a pu s'en convaincre, possèdent des propriétés hyperglycémiques marquées. L'hyperglycémie du sang est très considérable, car elle est de 37,5 à 128,5‰.

Ces expériences plaident en faveur de ce que dans les muscles des lapins auxquels on a administré l'hormone de la thyroïde en excès, se trouvent des substances qui exercent une influence considérable sur l'échange hydrocarboné, en provoquant sans doute l'accroissement de la glycogénolyse dans le foie.

Afin de connaître les propriétés des extraits musculaires d'animaux privés de thyroïde, on a éliminé cette glande chez une série d'animaux (5 expériences).

Au bout de 15 — 20 jours ces animaux furent tués et des extraits furent préparés de leurs muscles. On a pu constater que des extraits pareils ne produisent qu'un abaissement insignifiant du taux du sucre dans le sang, ou bien ne l'influencent aucunement.

Ces expériences prouvent que parmi les facteurs qui dans certaines conditions influent sur la production dans les muscles d'une substance spécifique, (action sur le métabolisme hydrocarboné), il faut également attribuer un grand rôle à la glande thyroïde.

P I Ś M I E N N I C T W O.

1) Asimoff G., E. Estrin i S. Mleckaja. Zeit. f. ges. exp. Med. T. 76 1931. 2) Bauer J. Innere Sekretion 1927. 3) Hetényi G. Zeit. f. ges. exp. Med. T. 67 1929.



Wpłynęło 18.V.1933

Z Państwowego Zakładu Higjeny Filja we Lwowie.

Kierownik: Prof. Dr. N. Gąsiorowski.

O ZMIENNOŚCI PAŁECZEK ODMIEŃCA SWOISTEGO.

P o d a l i

H. MEISEL i E. MIKULASZEK

W poprzedniej pracy (Pol. Gaz. Lek. Nr. 20 i 21, r. 1932) przedstawiliśmy wyniki badań nad wywoływaczami resztkowemi w związku z dysocjacją pałeczek grupy durowo-rzekomodurowej.

Przypominamy, że z pałeczek tej grupy, bez względu na fazę dysocjacji danego szczepu otrzymać można serologicznie czynne wielocukry. Z pierwszoczy szczepów w fazie H uwalnia się je zarówno działaniem kwasu octowego jak i zasady w temperaturze wrzenia; z szczepów O głównie przy zastosowaniu kwasu, natomiast z szczepów R jedynie zapomocą silnej zasady. Serologicznie czynne węglowodany gładkich szczepów t. zn. S zarówno wyposażonych w aparat rzęskowy czyli H jak i szczepów gładkich bezrzęskowych czyli O są identyczne, a rozmieszczeniem swem wśród poszczególnych typów pałeczek grupy durowo-rzekomodurowej odpowiadają aglutynogenom drobnokłaczkującym, ciepłostalym czyli grupowym.

Obraz ten zmienia się z chwilą przejścia szczepów gładkich, w postać szorstką. Antygeny resztkowe z szczepów szorstkich zachowują się obojętnie wobec surowic otrzymanych z ich macierzystych szczepów gładkich a równocześnie węglowodany z szcze-

pów gładkich nie dają odczynu z surowicami, pochodzącymi ze zwierząt uodpornianych szczepami R. Szczepy szorstkie posiadające t. zw. kosmopolityczny t. j. wspólny dla szerszej grupy aglutynogen, odmienny od aglutynogenu macierzystych szczepów gładkich, posiadają również kosmopolityczny, wielu typom pałeczek grupy durowo-rzekomodurowej wspólny antygen resztkowy, różniący się serologicznie od antygenów resztkowych H i O.

Zagadnienie czy i o ile zjawiskom stwierdzonym na pałeczkach grupy durowo-rzekomodurowej można przyznać znaczenie ogólniejsze, zachęciło nas do wykonania tych samych doświadczeń z innymi drobnoustrojami pałeczkowatymi (bacteriaceae).

W pierwszym rzędzie przystąpiliśmy do bliższego poznania typów dysocjacyjnych odmienca swoistego X, gdzie z jednej strony biologiczne zachowanie się niektórych odmian jak np. typu R dotychczas jeszcze nie jest bliżej zbadane, z drugiej zaś w tej właśnie grupie istnieją szczególnie dogodne warunki dla oceny serologicznego znaczenia wielocukrów jak: częste pojawianie się odmian bezrzęskowych, następnie obecność różnorodnych aglutynogenów.

W dostępnej nam literaturze spotkaliśmy tylko 2 prace poświęcone sprawie wywoływaczy resztkowych w grupie odmienca.

Przesmycki (1927) opisuje zachowanie się 2 odmian H i O szczepu X_{19} . Odmianę O utrzymywał w formie niezmienionej hodując szczep $X_{19}O$ w ciepłocie 42° . Chcąc otrzymać wywoływacze resztkowe, po usunięciu połączeń białkowych kwasem octowym na gorąco, strącał z przesączu kilkakrotnie alkoholem węglowodany wielkocząsteczkowe naprzemian w odczynie kwaśnym i zasadowym. Antygen resztkowy z pałeczek $X_{19}H$ dawał bardzo wyraźny odczyn precypitacyjny i wiązania dopełniacza zarówno z surowicą przeciwbakteryjną H jak i O. Z pałeczek $X_{19}O$ hodowanych w temp. 42° nie udało się autorowi otrzymać substancji bezbiałkowych, któreby dawały odczyny z surowicami swoistymi. Obecność ciał odpornościowych w surowicach $X_{19}O$ tylko dla antygeny resztkowego $X_{19}H$ a zupełnie bierne zachowanie się tych surowic wobec węglowodanu $X_{19}O$ można zdaniem *Przesmyckiego* wytłómaczyć w ten sposób, że pałeczki $X_{19}O$ posiadają antygen resztkowy w minimalnej ilości, nie dającej się wykryć in vitro a wystarczającej dla wywoływania ciał odpornościowych.

Sprawę węglowodanów resztkowych, otrzymanych z szczepu $X_{19}O$ poruszają jeszcze *Furth i Landsteiner* (1929) w pracy o pałeczkach grupy *Salmonella*. Węglowodany te, po zagotowaniu w $n\ HCl$ jak i w $n\ NaOH$ traciły zdolność strącania surowic homologicznych.

Do badań naszych użyliśmy 11 szczepów odmienia swoistego w następujących formach dysocjacji:

1) szczep $X_{19}H$ Londyn; 2) szczep $X_{19}O$ Londyn; oba szczepy wyodrębnione przez *Weila i Felixa* otrzymano z National Collection of Type Cultures w Londynie; 3) szczep $X_{19}R$ Londyn otrzymany w P. Z. H. Lwów drogą hodowli szczepu 1 w buljonie z dodatkiem 10% surowicy wysokowartościowej anti $X_{19}H$ Londyn; 4) szczep X_2H wyodrębniony przez *Weila i Felixa*, otrzymany z National Collection of Type Cultures w Londynie; 5) szczep X_2O otrzymany z Zakładu biologii ogólnej U. J. K. (Prof. Dr. *Weigl*); 6) szczep X_2R otrzymany w P. Z. H. Lwów drogą hodowli szczepu 4 w buljonie z dodatkiem 10% surowicy wysokowartościowej anti X_2 ; 7) szczep $X_{19}H$ Lwów — stary szczep laboratoryjny z P. Z. H. Lwów o nieznanym pochodzeniu; 8) szczep $X_{19}R$ Lwów otrzymany w P. Z. H. Lwów drogą hodowli szczepu 7 w buljonie z dodatkiem 10% surowicy wysokowartościowej anti $X_{19}H$ Lwów; 9) szczep XO wyodrębniony przez Prof. Dr. *Weigla* Lwów; 10) szczep XR otrzymany w P. Z. H. Lwów z szczepu 9 drogą hodowli w buljonie z 10% surowicy anti OX ; 11) szczep XHK otrzymany jako szczep Kingsbury z National Collection of Type Cultures w Londynie.

Dotychczasowe piśmiennictwo zajmujące się szczepami typu H i O odmienia jest niezwykle bogate, wobec czego bliższe omawianie sposobu kontrolowania tych typów staje się zbyt ciężkim. Szczególniejszą uwagę należałoby w tym miejscu zwrócić na następujące 2 momenty: w pierwszym rzędzie — na co już *Weil i Felix* zwrócili uwagę — chcąc uzyskać formę H należy użyć świeżego agaru wilgotnego, zachowującego się obojętnie wobec nalewki lakmusowej; dla typu O lepiej nadaje się agar bardziej stężony nie zawierający wody kondensacyjnej.

Co do sposobu otrzymywania typu R, o czym dotychczas nie znaleźliśmy żadnej wzmianki w dostępnej nam literaturze, to wszystkie nasze szczepy szorstkie uzyskaliśmy, hodując szczepy gładkie w buljonie z dodatkiem 10% homologicznej surowicy wysokowartościowej. Co 24 godziny przenoszono hodowle z buljonu na buljon, wysiewając równocześnie 1 oczko na płytkę agarową.

Opisaną metodą otrzymywaliśmy szczepy R dopiero po dłuższym przeszczepianiu, słowem znacznie trudniej i powolniej aniżeli w grupie durowej. Często dopiero po 20 przeszczepianiu otrzymywaliśmy pierwsze kolonie, zlepiające się w płynie fizjologicznym, które hodowane w normalnych warunkach z łatwością traciły nowonabytą cechę i wracały do pierwotnego typu. Dopiero po długotrwałym przeszczepianiu można było uzyskać stały typ R, nie ulegający już pod względem morfologicznym żadnej zmianie. Przy niektórych tylko odmianach np. X_2 R nigdy nie można było otrzymać czystej formy R.

Wygląd kolonii R u odmienia nie odbiega od wyglądu podobnej kolonii u innych pałeczkowatych. Kolonie R 24-godzinne na agarze zwykłym są płaskie, zwykle większe od kolonii O, średnica ich wynosi przeciętnie 4—5 mm; ich brzeg jest nierówny, nieregularny, powierzchnia zaś pofałdowana i jakby przypiórszona; oglądane pod słabym powiększeniem (lupy) różnią się wyraźnie od połyskujących, o gładkim brzegu i bardziej wyniosłych kolonii O; pałeczki z kolonii R są cienkie, znacznie dłuższe od pałeczek w hodowlach O i H; u pochodnych szczepów H można wykazać rzęski. Biochemiczne zachowanie się badanych przez nas szczepów odmienia swoistego przedstawia tablica I, która dla porównania podaje też wyniki działania macierzystych szczepów gładkich. Jako podłoża użyto tu roztworu 1% peptonu z dodatkiem 0,5% NaCl, 1% badanego węglowodanu oraz błękitu bromotymolowego jako wskaźnika.

Z zestawienia poszczególnych szczepów R z ich macierzystymi szczepami gładkimi stwierdzamy że szczepy X_{19} R Londyn i X_2 R zatraciły zdolność rozbijania cukru słodowego, szczep X_{19} R Lwów zdolność wytwarzania gazu z mannitu, zaś szczep XR zatracił zdolność wywoływania fermentacji gazowej w pożywce

T A B L I C A I.

Fermentacja węglowodanów przez szczepy odmienna swoistego.

S z c z e p y	Cukier gronowy		Cukier mlekowy		Cukier trzciniowy		Cukier słodowy		Mannit	
	k.	g.	k.	g.	k.	g.	k.	g.	k.	g.
X ₁₉ H Londyn	+	—	—	—	+	—	+	—	—	—
X ₁₉ O Londyn	+	—	—	—	+	—	+	—	—	—
X ₁₉ H Londyn	+	—	—	—	+	—	—	—	—	—
X ₂ H	+	—	—	—	+	+	+	—	—	—
X ₂ O	+	—	—	—	+	—	+	—	—	—
X ₂ R	+	—	—	—	+	—	—	—	—	—
X ₁₉ H Lwów	+	+	—	—	—	—	+	—	+	+
X ₁₉ R Lwów	+	+	—	—	—	—	+	—	+	—
X O	+	+	—	—	+	+	+	—	—	—
X R	+	+	—	—	+	—	+	—	—	—
X H Kingsbury	+	—	—	—	—	—	—	—	—	—

z cukrem trzcinowym. Poza drobnymi odchyleniami, różnice, jakie się stwierdza pomiędzy poszczególnymi szczepami R, odpowiadają zachowaniu się wobec węglowodanów macierzystych szczepów gładkich. Jako stałe stwierdzaną cechę podkreślić tutaj należy, że wszystkie odmiany bez wyjątku fermentują cukier gronowy, natomiast nie zmieniają cukru mlekowego. W zachowaniu się zaś wobec cukru trzcinowego, słodowego i mannitu można zauważyć już wśród poszczególnych odmian silne wahania (X₁₉ H Lwów, XHK) wobec czego pożywkom tym w diagnostyce różniczkowej nie można przypisać ścisłej wartości. Żelatyny żaden z badanych szczepów nie rozpuszczał; prawdopodobnie szczepy te od lat hodowane na sztucznych pożywkach, tę zdolność już utraciły.

Odczyn Ehrlicha na indol wykonany z hodowlami na pożywce tryptofanowej wypadł regularnie ujemnie; natomiast odczyn nitrozindolowy z wszystkimi szczepami, wyjąwszy typ XO, wypadł dodatnio.

Podobnie jak każdy typ R, tak również i nasze szorstkie formy otrzymane z odmieńców swoistych, z łatwością zlepiały się samoistnie już w bardzo rozcieńczonych roztworach NaCl i tak: szczep X_{19} R Londyn, X_{19} R Lwów i XR już w 0,1% a X_2 R w 0,2% roztworze NaCl.

Zachowanie się naszych szczepów R wobec moderatorów o różnych stężeniach jonów wodorowych podaje tab. 2:

1) szczepy gładkie, posiadające rzęski czyli H kłaczkują w granicach P_H 3,5 — 4,4.

T A B L I C A II.

Odczyn zlepný kwaśny wykonany z moderatorem octanowym.

Szczep	W y k ł a c z e n i e w P_H										
	6,5	6,2	5,9	5,6	5,3	5,0	4,7	4,4	4,1	3,8	3,5
X_{19} H Lwów	—	—	—	—	—	—	—	+	++	+++	+++
X_{19} H Londyn	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+++	+++
X_2 H	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+++	+++
X H Kingsbury	—	—	—	—	—	—	—	+	++	+++	+++
X_{19} O Londyn	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
X_2 O	—	—	—	—	—	—	—	—	±	±	—
X O	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
X_{19} R Londyn	+	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
X_{19} R Lwów	±	+	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
X_2 R	—	—	—	±	±	+	++	+++	+++	+++	+++
X R	±	+	++	++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++

2) szczepy głąłkie nieposiadające rzęsek czyli O nie kłączują wcale, zaś

3) szczepy szorstkie kłączują w granicach P_H 3,5 — 6,5, wyższy szczep X_2 R kłączący w granicach 3,5 — 5,0 (tabl. 2).

Odczyn zlepný kwasny może zatem podobnie jak w grupie durowo rzekomodurowej i w grupie odmienca swoistego służyć jako jeden ze wskaźników procesu dysocjacji.

Dla bliższego poznania budowy antygenowej szczepów R wykonaliśmy szereg odczynów zlepných i wiązania dopełniacza, w których posługiwaliśmy się wysokowartościowymi surowicami sporządzonemi przy pomocy pojedynczych szczepów głąłkich i szorstkich (tabl. 3 i 4).

T A B L I C A III.
Odczyn zlepný drobnokłączkowy.

Surowica	S z c z e p y			
	X_{19} O Londyn	X_2 O	X O	X_{19} H Lwów 2h 100°
X_{19} H Londyn	1600	—	400	—
X_{19} H Lwów	800	—	200	1600
X H Kingsbury	—	—	—	—
X_2 O	—	1600	—	—
X O	1600	—	1600	—
X_{19} R Londyn	—	—	—	—
X_{19} R Lwów	—	—	—	—
X_2 R	—	200	—	—

Ze zrozumiałych powodów pomijamy tutaj wyniki odczynów zlepných z wywoływaczami ektoplazmatycznymi ponieważ, jak z szeregu prac wynika, odczyny te mają tylko charakter grupowy.

Z 3 badanych surowic, otrzymanych przez uodpornianie szczepami szorstkimi 2 t.j. surowica X_{19} R Londyn i X_{19} R Lwów

nie zlepiały ani też nie dawały dodatniego odczynu wiązania dopełniacza z antygenami szczepów gładkich jako dowód, że tym surowicom brak aglutynin swoistych wobec macierzystych szczepów O, a równocześnie brak dwóchwytników swoistych wobec macierzystych szczepów H i O. Nieco odmiennie przedstawia się sprawa z surowicą X_2 R ponieważ zawiera ona i aglutyniny uboczne, dając dodatni odczyn zlepnny z szczepem X_2 O do rozcieńczenia 1:200, ponadto zawiera i dwóchwytniki wiążące dopełniacz z antygenem X_2 H i X_2 O.

Odczyn wiązania dopełniacza z surowicami heterologicznymi i wszystkimi szczepami R wypada znacznie słabiej aniżeli z surowicami homologicznymi (tabl. 4).

T A B L I C A I V .

Odczyn Bordet-Gengou z antygenami pełnowartościowymi.

Liczby oznaczają rozcieńczenie użytych surowic.

Surowica	X_{19} H Londyn	X_{19} H Lwów	X_2 H	XHK	X_2 O	XO	X_{19} R Londyn	X_{19} R Lwów	X_2 R
X_{19} H Londyn	40	20	20	20	—	20	40	—	—
X_{19} H Lwów	20	40	20	—	—	—	40	40	—
X_2 H	—	—	20	—	20	—	—	—	40
X H Kingsbury	20	—	—	80	—	—	—	—	—
X_2 O	—	20	320	—	80	40	20	—	20
X O	20	40	—	—	—	160	20	—	—
X_{19} R Londyn	—	—	—	—	—	—	320	—	—
X_{19} R Lwów	—	—	—	—	—	—	20	320	—
X_2 R	—	—	20	—	80	—	40	—	160

Z otrzymanych odczynów zlepnnych i wiązania dopełniacza wynikałoby, że niektóre szczepy odmienna swoistego np. X_{19} H

Londyn i X_{19} H Lwów w procesie dysocjacyjnym zbliżają się do czystej formy R, natomiast inne szczepy jak X_2 H przechodzą w formy szorstkie, zawierające większe domieszki wywołowaczy gładkich; słowem zupełnie czystej formy R pod względem zachowania serologicznego nie udało się nam uzyskać.

W przeciwieństwie więc do grupy durowo-rzekomodurowej nie wykazaliśmy wśród szczepów odmienca swoistego ścisłej odrębności pomiędzy szczepami gładkimi i szorstkimi; równocześnie odczyny serologiczne ze szczepami typu R wykazują wielokrotnie wyższe miana tylko z homologiczną surowicą jako dowód, że typ R odmienca swoistego nie posiada charakteru kosmopolitycznego w pojęciu *Schützego*.

W drugiej części pracy zajęliśmy się badaniem zachowania się węglowodanów wielkocząsteczkowych otrzymanych ze wszystkich 11 szczepów odmienca swoistego. Węglowodany wielkocząsteczkowe otrzymaliśmy podobnie jak w grupie durowo-rzekomodurowej drogą zasadową i kwaśną.

Szczegółowy opis metod technicznego otrzymywania wielocukrów podaliśmy w pracy nad dysocjacją pałeczek grupy durowej (2).

Tutaj zaznaczyć tylko wypada, że hodowla 24 godzinna w temp. 37° na agarze wilgotnym, obojętnym (odpowiadającym wymogom Weila i Felixa) okazała się najodpowiedniejszą dla uzyskania wielocukrów z typu H; dla otrzymania węglowodanu wielkocząsteczkowego z typu O używaliśmy stale 48 godzinnych hodowli w temp. 37° z czystych bezrzęskowych szczepów O; podobnie 48 godzinne hodowle przy 37° typu R służyły jako materiał do uzyskania wielocukru.

Otrzymane substancje (w liczbie 22) przedstawiały się bezpostaciowo, były barwy białej lub bladobrunatnej, rozpuszczały się w wodzie a nie rozpuszczały w alkoholu, eterze, chloroformie i acetonie. Z roztworem każdej z tych substancji w stężeniu 1:300 wykonano odczyny: ninhidrynowy, biuretowy, z octanem ołowowym, ksantoproteinowy, Millona, Hopkinsa, i z kwasem sulfosalicylowym. Wynik wypadał tu zawsze ujemnie, zawartość azotu

wahała się w granicach 1 — 2,5 %. Odczyn Molischa wypadł z wszystkimi roztworami silnie dodatnio, z odczynnikami Fehlinga brak redukcji, która pojawiła się dopiero po hydrolitycznym działaniu H_2SO_4 na gorąco. Ilość ciał redukujących po 4 godz. hydrolizie oznaczona metodą Folina-Wu jako glukoza waha się u wszystkich ciał między 58 — 80 %. Podane odczyny chemiczne wskazują, iż w wyciągach uzyskanych z wszystkich 11 szczepów odmienca swoistego zarówno drogą zasadową jak i kwaśną brak zupełnie substancji o charakterze aminokwasów lub białka a natomiast zawarte są połączenia odpowiadające wielocukrom. Roztwory tych wielocukrów w płynie fizjologicznym stanowiły wywołacz w odczynach wiązania dopełniacza. Zasadniczo wykonywano odczyn z rozcieńczeniem antygeny zaczynając od 1:2000, w większych bowiem stężeniach niektóre węglowodany hamowały samoistnie.

Odczyn wiązania dopełniacza wykonywano z 9 wysokowartościowymi surowicami króliczymi i tylko 20 wielocukrami, ponieważ odpowiednio wysokowartościowej surowicy XR nie można było otrzymać (tabl. 5).

I. Pierwszą grupę tworzą węglowodany wielkocząsteczkowe otrzymane z 4 gładkich szczepów typu H.

a) wielocukry uzyskane drogą zasadową dają dodatnie odczyny jedynie z surowicą własnego typu czyli z wszystkimi innymi surowicami odczyn jest zupełnie ujemny.

b) wielocukry uzyskane drogą kwaśną przeważnie dają najsilniejsze odczyny z surowicą własnego typu, z innymi surowicami niemal zawsze wynik ujemny a w nielicznych tylko przypadkach odczyn dodatni o znacznie słabszym nasileniu.

II. Drugą grupę tworzą węglowodany wielkocząsteczkowe otrzymane z 3 gładkich szczepów typu O.

a) wielocukry uzyskane drogą zasadową dają odczyny ujemne z wszystkimi surowicami otrzymanymi z szczepów gładkich i szorstkich.

b) wielocukry uzyskane drogą kwaśną zachowują się podobnie jak węglowodany wielkocząsteczkowe typu H t. j. przeważnie

dają najsilniejszy dodatni odczyn z surowicą własnego typu, z innymi surowicami niemal zawsze wynik ujemny a w nielicznych tylko przypadkach odczyn dodatni.

III. Trzecią grupę tworzą węglowodany wielko-cząsteczkowe otrzymane z 3 szczepów typu R.

a) wielocukry otrzymane drogą zasadową rozpadają się na 2 grupy, zachowujące się odmiennie: do jednej należy X_{19} R Lwów i X_{19} R Londyn, które dają silny odczyn dodatni tylko z surowicą homologiczną z wszystkimi zaś innymi ujemny; drugą grupę tworzy wielocukier X_2 R, który przy najsilniejszym odczynie z surowicą X_2 R daje również dodatni odczyn B.-G. o wysokim mianie z surowicą typu X_2 H i X_2 O.

b) węglowodany otrzymane drogą kwaśną rozpadają się również na 2 grupy: X_{19} R Lwów i X_{19} R Londyn przeważnie dają ujemne odczyny z wszystkimi surowicami a X_2 R podobnie jak poprzednio daje silne odczyny dodatnie niemal z połową użytych surowic.

Powyższe wyniki odczynów chemicznych i wiązania dopełniacza dowodzą, że z każdego z 10 badanych szczepów odmięca swoistego, niezależnie od stanu jego dysocjacji H, O czy też R otrzymano zapomocą metody zasadowej i kwaśnej — podobnie jak w grupie durowo-rzekomodurowej (2) ciała bezbiałkowe, odpowiadające pod względem chemicznym wielocukrom, czynne serologicznie jako wywoływacze resztkowe a zatem odpowiadające haptenom.

Z szczepów gładkich, posiadających rzęski (typ H) wyosobniono antygeny resztkowe zarówno metodą zasadową jak i kwaśną, z szczepów gładkich bezrzęskowych (typ O) jedynie drogą kwaśną, podczas gdy metodą zasadową otrzymywano wielocukry serologicznie nieczynne; ze szczepów szorstkich (typ R) metodą zasadową otrzymywaliśmy zawsze wywoływacze resztkowe, przy użyciu zaś kwasu tylko ze szczepu X_2 R można było równocześnie otrzymać antygen resztkowy, dający dodatnie odczyny w wysokich rozcieńczeniach, z innych zaś szczepów typu R metodą kwaśną otrzymano tylko wielocukry, serologicznie nieczynne.

Zasadniczo sprawa otrzymywania antygenów resztkowych przedstawiałaby się w sposób powyżej opisany.

Zachodzą jednakże i tutaj pewne odchylenia, na które chcielibyśmy zwrócić uwagę. Mianowicie ze szczepu X_{19} H Lwów ponadto otrzymaliśmy na agarze karbolowym wg. Brauna i w temp. 42° typ O, dający odczyn zlepnny drobnokłaczkowy. W odróżnieniu od wszystkich innych typów O ze szczepu tego można było uzyskać antygen reszkowy drogą zasadową jak i kwaśną.

Jeśli porównamy zachowanie się szczepu bezrzęskowego Gärtner (2) uzyskanego drogą hodowli w temp. 42° , widzimy zupełną analogię t. j. że i Gärtner O daje antygen reszkowy metodą kwaśną i zasadową.

Mimowoli nasuwa się wniosek, że szczepy O uzyskane przez hodowle na pożywkach anormalnych (głodowych) i w wysokiej ciepłocie nie są identyczne z formami O, otrzymanymi w łagodniejszy sposób na pożywkach normalnych i w ciepłocie 37° .

Najprawdopodobniej przyjąłby można, że przy użyciu forsownych metod otrzymuje się tylko pozornie czysty typ O (bezzęskowy, dający aglutynację drobnokłaczkową), w którym jednakże pozostaje jeszcze wiele elementów ektoplazmatycznych z typu H.

Najlepszym sprawdzianem czystości typu O—w myśl powyższych spostrzeżeń — byłoby stwierdzenie, że ze szczepów tych otrzymuje się antygen reszkowy tylko zapomocą kwasów a przy użyciu zasady (metodą Pflügera) tylko węglowodany wielkocząsteczkowe, serologicznie nieczynne.

Ze szczepów szorstkich, otrzymanych na pożywkach z dodatkiem homologicznej surowicy wysokowartościowej, szczep X_2 R odchyła się co do swego zachowania się od innych szczepów typu R a mianowicie: jak już poprzednio podano, w zachowaniu się wobec roztworu NaCl, w kwaśnym odczynie zlepnym (tab. 2), następnie w odczynie wiązania dopełniacza (tab. 4) a wreszcie jako materiał z którego tak zapomocą metody zasadowej jak kwaśnej można otrzymać antygen reszkowy (tab. 5). Wszystkie te cechy przemawiają za tem, że szczep X_2 R zachowaniem swem zbliża się do gładkiej formy szczepu X_2 , czyli nie jest czystym typem R.

Jak już wyżej wspomniano, (w opisie wyników odczynu wiązania dopełniacza z antygenami resztkowymi, tab. 5) antygeny resztkowe otrzymane z typu H zarówno metodą kwaśną jak i zasa-

dową dają wybitnie swoiste odczyny wiązania dopełniacza z homologicznymi surowicami. Dodać można że tylko przy antygenach reszkowych, otrzymanych metodą kwaśną gdzieśgdy występuje dodatni odczyn z surowicą heterologiczną o bardzo niskiem mianie.

Ze szczepów typu O swoście czynnemi okazały się tylko antygeny otrzymane drogą kwaśną, natomiast zupełnie obojętnie wobec wysokowartościowych surowic zachowały się wielocukry otrzymane drogą zasadową.

Dlaczego antygen reszkowy otrzymany drogą zasadową z typu H posiada cechy swoiste, natomiast otrzymany z typu O zachowuje się obojętnie; narazie nie możemy dać odpowiedzi na pytania, jakie czynniki wchodzą tu w rachubę.

Porównując wyniki odczynów otrzymanych z antygenami reszkowymi, a pełnemi (tab. 3, 4 i 5) widzimy wielkie podobieństwo pod względem swoistego zachowania się z tą tylko różnicą, że przy pełnowartościowych wywoływaczach odczyny z heterologicznymi surowicami występują nieco silniej co by można tłómaczyć bardziej skomplikowaną budową drobiny antygenu pełnowartościowego.

Z porównania odczynów wynika, że hapteny typów gładkich szczepów odmienca swoistego odpowiadają ciepłotałym aglutynogenom w odczynie B. — C.

Zauważyć wreszcie wypada, że antygeny reszkowe ze szczepów odmienca swoistego zachowują się swoście wobec surowic otrzymanych ze szczepów homologicznych (swoistość typowa), podczas gdy antygeny reszkowe otrzymane ze szczepów durowych i rzekomodurowych dają tylko odczyny grupowe.

Co do antygenów reszkowych z typów szorstkich to tylko 2 otrzymane drogą zasadową są ściśle swoiste, natomiast otrzymane drogą kwaśną zachowują się obojętnie. Co do antygenów reszkowych otrzymanych ze szczepu $X_2 R$, to obraz swoistości staje się bardziej zatartym ponieważ dodatnie odczyny wypadają również z surowicami heterologicznymi (szczególnie z surowicami otrzymanymi ze szczepów gładkich X_2) wywoływacze więc reszkowe otrzymane z czystych typów R odmienca swoistego dają ściśle swoisty odczyn wiązania dopełniacza w przeciwieństwie do anty-

TABLICA V.

Odczyn Bordet — Gengou z antygenami resztkowymi.
(liczby oznaczają rozcieńczenie w tyśiącach użytego antygenu resztkowego).

Antygeny resztkowe ze szczepu w fazie:																				
SUROWICE	H						O						R							
	X ₁₉ H Londyn		X ₁₉ H Lwów		X ₂ H		X H Kingsb.		X ₁₉ O Londyn		X ₂ O		X O		X ₁₉ R Lwów		X ₁₉ R Londyn		X ₂ R	
	Ług	Kwas	Ług	Kwas	Ług	Kwas	Ług	Kwas	Ług	Kwas	Ług	Kwas	Ług	Kwas	Ług	Kwas	Ług	Kwas	Ług	Kwas
X ₁₉ H Londyn	16	32	—	—	—	4	—	4	—	64	—	—	8	—	—	4	—	—	—	32
X ₁₉ H Lwów	—	32	125	64	—	—	—	—	64	—	—	—	4	—	2	—	—	—	—	—
X ₂ H	—	—	—	—	16	125	—	—	—	—	64	—	—	—	—	—	—	—	32	32
X H Kingsbury	—	—	—	—	—	—	32	125	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
X ₂ O	—	—	—	2	125	125	—	—	—	—	125	—	2	—	—	—	—	—	32	64
X O	—	8	—	—	—	—	—	—	4	—	—	—	4	—	—	—	—	—	—	—
X ₁₉ R Lwów	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	32	—	—	—	—	—	—
X ₁₉ R Londyn	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	16	—	—	—	—
X ₂ R	—	—	—	—	—	16	—	—	—	—	2	—	—	—	—	—	—	64	64	64

genów resztkowych ze szczepów szorstkich grupy durowo-rzekomodurowej, gdzie stwierdziliśmy odczyny kosmopolityczne w znaczeniu Schützego.

S t r e s z c z e n i e.

Drogą hodowli na buljonie z dodatkiem surowicy swoistej udało się wyodrębnić z gładkich szczepów odmienia typ posiadający wszystkie cechy szczepów szorstkich R.

Otrzymane szczepy szorstkie pod względem biochemicznym nieznacznie tylko różniące się od szczepów gładkich macierzystych, zlepiają się samoistnie już w bardzo rozcieńczonych roztworach NaCl. W kwaśnym odczynie lepny przy użyciu moderatora octanowego typy gładkie i szorstkie — podobnie, jak w grupie durowo-rzekomodurowej — zachowują się charakterystycznie, tak że cecha ta może służyć jako jeden ze wskaźników procesu dysocjacji odmienia swoistego.

Zapomocą odczynu lepnego i wiązania dopełniacza udało się wykazać, że niektóre szczepy odmienia swoistego w procesie dysocjacyjnym zbliżają się do czystej formy R, natomiast inne mogą przechodzić w formy szorstkie zawierające jeszcze większe domieszki wywoływaczy gładkich.

Odczyny serologiczne z pełnemi antygenami świadczyłyby więc, że zupełnie czystego typu R nie udało się uzyskać, ponadto że otrzymane szczepy typu R — w przeciwieństwie do grupy durowo — rzekomodurowej nie posiadają charakteru kosmopolitycznego w pojęciu Schützego, skoro wykazują wielokrotnie wyższe miana tylko z homologiczną surowicą.

Z każdego z 10 badanych szczepów odmienia swoistego w stanie dysocjacji H, O i R otrzymano zapomocą metody zasadowej i kwaśnej ciała bezbiałkowe o chemicznej budowie węglowodanów wielkocząsteczkowych.

Ze szczepów typu H węglowodany otrzymane tak metodą kwaśną, jak zasadową odpowiadały antygenom resztkowym.

Ze szczepów typu O tylko wielocukry otrzymane drogą kwaśną, ze szczepów zaś typu R wielocukry otrzymane tylko drogą zasadową były serologicznie czynne.

Jako sprawdzian czystości fazy dysocjacyjnej badanego szczepu może służyć stwierdzenie faktu, o ile węglowodan wielkocząsteczkowy otrzymany według opisanego schematu jest lub nie jest serologicznie czynny.

Z porównania odczynów serologicznych wynika, że antygeny resztkowe typów gładkich odpowiadają aglutynogenom ciepłostalym w odczynie zlepnym i pełnowartościowym wywołującym w odczynie B. — G.

Odczyn wiązania dopełniacza z antygenami resztkowymi otrzymanymi bez względu na typ dysocjacji wypada stale swoiscie (swoistość typowa)—w przeciwieństwie do grupy durowo-rzekomodurowej—przy której odczyny te w fazie gładkiej posiadają charakter grupowy, w fazie zaś szorstkiej kosmopolityczny.

Aus dem staatlichen hygienischen Institut in Lwów.
(Leiter Prof. Dr. N. Gąsiorowski).

UBER DIE VARIABILITÄT DER PROTEUS X STÄMME.

H. MEISEL und E. MIKULASZEK

ZUSAMMENFASSUNG.

Auf dem Wege der Züchtung in Bouillon mit Zusatz von homologem Immunserum gelang es, aus glatten Proteus X Stämmen Kulturen bzuspalten, die alle Eigenschaften der Rauh—oder R Stämme besaßen.

Die auf diese Weise erhaltenen Stämme, die in biochemischer Hinsicht von ihren Mutterstämmen nur unwesentlich abweichen, agglutinieren spontan schon in sehr verdünnten NaCl Lösungen.

Im Säureagglutinationsversuch bei Verwendung des Azetapuffers weisen sowohl die glatten wie die Rauhstämmen—ähnlich wie in der Typhus — Paratyphusgruppe ein charakteristisches Verhalten auf, so dass diese Eigenschaft als Indikator des Dissoziationsprozesses der Proteus X Stämme herangezogen werden kann.

Vermittels Agglutination oder Komplementbindung konnte gezeigt werden, dass einige *Proteus* X Stämme sich im Dissoziationsprozess der reinen R Form annähern, während andere Stämme in Rauhformen übergehen, die noch grössere Mengen des S-Antigens enthalten.

Die mit den Vollantigenen angestellten serologischen Reaktionen zeigen also, dass die Darstellung des völlig reinen R Typus nicht gelang, ausserdem dass die erhaltenen Rauhstämme im Gegensatz zur Typhus-Paratyphusgruppe keinen kosmopolitischen Charakter im Sinne Schütze's besitzen, da dieselben vielfach höhere Titer nur mit den homologen Seren aufwiesen.

Aus allen 10 untersuchten *Proteus* X Stämmen in den Dissoziationsstadien H, O und R wurden sowohl mittels alkalischer wie saurer Protoplasmaaufschliessung proteinfreie Körper gewonnen, die in ihrem chemischen Aufbau hochmolekularen Kohlehydraten entsprechen.

Kohlehydrate, die aus H Stämmen sowohl nach der alkalischen wie sauren Methode hergestellt waren, entsprachen den sog. Restantigenen.

Aus O Stämmen waren nur durch Säurewirkung gewonnene Kohlehydrate, aus R Stämmen hingegen nur durch Alkaliwirkung gewonnene Kohlehydrate serologisch wirksam.

Die Feststellung, ob ein nach dem obigen Schema erhaltenes Kohlehydrat serologisch wirksam ist, kann zur Kontrolle des Reinheitsgrades der Dissoziationsphase des untersuchten Stammes dienen.

Beim Vergleich der Serumreaktionen fällt auf, dass die Restantigene aus glatten Stämmen den thermostabilen Agglutinogenen im Agglutinationsversuch und den Vollantigenen im Komplementbindungsversuch entsprechen.

Komplementbindung mit Restantigenen aller Dissoziationsphasen ist typenspezifisch im Gegensatz zur Typhus-Paratyphusgruppe wo diese Reaktionen in der glatten Phase Gruppencharakter besitzen, hingegen in der rauhen Phase eine kosmopolitische Verteilung (nach Schütze) aufweisen.

P I Ś M I E N N I C T W O.

- 1) Furth i Landsteiner: Journ. of. exp. Med. T. 49, 1929, p. 727.
2) Meiseli Mikulaszek: Pol. Gaz. Lek.r. 1932, p. 367. 3) Przesmycki: Med. Dośw. i Społ. T. 6, 1926, p. 378.

Wpłynęło 26 V.1933.

Z „Zakładu Mikrobiologii i Serologii“ U. W. Kier. Prof. Dr. R. Nitsch.

STUDJA NAD INTENSYWNOŚCIĄ I CHARAKTEREM RUCHU B. PRODIGIOSUM W ZALEŻNOŚCI OD STĘŻENIA I ZMIAN REGULACYJNYCH JONÓW H PODŁOŻA

P o d a ł

M. LANDESMAN

W s t ę p.

Badając intensywność ruchu rozmaitych gatunków bakteryj, zwróciłem uwagę na „bacterium prodigiosum” ze względu na jego charakterystyczne zachowanie się. Stwierdzałem bowiem kilkakrotnie brak, jakoteż z drugiej strony samoistny ruch postępowy. W poszukiwaniu czynników, które wpływają na tę zmianę, przedewszystkiem zauważyłem duży wpływ odczynu danego podłoża. Z drugiej strony w literaturze znalazłem twierdzenie, jakoby bacterium prodigiosum było jedną z niewielu bakteryj, które w odczynie kwaśnym mają o wiele szybszy ruch niż w odczynach obojętnych i alkalicznych. W próbnych badaniach doszedłem do rezultatów następujących: 1) niewątpliwie odczyn wpływa bardzo na ruch. Wystarczy powiedzieć, iż uzyskiwałem hodowle zupełnie pozbawione ruchu, jak też i takie, które co do ruchliwości nie ustępowały paratyfusom, a nawet cholerze, aczkolwiek miały inny charakter ruchu. 2) Hodowla w czasie badania zmieniała odczyn podłoża. 3) W hodowli, niezależnie od normalnego i stopniowego zamierania ruchu, zmieniał się w pewnej fazie rozwoju charakter ruchu „in plus”. Zastanowiwszy się nad

temi trzema problemami rozpocząłem regularne badania w tych kierunkach.

Próby wykonywałem na świeżej hodowli agarowej i na buljonie, który był zakwaszany, względnie alkalizowany kroplami 5% kwasu octowego, względnie 10%-ym ługiem sodowym. Badania wykonywano trzema sposobami: 1) zapomocą okularu mikrometrycznego i stopera badałem maksymalną i średnią szybkość. Objaśniając dokładnie średnią szybkość chciałbym zwrócić uwagę, iż dotychczas w badaniach nad ruchem określano granice minimum, średnią maximum. Nie wchodząc bliżej w wyniki, mogę powiedzieć, że wartości te były o tyle niedokładne, iż prawie u wszystkich bakteryj, chociażby najszybszych i w optymalnych warunkach, granica dolna musiała być „0”. Albowiem w dotychczasowych badaniach nie widziałem ani jednej kropli wiszącej, w której przynajmniej pojedyncze bakterje nie byłyby nieruchome (lub ruchome w miejscu). Ponieważ więc jedna granica (minimum) powinna była być we wszystkich przypadkach identyczna (zero), więc jasnem jest, że średnia nie mogła być dokładną. W moich badaniach wyszukiwałem najszybsze jednostki w liczbie 10-ciu, wybierałem z nich jednostkę o maksymalnym ruchu, ze wszystkich zaś obliczałem średnią, która jako średnia maksymalnych bardzo znamienne i dobitnie określa charakter ruchu i oddała bardzo dobre usługi. Granicy minimum, jak z powyższego wynika, nie miałem żadnej potrzeby określać.

2) Drugie badanie, to ilość bakteryj w kwadracie o wymiarach 25×25 mikronów, poruszająca się w nim ruchem postępowym w przeciągu jednej minuty. Badania obejmowały 10 różnych pól każdego preparatu. Podana jest liczba maksymalna i średnia.

3) Trzecie badanie: obliczanie liczby bakteryj ruchomych w miejscu i zupełnie nieruchomych w 16-tu kwadratach, o wyżej podanych wymiarach. Jeśli chodzi o pojęcie ruchomości w miejscu, które wprowadzam, rozwinę je szeroko przy końcu niniejszej pracy. Tu podam tylko definicję, iż za ruch w miejscu uważam zmianę położenia ciała bakteryj, w stosunku do płaszczyzny obrazu, w ciągu pewnego czasu, przyczem pałeczka nie zmienia swego miejsca, zmieniając natomiast położenie ciała.

Podłoża o różnych odczynach otrzymywałem przez dodawanie kroplami kwasu lub zasady, zapomocą dokładnie skalibrowanej pipety. Ponieważ badania wszystkich podłoży nie były wykonywane jednocześnie, podłoża później badane okazały się bardziej kwaśnymi, niżby to wypadało z obliczeń. Tłumaczę to sobie adsorbcją CO_2 z powietrza, a podaję to dlatego, żeby czytelnik nie był zaskoczony tem, że np. buljon o Ph „X“ + 1 kropla zasady okazał się bardziej kwaśnym, niż ten sam buljon bez alkalizacji, lub też, że buljon o Ph = 9,55 po pewnym czasie zniżył swoje Ph do 9,01 i bakterje już mogły na nim wyrósć. Naturalnie sprawa ta bynajmniej nie przeszkadzała badaniom, albowiem potencjał był oznaczony prawie tego samego dnia, w którym zasiewałem bakterje.

Ph oznaczałem potencjometrem elektrycznym z elektrodą wodorową i metodą kolorymetryczną.

O b s e r w a c j a .

Część I. Tablica I.

Badania przeprowadziłem na 10 ciu serjach posiewów o odpowiednich stężeniach Ph.

Serja I. Ph $> 9,55$ (834 mv, milivoltów). W buljonie tym nie wyrosło, pozostał jałowy.

Serja II. Ph 9,18. Czas trwania badania 9 dni. W ciągu 5-ciu dni intensywność ruchu zwiększała się, osiągnąwszy w 5-ym dniu maximum. Z początku w polu widzenia spostrzegane były nieliczne bakterje, ruchome w miejscu, po większej części w pozycji pionowej do płaszczyzny obrazu. W polu widzenia 1—2 bakterij ruchomych postępowo o intensywności ruchu bardzo słabej: 5 mikr./sek. W ciągu następnych dni widzimy wzrost hodowli, silniejsze zmętnienie. W polu nieco więcej ruchomych: 4/min., reszta ruchoma w miejscu, niektóre z nich wykonywają zwroty błyskawiczne nieprzekraczające 2-ch mikr. Ruch postępowy dochodzi do 13 mikr./sek. Od tego czasu ruch zostaje zahamowany, natomiast miejscowy pozostaje. Tworzą się zlepy po dwa — trzy osobniki końcami.

T A B L I C A I.

P _H L dnia	> 9,55			9,18			9,01			8,68			8,45			8,24			7,83			7,17			6,56			5,55
	P _H	X	V	P _H	X	V	P _H	X	V	P _H	X	V	P _H	X	V	P _H	X	V	P _H	X	V	P _H	X	V	P _H	X	V	
I																												
II																												
III																												
IV																												
V																												
VI																												
VII																												
VIII																												
IX																												
X																												
XI																												
XII																												
XIII																												
XV																												
XVII																												
XVIII																												
XIX																												
XX																												

Nie nie wyrosło. Pozywka jałowa

Nie nie wyrosło. Pozywka jałowa

Wreszcie i ruch miejscowy ginie. Ilość bakteryj z 5-ciu wzrasta do 80-ciu, przy końcu spada do 20-tu.

Serja III. Ph 9,01. Buljon o $\text{Ph} > 9,55$ po 4 ch dniach, podczas których pozostał zupełnie jałowy poddany został badaniom odczynu i wykazał zmieszenie Ph do 9,01. Wtedy został powtórnie zaszczepiony. Badając w ciągu 15-tu dni stwierdziłem, iż ruch postępowy wogóle nie wytworzył się. Gdziekolwiek tylko po 3 dniach pojedyncze pałeczki przebiegały pole szybkością 8-miu mikr./sek. Zresztą ruch zamarł, pozostał tylko ruch miejscowy, który trwał kilka dni, dopóki nie wytworzyły się zlepy, które doprowadziły ruch do zaniku. Pałeczki miały wymiary nieprzekraczające 1 mikr. Większa część była w pozycji pionowej, którą od czasu do czasu zmieniała. Ilość bakteryj w polu „b” podniosła się z 25 do 80-ciu i spadła na 30.

Serja IV. Ph 8,68. Czas badania 17 dni. Maximum szybkości zostało osiągnięte już po 2 ch dniach. Szybkość maksymalna w pierwszym dniu wynosiła 13 mikr./sek., w następnym dniu tyleż natomiast średnia zwiększyła się z 9,6/sek. do 10-ciu. Zwiększyła się również liczba maksymalna bakteryj przebiegających „x” z 19 na 28, a średnia z 12 na 15/min. Po 4 ch dniach ruch postępowy został zahamowany. Utworzyły się masy zlepienne. Ruch miejscowy z początku silny, później zupełnie osłabł. Liczba bakteryj w polu „b” z 20 przeszła na nie dającą się obliczyć masę, by później spaść do 50-ciu. Długość pałeczek wynosiła od 1—2 mikr.

Serja V. Ph 8,45. Czas badania 17 dni. Maximum szybkości zostało osiągnięte po 2-ch dniach. Pierwszego dnia w preparacie ilość bakteryj w polu „x” wynosiła 2 na min. a szybkość ich 8 mikr./sek. Drugiego dnia ilość wzrosła do 16-tu na min, o szybkości 13 mikr./sek., by już piątego dnia wrócić do ilości 1 — 2 w polu x. Po piątym dniu wszystkie bakterje przybierają pozycję stojącą, tracąc ruch postępowy, a zyskując ruch w miejscu. Ilość ruchomych w miejscu z początkowej liczby 26-ciu wzrasta do 100, by później spaść do 50. Obok tego widzimy po dłuższym okresie czasu masy nieruchome, o nikłym ruchu drgającym i pod koniec badań masy miały tendencję do rozpadu, względnie do zwyrodnienia ziarnkowego. Długość pałeczek z 4—6 mikr. zmiesza się

do 1—2 mikr. Obok tego znajdujemy nieruchome nici, o długości 20—30 mikr.

Serja VI. Ph 8,24. Czas badania 17 dni. Pierwszego dnia ruch postępowy był już intensywny. Przeważna jednak część była ruchoma w miejscu, o charakterystycznej pozycji pionowej. Zupełnie nieruchome znajdują się tylko na brzegu. Ilość bakterij w polu x wynosiła 26 o szybkości maksymalnej 20 mikr./sek. Drugiego dnia ruch wzmoógł się silniej i objął do 64 na polu x, zwiększając średnią szybkość z 16 na 20 mikr. Czwartego dnia ruch został zahamowany zupełnie. Widzimy tu tylko bakterje ruchome w miejscu, jakoteż silne drgania, ujawniające się wśród zlepionych mas. Ilość bakterij doszła w końcu badania do 30 na polu „b”. Pałeczki dość długie, w końcu stają się różnorodne.

Serja VII. Ph 7,83. Czas badania 18 dni. W rozmaitych probówkach otrzymałem hodowle o rozmaitem natężeniu ruchu. Z tych wszystkich, jako ocenę największej zdolności ruchowej wziąłem za podstawę statystyki hodowlę o ruchu najszybszym. W hodowli ruch był bardzo intensywny, szczególnie na brzegu. Intensywność ta spadła zaraz drugiego dnia, a piątego dnia ruch był zupełnie zahamowany. Z początku w polu „x” przebiegało 60 bakterij na min. o szybkości 80 mikr./sek., a drugiego dnia nastąpił spadek ilości do 35 na min., i spadek szybkości do 40 mikr./sek. Piątego dnia w preparacie znajdowały się tylko bakterje ruchome w miejscu, a od czasu do czasu tylko przebiegały przez pole 1—2 bakterje. Stan taki hodowle zachowały do końca badania. Liczba bakterij w polu „b” z 30 wzrasta do 500, by spaść w końcu badania do 100. Długość bakterij z początku 5—6 mikr. w końcu badania zmniejsza się do 1—2. W preparatach można było zauważyć intensywne falowanie, które wywoływało bierny ruch całych mas bakterij.

Serja VIII. Ph 7,17. Czas badania 20 dni. W tej serji otrzymałem również hodowle o rozmaitej intensywności ruchu. Biorąc pod uwagę najszybszą hodowlę, stwierdzamy ruch bardzo silny, szczególnie przy brzegu kropli. Pionowych postaci ruchomych w miejscu prawie, że zupełnie niema. Pierwszego dnia w polu „x” przebiegały 102 bakterje o szybkości 100 mikr. na sek. Drugiego dnia nastąpił spadek intensywności ruchu, który doszedł

8 dnia do zera. Jeśli chodzi o liczbę bakterij w polu „b”, to z początku było ich bardzo mało, wszystkie bowiem miały intensywny ruch postępowy. Od liczby 2-ch ilość doszła do nie dających obliczyć się mas, by później spaść do 50-u. Długość pałeczek 6—8 mikr. spadła do 2-ch.

Serja IX. Ph 6,56. Czas badania 17 dni. W ciągu 5-u dni bakterje z dość silnego ruchu doszły do maksymalnego, by 7 dnia opaść prawie do zera. Na początku na ilość 25 bakterij w polu „x” przypadała szybkość 40 mikr/sek. Liczba bakterij zwiększyła się do 30, a następnie do 70, szybkość zaś po przez pewien spadek w drugim dniu doszła do szybkości 60 mikr/sek. Następnie ilość w polu „x” spadła do 1—2, podczas gdy reszta wykazywała ruch miejscowy. Liczba bakterij ruchomych w miejscu z 16 doszła do 50. Długość bakterij przez cały czas była mniejwięcej stała około 6—8 mikr. W tej hodowli również zauważyłem ruch bierny.

Serja X. Ph. 5,55. Buljon pozostał jałowym.

Wyniki obserwacji.

Podłoże zbliżone do odczynu obojętnego jest najodpowiedniejsze. Bakterje na buljonie bardzo zasadowym, a więc około Ph=9,55 wogóle nie rosły, zaczęły się rozwijać od stężenia około Ph=9 osiągnęły swoje maximum w Ph 7,17, by opaść znowu do zera w reakcji kwaśnej Ph = 5,55.

Bakterje w buljonach zasadowych zmieniają odczyn podłoża w ten sposób, iż z początku przechylają go nieco w kierunku kwasowości, by później definitywnie zalkalizować podłoże, nie wyżej od Ph=9 (przynajmniej w tym okresie czasu, w którym badania były przeprowadzone). O ile chodzi o podłoże mniejwięcej obojętne, to bakterje zatrzymują jak gdyby ów odczyn przez krótki czas, by później zalkalizować je do tej samej wysokości, jaką osiągnęły w odczynach zasadowych. Podłoża zupełnie kwaśne odrazu zmieniały swój odczyn pod wpływem wzrostu bakterij też do tej samej mniejwięcej wysokości, jak w wyżej wymienionych podłożach.

Przypatrując się szeregom badanych odczynów w ciągu obserwacji i danym liczbowym ruchem, możemy spostrzec pewną

prawidłowość, a mianowicie w odczynach zasadowych z początku gdy następowało owo lekkie zakwaszenie, intensywność ruchu nieco się polepszała, by spaść gdy tylko zaczęła się alkalizacja podłoża. W odczynach obojętnych najintensywniejszy ruch był z początku, później się pogarszał, odczyn zaś podłoża z początku zatrzymywał się na punkcie obojętnym, by później zmienić się na coraz bardziej alkaliczny. Natomiast w kwaśnych podłożach ruch poprawia się przez kilka dni, dochodzi do maximum, później zaś pogarsza się zupełnie. Odczyn w danych hodowlach przesuwiał się stale w stronę reakcji zasadowej.

Część II. Tablica II A.

Ta część zawiera badania dodatkowe. Ponieważ z poprzednich badań wynika, że w odczynach zasadowych polepsza ruch zakwaszanie, a w kwaśnych alkalizacja, a więc zakwaszanie przyspuszczalnie pogarsza, wobec tego wykonałem kilka seryj badań, opartych na technice następującej. Otrzymałem szereg hodowli o różnych stężeniach Ph, każde stężenie miało 2 identyczne hodowle. Do jednej dolewałem codziennie po jednej kropli 5%-go kwasu octowego, drugą zaś badałem jako hodowlę kontrolną.

Zasiałem 5 buljonów o stężeniach kolejnych: Ph 9,01, 7,61, 7,22, 6,68 i 6,18. Badania trwały 10 dni. Następnego dnia otrzymałem wyniki następujące. W pierwszej hodowli bakterje nie wyrosły. W drugiej ruch był silny, pałeczki o długości 6 — 8 mikr. Intensywność ruchu maksymalna wynosiła 60 mikr/sek., ilość przebiegających ruchem postępowym w polu „x” 200.

W trzeciej hodowli otrzymałem wyniki, nad którymi muszę nieco się zatrzymać. Oglądając preparat w ciągu kilku pierwszych minut, spostrzegałem ruch dość silny, jednak stojący mniej więcej na poziomie ruchu innych hodowli o stężeniach pokrewnych. Po niejakiem czasie ruch na brzegu zaczął się zwiększać, aby wreszcie dojść do tak wysokiej intensywności, jaką zauważyłem tylko u świeżej cholery. Innych gatunków o tak silnym ruchu, przy dotychczasowym oglądaniu, w zwykłych warunkach pracownianych nie spostrzegłem. Przytem ruch ten posiadał następujące cechy:

- 1) Ulubionem jak gdyby miejscem były zachyłki.
- 2) Bakterje sze-

TABLICA II.A.

P _H		9,01		7,61		7,22		6,68		6,18	
L. dnia	Zakwaszone	Kontrola	Z		K		Z		K		
			V	X	V	X	V	X	V	X	
I	0	0	0	$\frac{60}{52} \frac{200}{190}$	$\frac{60}{52} \frac{200}{190}$	∞	$\frac{40}{36} \frac{200}{200}$	$\frac{40}{36} \frac{200}{200}$	0	0	
II	$\frac{+K_{was}}{15} \frac{13}{10}$	$\frac{8}{20}$	$\frac{40}{28} \frac{105}{84}$	$\frac{28}{10} \frac{30}{40}$	$\frac{+K_{was}}{0}$	$\frac{40}{30} \frac{82}{150}$	$\frac{20}{10} \frac{30}{30}$	0	0		
III	$\frac{20}{15} \frac{40}{25}$	$\frac{10}{8} \frac{20}{15}$	$\frac{20}{20} \frac{15}{15}$	$\frac{20}{10} \frac{40}{40}$	$\frac{+K_{was}}{0}$	$\frac{40}{35} \frac{150}{90}$	$\frac{10}{20} \frac{25}{20}$	0	0		
IV	$\frac{20}{13} \frac{150}{120}$	$\frac{13}{11} \frac{100}{80}$	$\frac{5}{4} \frac{4}{3}$	$\frac{20}{8} \frac{6}{5}$	$\frac{+K_{was}}{0}$	$\frac{80}{70} \frac{150}{100}$	$\frac{40}{35} \frac{100}{80}$	$\frac{20}{10} \frac{45}{12}$	20	82	
V	$\frac{20}{13} \frac{50}{42}$	$\frac{4}{4} \frac{2}{1}$	0	0	0	$\frac{7}{5} \frac{4}{4}$	$\frac{40}{25} \frac{50}{45}$	$\frac{20}{15} \frac{18}{56}$	20	60	
VI	$\frac{20}{5} \frac{6}{4}$	0	0	0	0	$\frac{7}{5} \frac{4}{4}$	$\frac{13}{12} \frac{20}{15}$	$\frac{30}{18} \frac{20}{58}$	20	66	
VII	0	0	0	0	0	$\frac{13}{13} \frac{10}{10}$	$\frac{20}{15} \frac{30}{18}$	$\frac{200}{100} \frac{40}{100}$	200	200	
VIII						0	$\frac{8}{4}$	$\frac{40}{100}$	40	100	
IX							0	$\frac{10}{50} \frac{20}{20}$	8	20	
X								0	0	0	

regowały się jedna za drugą, pędząc naprzód. 3) Bakterje tworzyły spirale, zarazem w swych torach leżąc jedne obok drugich tworząc bardzo charakterystyczny kształt bruzd skórnych na opuszkach palców. Muszę tu jednak podkreślić fakt, iż ruch ten był rzeczywisty i bezwzględnie nie miał nic wspólnego z wyżej wymienionym ruchem biernym. Ruchu tego naturalnie nie można było obliczyć, ani stwierdzić liczb bakteryj w polu „x”. W środku kropli ruch nie wyróżniał się niczem, był silny o szybkości około 80 mikr/sek.

W czwartej hodowli ruch był słabszy, lecz również dość silny. Pałeczki długie na 6—8 mikr. Intensywność ruchu 40 mikr/sek. o 200 jednostkach ruchliwych w polu „x”.

W piątej hodowli nic nie wyrosło.

Następnie do tych hodowli dodałem po jednej kropli kwasu, zostawiając nienaruszone hodowle kontrolne i natychmiast zbadałem ruch. Okazało się, iż ruch w hodowli zasadowej zmniejszył się w obojętnej również, w kwaśnej został zupełnie zniesiony. Pozostał tylko ruch w miejscu.

Następnego dnia stwierdziłem porównawczo badając hodowle, iż w zasadowej hodowli bez kwasu ruch był słabszy (nawet słabszy niż dnia poprzedniego): szybkość wynosiła 18 mikr/sek., ilość o ruchu postępowym 30. Hodowla z kwasem miała wyniki nieco lepsze. Szybkość 40 mikr/sek. przy ilości 105.

W hodowli obojętnej ruch spadł również dość silnie do 40 mikr/sek., przy ilości bakteryj ruchomych postępowo 82, podczas gdy w hodowli zakwaszonej nie było zupełnie ruchu postępowego.

Intensywność spadła również w hodowli kwaśnej do 20 mikr/sek., przy ilości w polu „x” wynoszącej 30. Natomiast z kwasem żadnego ruchu nie otrzymałem.

Drugiego dnia wyrosły bakterje na buljonie pierwszym o Ph 9,01. Ruch był bardzo słaby, około 13 mikr/sek. przy ilości w polu „x” wynoszącej 8. W dniu tym dodałem do jednej hodowli jedną kroplę kwasu, która specjalnych zmian nie wywołała.

Trzeciego dnia w buljonie piątym o Ph 6,18 nastąpił wzrost bakteryj o długości dochodzącej 9 mikr., których ruch w dniach następnych zaczął się coraz bardziej rozwijać, dochodząc do 40 mikr/sek. i do ilości 200 jednostek w polu „x”. Ruch ten utrzy-

mywał się dość długo i dopiero po 10 dniach został zupełnie zahamowany. Po dodaniu jednej kropli kwasu ruch został zahamowany momentalnie.

Jeśli chodzi o dalsze badania porównawcze wszystkich hodowli to otrzymałem następujące wyniki: w hodowli zasadowej ruch w buljonie kontrolnym wzrastał z dnia na dzień, by dojść czwartego dnia do szybkości 13 mikr/sek., a ilość bakterij w polu „x” wyniosła 100. W hodowli zakwaszanej ruch osiągnął maximum w dniu czwartym, o wiele wyższe od kontrolnego (20 mikr/sek., ilość w polu „x” 150) i trwał dłużej.

W hodowli o odczynie zbliżonym do obojętnego stwierdzałem w kontroli spadek, a następnie wzrost ruchu. Oscylacje te trwały do dnia 7-go. Natomiast w hodowli zakwaszanej nastąpiło zupełne zahamowanie ruchu, trwające przez cały czas badań przy dodawaniu kwasu octowego.

W hodowlach kwaśnych w kontroli następował równomierny wzrost i zwiększenie intensywności, podczas gdy w hodowli zakwaszanej również nastąpiło momentalne zahamowanie, trwające do końca badań.

Drugą część badań dodatkowych podaję w tabeli, albowiem ona nic nie przynosi nowego, potwierdzając naogół poprzednie wyniki. Zaznaczam więc, iż w hodowli Ph 6,8 (a więc zbliżonej do obojętnego odczynu) otrzymałem indentycznie szybki ruch, jak poprzednio przy Ph 7,22. Również i w hodowlach o wyższej zasadowości i kwasocie ruch i wzrost wystąpił dopiero po jakimś czasie, a nie po 24 godzinach, a rozwijał się wg. reguł wyżej podanych (tablica II B).

Wyniki obserwacyj.

W hodowlach zasadowych ruch ze stanu zerowego podnosi się do maximum i opada. W hodowlach z dodatkiem kwasu intensywność podnosi się do wyższej wartości, niż w kontrolnych. Ale w hodowlach kwaśnych i obojętnych zauważyłem po dodaniu kwasu, coś nieoczekiwanego. Mianowicie ruch odrazu ustawał i przy ciągłym dodawaniu kwasu nigdy się w następnych dniach nie odnowił. Jak sobie te zjawiska możemy wytłumaczyć?

T A B L I C A II B.

P _H	9,3		8,8		8,3		7,7		6,8		6,3		5,9	
	Zakwa- szane	Kon- trola	Z	K	Z	K	Z	K	Z	K	Z	K	Z	K
	V	X	V	X	V	X	V	X	V	X	V	X	V	X
I	0	0	0	0	80	200	100	400	∞		80	150	0	0
	+K _{was}		+K _{was}		+K _{was}		+K _{was}		+K _{was}		+K _{was}			
II	0	0	20	20	70	150	80	300	0	0	70	120	0	0
III	20	10	20	15	20	20	40	100	20	20	80	150	0	0
	14	8	5	4	14	15	35	80	15	15	60	200	20	20
IV	20	80	45	150	20	15	0	13	30	50	60	170	15	15
	15	75	16	15	40	80	60	120	60	40	60	200	20	20
V	40	110	40	10	30	60	50	110	50	38	55	150	0	0
	30	100	8	8	40	100	20	50	60	30	80	150	20	20
VI	40	55	0	0	35	120	10	10	50	28	52	130	20	23
	40	60			30	110	8	8	34	20	60	50	10	2
VII	38	55			20	15	0	0	30	12	25	15	40	50
	0	0			15	12	13	15	40	0	50	40	20	36
VIII					20	20	11	12	0	0	13	10	60	100
IX					15	8	0	0	13	10	10	2	55	85
					10	5	0	0	12	8	5	40	40	150
X					8	4	0	0	0	0	10	2	20	98
					0	0	0	0	0	0	5	40	60	60
XI											5	1	20	50
XII											5	0	10	45
											0	0	8	25
XIII													10	20
XIV													8	8
													0	1

Objaśnienia tablic

- 1) L. dnia: — Kolejny dzień, licząc od dnia zasiania wyłącznie.
- 2) „X”: — Liczbę bakterij, poruszająca się ruchem postępowym w polu o pow. $\frac{25}{15} \mu$ przeciągu 1 minuty $\left(\begin{array}{l} X = \text{liczba maximum} \\ X = \text{.. średnia} \end{array} \right)$.
- 3) „V”: — Szybkość bakterij: czas — 1 sekunda, droga — 1 μ
 $\left(\begin{array}{l} V = \text{maximum} \\ V = \text{średnia} \end{array} \right)$.
- 4) „B”: — Liczbę bakterij ruchomych w miejscu w 16 kwadratach o wym. $\frac{25}{25} \mu$.
- 5) „C”: — Liczbę bakterij nieruchomych w miejscu w 16 kwadratach o wym. $\frac{25}{15} \mu$.
- 6) P_H : — Stężenie jonów wodorowych (odczyn podłoża).
- 7) „M”: — Masy zbite bakterij, gdzie poszczególne osobniki odróżnić się nie dadzą.
- 8) ∞ Liczbę, względnie szybkość bakterij nie dające się uchwycić z powodu zbyt wysokich wartości.
- 9) + Kwas: — Dzień, w którym zostaje dodana pierwsza kropla 5% kwasu octowego (Zmienia P_H o 0,5 — 0,7).

Opierając się na poprzednich badaniach, iż najlepsze warunki ruchu są w Ph 7, łatwo sobie wytłumaczymy w hodowlach zasadowych przy dodawaniu kwasu, przyspieszanie i dopomaganie regulacji Ph do punktu obojętnego. Gdy jednak dodajemy do hodowli mniej zasadowej jedną kroplę kwasu, wtedy odrazu przekraczamy Ph 7 i stwarzamy gorsze warunki. Upośledzenie następuje coraz szybciej w następnych dniach, przy dodawaniu kwasu, jak to widzimy w hodowli o Ph 7,61, 8,3, 7,8. Natomiast w hodowlach obojętnych i kwaśnych widzimy jak gdyby paraliż bakterij. Posiadają one jedynie ruch w miejscu. Tłumaczenie wygląda jak następuje: Wolny kwas w minimalnej długości czasu pozostawał niezobojętniony i przypuszczalnie poraził rzęski jako najczulszą część ciała bakterij. Że nie zabił bakterij to jest byt pewne, albowiem jedna kropla kwasu dodana do buljonu zmieniała odczyn o 0,5 — 0,7 Ph, a przecież w tem stężeniu bakterje rozwijają się zupełnie dobrze. W hodowlach zasadowych wyższych znajdował się już wolny zapas jonów OH, które wogóle nie dopuszczały do zatrzymania się wolnych jonów H i paraliżu nie było. Jak więc wynika z obserwacyj, kwas w hodowlach zasadowych ruch polepszał, w zbliżonych do obojętnych pogarszał, w obojętnych i kwaśnych kompletnie niszczył.

Pierwszą kwestją, nad którą chciałem się zastanowić, są optymalne warunki dla ruchu bakterij. W literaturze pierwsze wzmianki o ruchu b. prodigisum podał *Davaine*, który wręcz określił te bakterje jako zupełnie nieruchome. Następnie *Schottelius* znajdował już pałeczki żywo ruchome, opatrzone rzęskami. Zauważył jednak, iż bakterje te są tylko ruchome w kwaśnych pożywkach natomiast w alkalicznych tracą ruch. Dalsze badania wykazały, iż na pożywkach alkalicznych tworzą się ziarenka, które w kwaśnych podłożach przechodzą w pałeczki (*Wassercug*). Według *Küblera* owe ziarenka miały być prawidłową formą, podczas gdy pałeczki są formą zwyrodniałą. Następuje bowiem w hodowlach kwaśnych zahamowanie wzrostu, chociaż są one żywo ruchome. *Scheuerlen* obala to twierdzenie, przypuszczając słusznie, iż raczej w hodowlach alkalicznych znajduje się pewien czynnik, powodujący zahamowanie wzrostu i ruchu. Tłumaczy on to w sposób następujący: w hodowlach alkalicznych mnożą się produkty przemiany materji

silnie alkaliczne, niczem nie neutralizowane. działające na zewnętrzne warstwy ciała bakteryj, a więc i na rzęski, powodując ich pęcznienie i rozpuszczenie. Owe rozpuszczone masy miałyby być śluzem, który właśnie powoduje zahamowanie ruchu. Faktem popierającym tę teorię miały być otoczki, wyraźne, w późniejszym okresie zatarte, które autor otrzymywał w alkalicznych hodowlach zawierających już ziarenka. *Schottelius* nie szedł tak daleko, tłumacząc gorszy ruch w alkalicznych hodowlach ogólnie dużą ilością produkowanego śluzu, który mechanicznie utrudnia rzęskom pracę. *Schenerlen* natomiast tłumaczy wytwarzanie śluzu bardzo poważnymi zmianami degeneracyjnymi. Lepszy stan ruchu w kwaśnych hodowlach obaj autorzy tłumaczą zgodnie neutralizacją produktów alkalicznych przez kwas podłoża. Chciałbym jeszcze zaznaczyć, iż w tych badaniach oznaczanie kwasoty względnie alkalescencji było bardzo niedokładnie z powodu niezajomości pojęcia stężenia jonów wodorowych, jakoteż z powodu braku odpowiednich przyrządów.

Wnioski wypływające z moich badań mogę sformułować:

Najintensywniejszy ruch znajdowałem w pożywkach o odczynie zbliżonym do obojętnego. Albowiem jak wynika z badań tylko w granicach Ph 6,8 — 7,2 mieliśmy ów potężny ruch, wprost nieuchwytny dla oka. Z chwilą przyjęcia tego wniosku, tłumaczenie powyższych autorów nie wystarcza. Gorsze warunki w reakcjach alkalicznych może dadzą się wytłumaczyć wytwarzaniem śluzu, nigdy jednak nie zgodzę się na tłumaczenie *Scheuerlena* jakoby bakterje miały być ogołoczone z rzęsek. Przedewszystkiem mamy następujące dowody przeciwko temu:

1) dość duża intensywność ruchu w reakcjach wysoko alkalicznych,

2) dość szybki ruch pałeczek, rozmiarami zbliżonych do ziarenek *Schotteliusa*,

3) kolejne polepszanie się intensywności ruchu w miarę starzenia się dodowli.

W tym wypadku jak z tablic wynika, bakterje zakwaszają nieco podłoże w pierwszych dniach, można więc przypuścić, iż one tem samem neutralizują nieco szkodliwy wpływ produktów przemiany materji. Przyczyny szkodliwości jednak nie muszą pole-

gać w 100 procentach na owem wytwarzaniu śluzu. Częściowo rzeczywiście śluz może wpływać mechanicznie ujemnie na ruch, ale głównie według mego zdania sprawa zależy od samozatrucia, o którym niżej będę szerzej mówił. Z drugiej strony teoria *Scheuerlena* zupełnie nie tłumaczy nam dlaczego w reakcjach kwaśnych ruch jest gorszy niż w obojętnych i dlaczego w toku hodowania ruch bakterij się polepsza. Z mojej strony mogę łatwo wytłumaczyć, że środowisko kwaśne jest dla bakterij zarówno zabójcze, jak i środowisko alkaliczne. Wobec tego bakterje same starając się przechylić odczyn w stronę zobojętnienia osiągają pewien skutek, polepszając swój ruch. Chcę jeszcze dodać godną zastanowienia uwagę: kto wie, czy kwas nie jest bardziej zabójczy dla bakterij.

Jako dowód mamy fakty następujące:

1) jedna kropla kwasu słabego dodana nawet do pożywki odczynie obojętnym, prawie momentalnie paraliżowała ruch. A przecież przesunęła odczyn tylko o 0,5 — 0,7 na stronę kwaśną, a jako wolny kwas kropla ta działała przez czas bardzo krótki,

2) dalszy dowód mamy w rozpiętości ruchu z jednej strony w odczynie kwaśnym, a z drugiej w odczynie alkalicznym. W Ph 5,55 mamy po zasianiu zdeklarowaną jałowość. Około Ph 6 początek ruchu. Z drugiej strony granica sięga do 9,3, a może i wyżej. Ostatni dowód: na bardzo alkalicznym podłożu, gdy ruch po pewnych wahaniach zostaje zahamowany, zawsze jednak pozostaje przez długi czas 1 — 2 bakterij ruchomych postępowo i część ruchomych w miejscu, tymczasem w podłożach sztucznie zakwaszanych codziennie, gdzie ruch bakterij zostaje zupełnie zahamowany, tam w preparacie stopniowo ustępuje także ruch w miejscu, a nawet sama liczba bakterij. W końcu badania widzimy tylko gdzieś leżące nieruchome pałeczki. Wynika stąd, iż ów śluz w porównaniu z potężnem działaniem kwasów nawet w minimalnej ilości i małym stężeniu jest dla bakterij czynnikiem prawie obojętnym. Z drugiej strony w hodowlach zakwaszanych sztucznie ilość bakterij była nikła, a męt nieproporcjonalnie silny. Wynika stąd, iż tworzą się jednak jakieś produkty nierozpuszczalne, niezależnie od tego, iż samo białko bakterij może się stracić. A więc nie jest wyłącznym przywilejem zasad tworzenie

pewnych związków bądź co bądź wpływających ujemnie na żywotność bakteryj.

Co do wyników bezwzględnych naturalnie interesują nas wyniki najwyższe, które nam dają pouczający przykład, jak bakterje, których intensywność nie jest specjalnie w literaturze podkreślona, mogą okazać się równie ruchliwymi, jak bakterje cholery, paratyfusu B i inne.

Obecnie chciałbym rozpatrzyć zachowanie się ruchu w przebiegu hodowania. Ponieważ jednak cała praca jest potraktowana ze stanowiska zależności ruchu od stężenia jonów H, rozpatrzę przede wszystkim tę sprawę. Rzut oka na tablicę I wskazuje, jak już wyżej wspomniałem, iż stężenie zachowuje się nieco inaczej w hodowlach alkalicznych niż w kwaśnych. W pierwszych możemy odróżnić dwa okresy, mianowicie: 1) obserwujemy stopniowe zakwaszanie, trwające przeciętnie 4 — 6 dni. Wtedy następuje zwrot w stronę zasadowości i Ph dochodzi do pewnej stałej (przynajmniej w moim okresie czasu badania) wahającej się między 8,5 — 8,8. Jeśli idzie o hodowle obojętne i kwaśne, tam mamy jakgdyby lekkie zatrzymywanie się danego stężenia w hodowlach obojętnych lub zbliżonych do nich, następnie zjawia się stopniowy wzrost alkalizacji, w kwaśnych natomiast odrazu ów wzrost dochodzący do stałej wyżej wspomnianej. Zaznaczam, iż wyniki te nie są nowością. Obserwacje te bowiem były tylko koniecznym dodatkiem do zagadnienia interesującego mnie, lecz były zauważone o wiele wcześniej. Wspomnę tu tylko o pracach *Cluzeta*, *Hofmanna*, a przede wszystkim *Sierakowskiego*, nie wymieniając badaczy, wyliczonych w pracy *Sierakowskiego*. Zatrzymam się nietyle na samych faktach, ile raczej na przyczynach, albowiem one mi będą potrzebne w dalszych rozważaniach. *Sierakowski* a priori przyjmuje, iż zmiany w hodowlach alkalicznych są uwarunkowane przez pewną tendencję bakteryj do regulacji Ph w stronę odczynu obojętnego. Wszelkie zmiany w stronę alkalizacji wskazują na zamieranie kultury.

Jako przyczynę zakwaszania podaje produkcję CO₂. Alkalizację natomiast uzależnia od bliżej nieznanых produktów rozpadu białka. Co do mnie muszę zwrócić uwagę na jednostronne ujęcie regulacji stężenia jonów. *Sierakowski* podaje, iż bakterje

regulują, jakoby z odczynu zasadowego w stronę kwaśną, zdążając do punktu neutralnego, gdzie mają optimum życiowe. Nawiasem zaznaczę, iż takie stanowisko odpowiada moim wynikom wyżej przytoczonym. Lecz jeśli sprawa się tak ma, to zachodzi pytanie, dlaczego bakterje nie miałyby zdolności regulowania odczynu kwaśnego w stronę zasadową, a więc do punktu obojętnego, optymalnego? I tu zachodzi kolizja między moimi badaniami, a przypuszczeniami *Sierakowskiego*. Według niego alkalizacja jest objawem zamierania hodowli, natomiast zwiększenie ruchu wyraźnie dające się odczytać z tablicy I i II A i B w ciągu hodowania kultur na kwaśnych podłożach, właśnie świadczy o dążeniach do optimum bakteryj również i w tych podłożach. Mowy więc niema o zamieraniu, chyba, że mamy do czynienia z bardzo wysokimi stężeniami alkalicznymi, przekraczającymi rozpiętość życiową bakteryj.

Co się tyczy teorii zakwaszania według *Sierakowskiego*, a więc jednostronnej regulacji, zbiegają się one z pracami nad oddychaniem. Już badania *Lübbeöta* i *Hessa* dostarczyły nam materiału w tym kierunku. Stwierdzili oni, że bakterje oddychają zupełnie tak samo, jak istoty wyższe, pochłaniając tlen i wydalając CO_2 . Oddychanie to zwane intramolekularnem osiąga swoje maximum w warunkach optymalnych. Badania *Schittenhelma-Schratera*, *Riemera*, *Bielinga* i innych potwierdziły całkowicie wnioski *Hessa*, posuwając nawet pracę naprzód (oznaczenie wskaźnika oddechowego i t. d.).

Tłumaczenie regulacji podane przez *Sierakowskiego*, jeżeli uwzględnić jego teorię o zamieraniu hodowli w środowiskach alkalicznych, przybiera następującą postać: w hodowlach alkalicznych bakterje oddychając wydalają CO_2 , który częściowo adsorbuje się, neutralizując alkalja, tworzy obojętne węglany i tem samem reguluje Ph w kierunku zohojętnienia. W dalszym ciągu z powodu zamierania hodowli regulacja znika, albowiem bakterje przestają oddychać. W kwaśnych hodowlach CO_2 nie może niczego wiązać i wypierany przez kwas podłoża ulatnia się.

Zachodzi teraz pytanie czy CO_2 wystarczy dla owej zmiany początkowej, jeśli równocześnie mamy przemianę skierowaną w stronę alkalizacji? Jesliby nawet wystarczyło, to dlaczego w toku dalszego hodowania działanie znika kompletnie jeśli według badań *Bielinga* oddychanie intramolekularne istnieje mimo zahamowania

wzrostu zapomocą surowic, środków antyseptycznych, a tembardziej zapomocą alkalizacji wpływającej z własnej przemiany materji? Po trzecie samo oddychanie zależy od zbyt wielu czynników (podział na oddychanie kinetyczne i plazmородne), aby mogło sprzyjać jakiejś regulacji, jeśli wogóle chcemy wprowadzić ten wyraz.

Wytłumaczenie może nam dać nowy czynnik. Według badań *Bertarellego i Scheurlena* bakterium *prodigiosum* wytwarza obok produktów alkalicznych również i kwaśne: kwas mrówkowy, bursztynowy i bezwodnik kwasu bursztynowego. Czyli tu już mamy czynnik, pochodzący jak i alkalizacja z samej przemiany materji i gra tych obu kategorii produktów kwaśnych i alkalicznych może nam dać pojęcie o regulacji. Teraz bowiem jest dla nas jasnem, iż w hodowlach alkalicznych, przemiana kieruje się z początku na tory kwaśne, później zostaje odwrócona w kierunku produkcji alkalizacji. W hodowlach obojętnych mamy z początku oscylację w jedną i drugą stronę, w hodowlach kwaśnych przemiana wkracza na tory alkaliczne, polepszając żywotność bakteryj.

Co się tyczy oddychania odbywa się ono w każdym stężeniu Ph, najintensywniej naturalnie w odczynie obojętnym. Wydalany CO_2 może regulację wspomagać, przeciwdziałać jej lub też ułatwiać się i nie mieć żadnego wpływu.

Zachodzi teraz pytanie, dlaczego bakterium *prodigiosum* na buljonie, zdecydowanie zmienia odczyn w stronę alkaliczną. Na to mamy jedną odpowiedź: zgóry zaznaczamy że zwrot w danej hodowli ściśle zależy od gatunku pożywki, a więc np. na pożywce białkowej przemiana alkaliczna przeważa z początku wyżej wspomnianym mechanizmem, o ile to zależy od sił żywotnych bakteryj, podczas gdy w pożywce np. cukrowej przeważa przemiana kwaśna. Przypuszczalna regulacja na tej pożywce wynikająca z powyższej dyskusji pozostaje jeszcze kwestją otwartą. Stwierdzenie jej zgadza się zupełnie z wyżej przezemnie podanym mechanizmem regulacji obustronnej.

Po skonkretyzowaniu kwestji zmian stężenia jonów wodorowych w trakcie hodowania, przychodzę do omówienia drugiego punktu mych wniosków, mianowicie, jak zachowuje się ruch w różnych podłożach w ciągu pewnego okresu czasu. Naogół możemy

powiedzieć, iż podąża on wiernie za regulacją odczynu. Widzimy bowiem w hodowlach zasadowych, nawet w tych, gdzie wogóle nie było żadnego ruchu postępowego, wytwarza się on po pewnym okresie czasu, dochodzi do optimum mniej więcej w tym czasie, gdy regulacja dochodzi do maximum, gdy więc odczyn jest najbardziej zbliżony do punktu neutralnego. Jeśli chodzi o hodowle kwaśne, to tam zupełnie zgadza się z teorią regulacji do tego stopnia nawet, że hodowla osiąga maximum ruchu mniej więcej wtedy, gdy Ph dojdzie do punktu neutralnego, a więc optymalnego. Co do hodowli o odczynie obojętnym, to osiągają one maximum już w pierwszym dniu, czyli znów wtedy, gdy mają najlepsze warunki życiowe, albowiem później następuje alkalizacja, odbiegająca od optimum życiowego. Wyniki badań dodatkowych, zakwaszanie hodowli zasadowych, a więc przyspieszanie regulacji daje nam piękne dopełnienie naszych badań w kierunku hodowli o odczynie zasadowym, do tego stopnia, iż maximum swoje o wiele wyższe niż kontrola osiąga hodowla po dojściu do Ph 7. Owo maximum jest przypuszczalnie o wiele wyższe niż w kontroli dlatego, iż ta nigdy, szczególnie w wysokich odczynach, nie dochodzi do Ph 7. Jeśli chodzi o drugą część badań, a więc o dodawanie kwasu do hodowli kwaśnych i obojętnych, tam następuje owo nieoczekiwane momentalne paraliżowanie ruchu, o którym wyżej wspomniałem. Na to jednak, że ów paraliż dotyczy tylko narządu ruchu, a więc rzęsek, wskazuje fakt iż w gdy oddzielnych zupełnie badaniach po kilku dniach zaprzestaliśmy regularnego codziennego dodawania kwasu, ruch został odzyskany i doszedł stopniowo do dość wysokiego maximum.

Badania powyższe mają nietylko znaczenie teoretyczne, gdyż popierają dość wyraźnie teorię obustronnej regulacji, ale także i praktyczne.

W myśl powyższych twierdzeń, jeśli z jednej strony mamy przed sobą hodowlę o osobnikach nieruchomych, nie możemy od razu stwierdzić braku ruchu, z drugiej gdy widzimy bakterie o ruchu leniwym również nie wiemy, czy to jest ich rzeczywisty ruch, czy później nie wzrośnie — czyli innemi słowy optimum ruchu niekoniecznie musimy mieć już w pierwszym dniu, jak to dotychczas przyjmowano, tembardziej, iż zwykle nie mamy po-

żywki obojętnej o Ph 7, lecz zawsze o Ph przesuniętem w stronę alkaliczną.

Pozostaje mi przy końcu omówić charakterystykę owego ruchu w miejscu, którego definicję podałem na wstępie. Nie należy ona do rzeczy łatwych. Albowiem ów ruch mógłbym postawić na pograniczu między ruchem rzeczywistym bakteryj, a ruchem Browna. Opracowanie jego, wyeliminowanie ruchu Browna wymaga obszernej pracy. Tu tylko chciałbym podać kilka momentów, luźno związanych ze sobą, które będą jak gdyby pomostem między tą a następną pracą. Chcąc więc wyeliminować ruch Browna trzeba znać jego zasady. Wprawdzie istnieją wzory, podane przez *Einsteina* na rotację drobin kulistych i na ruch postępowy ciał elipsoidalnych (Vide: *Freundlich: Kapillarchemie*), natomiast badanie ruchu rotacyjnego pałeczek, tak wyraźnie występującego w moich preparatach, pozostaje dziedziną dotąd niezbadaną. Następnie ruch ten widziałem wśród gatunków ogólnie przyjętych za nieruchome jak pał. czerwoni, jakoteż z drugiej strony spostrzegałem go na zupełnie świeżym szczepie tyfusu w buljonie cukrowym. Nie można więc zupełnie ściśle odgraniczyć owego ruchu od ruchu Browna i odrzeczywistego ruchu postępowego, albowiem istnieją przejścia. Począwszy bowiem od ruchu drgającego tylko najdrobniejszych pałeczek w hodowlach, które przez 5 min. znajdowały się w temperaturze 100 C poprzez ruch pał. czerwinkowej dochodzimy do ruchu rotacyjnego tyfusu w buljonie cukrowym i ruchu bakterium prodigiosum w hodowlach wysoko zasadowych, a z nich przez ruch rotacyjno-postępowy b. subtilis do rzeczywistego ruchu postępowego tyfusu, b. prodigiosum, cholery i in.

Rzut oka na powyższy szereg wskazuje, iż szukając przyczyny owych rotacyj możemy przedstawić tylko trzy: 1) ruch Browna, 2) ruch samego ciała bakteryj, 3) nieskoordynowany ruch rzęsek w specjalnie złych warunkach. Bakterja może przypominać wtedy łódź, której wiosła uderzają nierównomiernie, powodując zamiast posuwania się naprzód kręcenie się w miejscu. Zróżniczkowanie tych czynników ma ogromne znaczenie dla fizjologii drobnoustrojów.

Institut de Baktériologie et Sérologie de la Faculté de Médecine de l'Université
à Varsovie. (Dir. Prof. Dr. R. Nitsch).

ÉTUDE SUR L'INTENSITÉ ET LE CARACTÈRE DE LA MOBILITÉ DU „BACTERIUM PRODIGIOSUM” SOUS L'INFLUENCE DE LA CONCENTRATION ET DU CHAN- GEMENT RÉGULATEUR DES IONS DANS LE MILIEU

*Observations faites au cours des recherches sur l'influence
du milieu sur la physiologie et la morphologie des bactéries*

P a r

M. LANDESMAN

R É S U M É

Dans un milieu neutre le mouvement progressif du „bactérium prodigiosum” atteint une vitesse maximale plus grande que celle observée par d'autres auteurs. Les bactéries ci dessus ont la capacité de produire des changements de la réaction du milieu (le milieu alcalin est changé en neutre et le milieu acide est probablement aussi changé en neutre). Cette régulation augmente l'intensité du mouvement des bactéries. Sous l'influence de la réaction du milieu, la forme morphologique du „bacterium prodigiosum” subit des changements. Dans un milieu alcalin il prend la forme d'un coccus dans un milieu neutre ou acide celle d'un long et mince batonnet. La dégénération des bactéries se fait apercevoir dans la formation des fils et des granulation. L'addition d'une goutte d'acide acétique dans la culture faiblement alcaline, neutre ou acide provoque un arrêt immédiat du mouvement progressif qui change deux ou trois jours après qu'on a cessé l'addition d'acide. Les bactéries dans des conditions non optimales possèdent un mouvement caractéristique sur place. Les causes probables sont:

- 1) le mouvement Brownien
- 2) le mouvement du corps bactérien
- 3) le mouvement non coordonné des cils.

P I Ś M I E N N I C T W O.

1) Aubel: C. r. Soc. de Biol. 78. 1915. 2) Burghardt: Archiv für Hyg. 82. 1914. 3) Bertarelli: Zentr. für Bakter. I. Abt. Orig. 34, Nr 3. 4) Scheuerlen: Arch. für Hyg. 1896. 5) Schottelius: Festschrift für Albert von Kölliker Leipzig 1887. 6) Sierakowski: Medyc. Dośw. i Społ. 1923. Tom I, str. 79. 7) Zawadzki: Zeitschr. für Untersuchungen der Nahrungs und Genussmittel 32. 1916. 8) Kolle-Kraus-Uhlenhuth: Handbuch der pathogenen Mikroorganismen 1929. Allgemeine Morphologie und Biologie der pathogenen Mikroorganismen. Von Pr. Dr. E. Gotschlich.

Wpłynęło 24.VI.1933.

Z Miejskiego Instytutu Higieny m. Warszawy.

ŚCIĘTE BIAŁKO JAJA KURZEGO, JAKO PODŁOŻE DO BADANIA ZDOLNOŚCI BARWIKOTWÓRCZEJ DROBNOUSTROJÓW.

P o d a l i

A. ŁAWRYNOWICZ i M. STANKOWSKA

Zdolność barwikotwórcza drobnoustrojów nie zawsze występuje wyraźnie. Zależy ona od szeregu rozmaitych czynników środowiska i otoczenia (skład podłoża, t^0 , tlenowość i inne).

Przed laty jeden z nas (*Ławrynowicz*) hodując gonokoki na ściętym białku jaja kurzego otrzymał u części badanych szczepów wyraźną zdolność wytwarzania barwika żółtego. Spostrzeżenie to nasunęło myśl wykorzystania ściętego białka jaja kurzego do stwierdzania własności barwikotwórczych drobnoustrojów.

W tym celu poddaliśmy badaniu szereg rozmaitych szczepów, zasiewając je równolegle na agar, ścięte białko jaja kurzego i ściętą surowicę (podłoża Löfflera).

Pierwszą grupę spostrzeżeń stanowią drobnoustroje wytwarzające barwik. Na pał. ropy błękitnej (2 szcz.) i *b. prodigiosum* (2 szcz.) stwierdziliśmy, że szczepy laboratoryjne, które nieomal całkowicie straciły zdolność wytwarzania barwika, po przesiewie na ścięte białko jaja kurzego dawały wybitne wzmożenie zdolności barwikotwórczej.

Gronkowce (18 szczepów) białe i wytwarzające barwik po przesiewie na ścięte białko stałe dawały wzmożenie intensywności

barwika szczepów barwikotwórczych. Bardziej interesującym jest, że szczepy gronkowca białego w kilku przypadkach (3 szczepy) w równoległych posiewach dały na ściętym białku jaja kurzego wyraźny barwik żółty.

Drugą grupę spostrzeżeń stanowią szczepy, normalnie nie wytwarzające barwika, które w części posiewów dały wynik dodatni.

Pał. okrężnicowa (39 szcz.) w 5 przyp. dała na ściętym białku jaja kurzego barwik żółty słabo zaznaczony. Chodziło w tym przypadku o typowe szczepy pał. okrężnicowej, posiadające podstawowe cechy charakterystyczne.

Przecinkowiec saprofityczny, otrzymany z wody, dający na agarze barwik kremowy, na ściętym białku dał wyraźny bładź żółty, rozpuszczalny barwik (barwiący całą grubość podłoża).

Saprofityczny, nietypowy (z powietrza) szczep pałeczki Gr—, nie dający barwika na agarze, dał na ściętym białku barwik żółty.

Trzecią grupę spostrzeżeń stanowią szczepy, które w posiewach na ściętym białku jaja kurzego w żadnym przypadku barwika nie wytworzyły. Ze względu na duże zainteresowanie, jakie wzbudziły w ostatnich czasach t. zw. barwikotwórcze szczepy pał. durowej, zasialiśmy na białko ścięte 26 szczepów pał. durowej. Po za tem zasiano b. paratyphi 21 szcz., b. dysenteriae 3 szcz., b. Bangi 3 szcz., pałeczki z grupy otoczkowców 4 szcz., b. proteus 3 szcz., b. proteus X_{19} 4 szcz.

Ze spostrzeżeń naszych (118 szczepów) wynika, że na ściętym białku jaja kurzego wytwarzanie barwika przez drobnoustroje barwikotwórcze odbywa się znacznie intensywniej niż na agarze i ściętej surowicy (podłoże Löfflera). Gatunki na agarze nie wytwarzające barwika mogą barwik dawać na ściętym białku.

Wyniki otrzymane można łączyć z dwoma właściwościami podłoża. Przedewszystkiem podłoże dając białe tło, umożliwia dostrzeżenie i stwierdzenie nawet bardzo słabo zaznaczonego barwika. Nie jest wyłączone po za tem, że również skład podłoża może oddziaływać pobudzająco na zdolność barwikotwórczą drobnoustrojów — mogą tutaj wchodzić w rachubę substancje witaminowe białka jaja kurzego, w znacznej części zachowujące się w podłożu po jego wyjałowieniu (t^0 80 — 3 razy).

Cardiazol

Nazwa zastrzeżona

**Środek
pobudzający
krążenie i oddychanie.**

Wskazania:

**Stany zapaści,
zaburzenia sercowe,
zaburzenia w krążeniu,
choroby zakaźne i zatrucia.**

Opak. oryg.: 10,0 liquidum (Zl. 4.—)
3 ampułki (Zl. 2.50)
6 ampulek (Zl. 4.50)
10 tabletek (Zl. 4.—).

Fabryka Chemiczna

„Pharmedia” Warszawa.

Główny skład sprzedaży:

Dom Handlowy R. Arcichowski, Warszawa, Galerja Luxemburga 61/63. — Tel. 613-21.

W pracy poświęconej metodyce badania własności proteolitycznych szczepów otrzymywanych z mleka *Rotkopf*, zasiewając szczepy na ścięte białko jaja kurzego, mogła również obserwować na tem podłożu wyraźniejsze występowanie zdolności barwikotwórczej drobnoustrojów.

Wniosek. Ścięte białko jaja kurzego jest dobrym podłożem do badania zdolności barwikotwórczej drobnoustrojów.

Institut Municipal d'Hygiène de la ville de Varsovie.

L'APPLICATION DE L'ALBUMEN D'OEUF COAGULÉ POUR L'EXAMEN DU POUVOIR CHROMOGÈNE DES MICROBES

p a r

A. ŁAWRYNOWICZ et M. STANKOWSKA

En examinant lesensemencements des différents microbes sur l'albumen d'oeuf coagulé les auteurs conclurent que ce milieu convient très bien pour la manifestation du pouvoir chromogène des microbes. Sur ce milieu les microbes chromogènes donnent un pigment intensif; les cultures particulières des microbes achromogènes peuvent donner parfois de pigment plus ou moins manifeste.

P I Ś M I E N N I C T W O .

1) Ławrynowicz A. Prace Komisji Lekarskiej Poznańskiego Tow. Przyjaciół Nauk. T. II, z. 4, 1927. 2) Rotkopf N. Medycyna Doświadczalna. T. XVI, s. 505, 1933.



Wpłynęło 11.VII.1933

Z Pracowni Mikrobiologicznej Wolnej Wszechnicy Polskiej.
(Kier. Prof. Dr. A. Ławrynowicz).

DZIAŁANIE WYCIĄGU WITAMINOWEGO (B) NA NIEKTÓRE WŁASNOŚCI DROBNOUSTROJÓW.

Podawa

R. LURJE

Liczne spostrzeżenia (ob. zestawienia zbiorowe *Eisenberga*, *Ławrynowicza*) wykazały, że dodatkowe czynniki odżywcze (witaminy) posiadają dla wzrostu i rozwoju drobnoustrojów wybitne znaczenie. Oddziałują one na intensywność wzrostu i żywotność bakterij na podłożach sztucznych, zdolność wytwarzania barwików, zjadliwość.

W szeregu badanych substancyj zwłaszcza dodatkowe czynniki odżywcze grupy B posiadały znaczenie dla życia i rozwoju bakterij.

Nie podając piśmiennictwa (ob. zestawienia) zaznaczymy, że w piśmiennictwie polskim rola czynnika B została poruszona w pracach *Gieszczykiewicza* (wyciąg z drożdży), *Kronenberżanki* i *Tenenbaumówny* (wyciągi roślinne z fasoli, grochu, z drożdży), *Ławrynowicza* i *Piotrowskiej* (wyciągi z otrąb pszennych metodą Marchlewskiego i Wierzchowskiego). Zawierając substancje witaminowe grupy B wyciągi te miały jednak skład niezwykle złożony ze względu na obecność jednocześnie szeregu rozmaitych innych substancyj. Dlatego też działanie tych wyciągów na drobnoustroje należało uważać za złożone, łączne działanie substancyj witami-

nowych B oraz innych składników wyciągów. W badaniach nad rolą witaminy B nasunęła się konieczność stosowania wyciągów zawierających możliwie minimalną ilość domieszek innych substancyj.

Dzięki uprzejmości p. prof. *E. Lelesza*, któremu na tem miejscu składamy podziękowanie, Pracownia Mikrobiologiczna W. W. P. otrzymała potrzebną do spostrzeżeń ilość wyciągu witaminowego. Przygotowany i udzielony przez p. prof. *E. Lelesza* wyciąg otrzymany był metodą następującą: „na substancję suchą, zawierającą witaminową grupę B (drożdże, otręby ryżowe i t. d.) działa się alkoholem z dodatkiem HCl o odpowiednim stężeniu. Następnie centrifuguje się, otrzymany płyn neutralizuje się i stęży z zachowaniem odpowiednich warunków”.

Zadanie mojej pracy polegało na wyjaśnieniu działania otrzymanego wyciągu witaminowego B na niektóre własności morfologiczne i biologiczne bakteryj. W spostrzeżeniach moich uwzględniłam: 1) wpływ wyciągu witaminowego B na wzrost bakteryj, zbadałam równolegle wzrost bakteryj pod wpływem wyciągu wyjałowionego i niewyjałowionego, 2) działanie odżywcze wyciągu witaminowego B, 3) działanie wyciągu witaminowego B na własności barwikotwórcze drobnoustrojów, 4) wpływ wyciągu na zdolność proteolityczną bakteryj (rozrzedzanie żelatyny). Wyciąg ten zastosowałam w różnych rozcieńczeniach dla zbadania, jakie rozcieńczenia wyciągu witaminowego B wykazują jeszcze działanie pobudzające i w jakim stopniu.

Wpływ wyciągu witaminowego B na wzrost bakteryj obserwowałam na 45 szczepach (11 szcz. paciorkowca, 7 szcz. błonicy, 6 szcz. gronkowca cytrynowego, 6 szcz. gronkowca złocistego, 1 szcz. gronkowca białego, 2 szcz. pał. durowej, 1 szcz. pał. paratyfusowej A, 1 szcz. pał. Friedländera, 1 szcz. pał. Flexnera, 1 szcz. przecinkowca saprofitycznego). Hodując równolegle drobnoustroje te na agarze bez wyciągu (kontrola) i na agarze z dodatkiem wyciągu w rozcieńczeniach 1:600, 1:6000, 1:60000 i 1:600000, starałam się ustalić działanie każdego rozcieńczenia. Morfologia makroskopowa wzrostu dawała dużą różnicę na podłożu z dodatkiem wyciągu w porównaniu do posiewów kontrolnych. Wymia poprzeczny poszczególnych kolonij na podłożu z dodatkiem wy-

ciągu był 2 — 5 krotnie większy w porównaniu z wymiarami odpowiedniego szczepu w kontroli. Przytem wzrost bakterij bardziej wymagających (paciorkowce, pneumokoki, pał. błonicy), był stosunkowo znacznie obfitszy nawet w daleko idących rozcieńczeniach wyciągu, mianowicie 2 — 3 krotnie (w rozcieńcz. 1:600 i 1:6000), a nawet 4 — 5 krotnie, niż bakterij, niewymagających specjalnych warunków do wzrostu (gronkowce saprofityczne, pał. duru brzuszego, pał. paratyfusu A i B, b. prodigiosum); wymiar poprzeczny kolonji był przeciętnie $2-2\frac{1}{2}$ razy większy niż w kontroli. Wszystkie szczepy badane zarówno saprofityczne, jak i wymagające specjalnych podłoży rosły najbujniej przy dodawaniu do agaru większych ilości wyciągu witaminowego (w rozcieńczeniu 1:600). Działanie wyciągu dawało się stwierdzić nawet w rozcieńczeniu 1:60000 i 1:600000, aczkolwiek w stopniu słabszym.

Oporność substancji pobudzającej wzrost na działanie ogrzewania. W celu wyjaśnienia natury substancyj pobudzających wzrost badałam na 22-ch szczepach (8 szcz. paciorkowca, 4 szcz. pał. błonicy, 5 szcz. gronkowca cytrynowego, 3 szcz. gronkowca złocistego, 2 szcz. pneumokoka) równolegle wpływ na wzrost bakterij wyciągu witaminowego wyjałowionego i niewyjałowionego. W tym celu wyjałowiłam w autoklawie w ciągu pół godziny przy ciśnieniu 1,5 atm. gotowe rozcieńczenia 1:100, 1:1000 i 1:10000. Zasiewając równolegle drobnoustroje na agarze z dodatkiem wyciągu wyjałowionego i niewyjałowionego, przekonałam się, że wszystkie bakterje na agarze z wyciągiem wyjałowionym rosły gorzej, niż na agarze z wyciągiem niewyjałowionym w takim samym rozcieńczeniu. Wzrost bakterij na agarze z wyciągiem wyjałowionym był obfitszy, niż na agarze kontrolnym (bez wyciągu). Można stąd wnioskować, że ciepło wilgotne przy 113° niszczy tylko częściowo pobudzające wzrost bakterij właściwości wyciągu witaminowego.

Własności odżywcze wyciągu. W celu wyjaśnienia, czy wyciąg witaminowy posiada własności odżywcze dla bakterij sporządziłam agar wodny (bez wyciągu mięsnego i peptonu), dodając wyciąg w rozcieńczeniach 1:60, 1:600 i 1:6000. Zbadałam 16 szczepów (2 szcz. b. pyocyaneum, 2 szcz. b. prodigiosum, 2 szcz. gronkowca złocistego, 4 szcz. paciorkowca, 6 szcz. pał. błonicy).

Z tych szczepów 15 na agarze wodnym nie wyrosły, na agarze zaś z dodatkiem wyciągu witaminowego dały wzrost mniej lub więcej wyraźny. Ponieważ stosowane podłoże nie zawiera żadnych substancyj odżywczych poza wyciągiem, można wnioskować, że stosowany wyciąg witaminowy posiada dla bakterij w pewnej mierze wartość odżywczą.

Działanie wyciągu witaminowego na własności barwikotwórcze bakterij. Badałam 22 szczepy (2 szcz. b. pyocyaneum, 3 szcz. b. prodigiosum, 8 szcz. gronkowca cytrynowego, 9 szcz. gronkowca złocistego) stosując rozcieńczenie 1:600. Bakterie hodowane na agarze z wyciągiem wytwarzały barwik intensywniej. Poszczególne gatunki zachowywały się odmiennie; najwyraźniej pod tym względem zachowały się 3 szczepy b. prodigiosum, które na agarze z dodatkiem wyciągu dawały czerwono - krwisty barwik (w kontroli blado - różowy). Zauważyłam, że dłuższe hodowanie na podłożu z dodatkiem wyciągu witaminowego i przesiewanie na podłoże zawierające wyciąg wzmacnia intensywność wytwarzania barwika. Wszystkie szczepy gronkowca złocistego i cytrynowego na agarze z wyciągiem wytwarzały intensywniejszy barwik w porównaniu z kontrolą.

Działanie na zdolność proteolityczną. Wpływ wyciągu witaminowego na zdolność rozrzedzania żelatyny przez bakterie zbadałam na 24 szczepach (8 szcz. gronkowca cytrynowego, 5 szcz. gronkowca złocistego, 3 szcz. odmienca, 1 szcz. gronkowca białego, 2 szcz. b. pyocyaneum, 2 szcz. b. prodigiosum, 2 szcz. pał. gramoujemnej, wyhodowanej z mleka). Przygotowałam różne rozcieńczenia (1:60, 1:600, 1:6000) wyciągu witaminowego na żelatynie, zasiewając na nie bakterie wymienione. Ze szczepów zbadanych 21 rozrzedzało żelatynę z wyciągiem, dając również rozrzedzenie żelatyny bez wyciągu. 3 szczepy (gronkowiec cytrynowy, 2 gronkowce złociste) dały rozrzedzenie żelatyny tylko w obecności wyciągu witaminowego (rozcieńczenia: 1:60, 1:600, 1:6000). W większej części przypadków drobnoustroje pod wpływem wyciągu witaminowego zaczynały rozrzedzać żelatynę o kilka dni, a nawet tygodni wcześniej (np. b. pyocyaneum II z wyciągiem na trzeci dzień, w kontroli na szesnasty dzień; gronkowiec cytrynowy V na czwarty dzień z wyciągiem, na siedemnasty dzień bez wy-

ciągu; gronkowiec cytrynowy IV na piąty dzień z wyciągiem, na 43-ci dzień bez wyciągu i t.d.). Można było przypuścić, że bakterje na pożywce z wyciągiem witaminowym lepiej i intensywniej rosły, mogłyby wobec tego wcześniej i intensywniej rozrzedzać żelatynę. Przeciwno temu przypuszczeniu przemawia fakt, że niektóre szczepy (gronkowiec złocisty II, gronkowiec cytrynowy II, gronkowiec złocisty III) rozrzedziły żelatynę z wyciągiem witaminowym we wszystkich rozcieńczeniach, nie rozrzedzając posiewów kontrolnych. Wnioskować wolno, że dodanie wyciągu witaminowego B do podłoża może działać pobudzająco na zdolność proteolityczną bakteryj.

Wnioski:

1) Wyciąg witaminowy B pobudza wzrost bakteryj; wpływ ten jest wyraźniejszy w stosunku do bakteryj stawiających większe wymagania do składu podłoża (paciorkowce, pał. błonicy, pneumokoki), 2) wyjałowienie w temperaturze 113° (ciśnienie 1,5 atmosfery), w ciągu $\frac{1}{2}$ godziny zmniejsza wybitnie te właściwości pobudzania wzrostu bakteryj, 3) wyciąg witaminowy B działa pobudzająco na zdolność barwikotwórczą bakteryj, 4) wyciąg witaminowy B działa pobudzająco na zdolność proteolityczną bakteryj.

Laboratoire de Microbiologie de l'Université Libre de Pologne.
(Dir. Prof. Dr. A. Ławrynowicz).

L'ACTION DE L'EXTRAIT VITAMINIQUE (B) SUR CERTAINES PROPRIÉTÉS DES MICROBES.

Par R. LOURIÉ

R É S U M É.

J'ai examiné l'action de l'extrait vitaminique sur certaines propriétés morphologiques et biologiques des microbes.

Conclusions:

1) l'extrait vitaminique B stimule la croissance des microbes; cette influence est plus visible sur les streptocoques, bac. diphthérique, pneumocoques;

2) la stérilisation à la température de 113° (1,5 atmosphères) pendant $\frac{1}{2}$ heure diminue l'action stimulante la croissance des microbes;

3) l'extrait vitaminique stimule le pouvoir chromogène des microbes;

4) l'extrait vitaminique B stimule le pouvoir protéolytique des microbes.

P I Ś M I E N N I C T W O .

1) Eisenberg F. Witaminy a bakterje. Przegląd Epidemiologiczny. T. II, z. 3, s. 368, 1922. 2) Gieszczykiewicz M. Medycyna Doświadczalna T. VIII, z. 1 — 2, 1927. 3) Kronenberżanka i Tenenbaumówna. Medycyna Doświadczalna T. VIII, z. 5 — 6, 1928. 4) Ławrynowicz A. Polska Gazeta Lekarska, 1925, Nr 31; Nowiny Lekarskie, 1926, Nr 1; Wszechświat, 1928, Nr 11; Polska Gazeta Lekarska, 1931, Nr 18. 5) Ławrynowicz A. i Piotrowska H. Lekarz Wojskowy, T. XVII, Nr 5 — 8, 1931.



Wpłynęło 10.VII.1933.

Z Zakł. Chemji Fizjol. U. W.
Kier. Prof. Dr. St. Przyłęcki.

WPŁYW GLIKOKOLU NA AMYLOLITYCZNY PROCES ZCUKRZANIA SKROBI.

P o d a ł a

MARJA LANDAU

W s t ę p.

Otrzymanie maltozy ze skrobi jest końcową fazą bardzo złożonego procesu dezagregacji wielkiej koloidalnej drobiny skrobi. Pierwsza teoria budowy skrobi, oparta na zjawiskach hydrolizy, upatrywała w skrobi olbrzymi łańcuch węglowodanowy, złożony z cząstek obezwodnionej glukozy. Pogląd ten w świetle nowszych badań okazał się mylny.

Maquenne wykazał, że skrobia nie jest ciałem jednolitem. Składa się z amylozy, części wewnętrznej ziarna skrobiowego, i z otoczki amylopektyny, będącej estrem węglowodanowym kwasu fosforowego. Z tych zasadniczych ciał, z których zbudowana jest skrobia, udało się *Pringsheimowi* (1924) wydzielić z amylozy produkt krystaliczny o wzorze ogólnym $C_{12}H_{20}O_{10}$ — dwuheksozan (rozpad pod działaniem gliceryny), działając zaś na amylozę kwasem solnym na zimno, otrzymał biozę o wzorze ogólnym $C_{12}H_{22}O_{11}$ — amylobiozę.

Postępując analogicznie z amylopektyną otrzymał trójheksozan $C_{18}H_{32}O_{16}$ i amylotriozę. Pod wpływem enzymów diastatycznych (inne enzymy nie działają na nie) ciała te rozpadają się na maltozę (zależnie od preparatu do 100 % wydajności).

Dwu i trójhекsozan znalazł *Fringsheim* również w produktach rozpadu amyloリティcznego skrobi. W ten sposób została udowodniona łączność tych ciał z budową amylozy ew. amylopektyny.

Fakt, że dotąd nie udało się stwierdzić w produktach rozpadu amylobiozy i amylo triozy, tłumaczy *Pringsheim* w sposób następujący: amyloza zarówno jak amylopektyna są zbudowane z węglowodanów prostszych — dwuheksozanu i trójhекsozanu, z których drogą zrazu polimeryzacji powstają drobiny coraz większe, z tych zaś poprzez asocjację tworzy się wielka koloidalna cząsteczka skrobi. Proces rozpadowy rozpoczyna się od dezagregacji skrobi pod wpływem zaczynów diastatycznych, właściwy zaś proces zcukrzania odbywa się z pomocą „amylobiazy” — fermentu nie wyodrębnionego dotąd. (Koncepcja powyższa nie została przez wszystkich przyjęta). Pod wpływem tego enzymu powstaje amylobioza z dwuheksozanu i amylo trioza z trójhекsozanu. Cukry te są nietrwałe, drobiny ich ulegają rozpadowi na reszty glukozy, które kondensują się, wytwarzając cząstki maltozy. Amylobioza jest, podobnie jak maltoza, glukozydem glukozy, z tą jednak różnicą, że reszty glukozy, powiązane ze sobą wiązaniem tlenowym, nie są równowartościowe. Wzór amylobiozy według *Pringsheima* przedstawia się jako (1,4) glukozydo — 4 (1,6) glukozyd.

Na innej zupełnie drodze (badając zjawiska mutarotacji cukru ze skrobi pod wpływem amylazy roślinnej i zwierzęcej) doszedł *Kuhn* (1924 r.) do podobnego wniosku, przyjmując, że przy rozpadzie skrobi tworzy się dwuglukoza, zawierająca nierównowartościowe grupy glukozy, i z których tylko jedna może mieć wiązanie tlenowe między węglami (1,4).

Przy mutarotacji cukru ze skrobi pod wpływem amylazy roślinnej zaobserwował *Kuhn* tworzenie się na początku reakcji maltozy beta pod wpływem zaś amylazy zwierzęcej—maltozy alfa.

Z tych zjawisk, łącznie z zaobserwowanym przez siebie faktem, że emulsyna rozkłada ilościowo amylazę na maltozę, wprowadził *Kuhn* następujące wnioski: 1) w drobinie skrobi muszą być wiązania beta i 2) są dwa różne enzymy: roślinny, który rozkłada wiązania beta i zwierzęcy, amylaza alfa, która rozbija wiązania alfa.

Badania *Pringsheima* i *Kuhna* nie wyjaśniły ostatecznie skomplikowanej sprawy budowy skrobi; nie wiemy, w jaki sposób dwu- i trójheksozany łączą się ze sobą, ani też ile fermentów działa na agregat skrobiowy rozbijająco, bądź też zcukrzająco.

Dodanie do roztworu wielocukru, znajdującego się pod wpływem amylazy pewnych ciał organicznych lub nieorganicznych, wpływa na rozpad amylolytyczny. Czynniki dodane mogą wywołać zmiany chemiczne lub fizykochemiczne 1) w substracie: a) zmiana lepkości, napięcia powierzchniowego, zmiany adsorpcyjne, stopnia dysocjacji; 2) zmiany w enzymie: a) enzym zaczyna działać pod wpływem dodania czynnika (np. amylaza nie działa w nieobecności pewnych anionów np. Cl^- ; NO_3^- i t. d.), b) czynnik dodany niszczy ferment, bądź też przeciwnie — chroni enzym przed wpływami szkodliwymi. Wpływ ochronny może wywierać również na dany enzym jego substrat np. skrobia na amylazę; z drugiej strony produkty rozpadu mogą działać hamująco na enzym. Tak np. wg. *Eulera* grupa aldehydowa, wytwarzająca się w czasie reakcji, działa szkodliwie na amylazę. Dodanie ciał, wiążących tę grupę powoduje reaktywację enzymu; c) zahamowanie, bądź też przyspieszenie katalizy (bardzo ważny jest tu wpływ jonów H^+ , gdyż działanie ciał dodanych może być różne przy rozmaitem stężeniu jonów wodorowych i t. d.). Enzymy adsorbują się łatwo, przyczem w niektórych wypadkach adsorbat taki przestaje działać, w innych natomiast nie traci działania; dodanie ciał obcych powoduje wg. *Willstättera* ułatwienie specyficznej adsorpcji enzym-substrat. Pierwsze prace nad wpływem aminokwasów na proces zcukrzania skrobi były dokonane przez *Effronta* (1900—1904), *Požerskiego* (1902), *Terroine'a* (1912), *Rogera* (1908). Wyniki badań tych autorów są naogół zgodne. Podkreślają oni, zwłaszcza *Terroine*, przyspieszający wpływ aminokwasów. Wartość tych badań pomniejsza okoliczność, że autorowie nie uwzględniali tu Ph roztworu badanego.

Nowsze badania *Takahaty* (1923) i *Shermana*, dokonane z uwzględnieniem Ph środowiska, wykazują jednak, że aminokwasy zwłaszcza alfa aminokwasy działają przyspieszająco na rozpad skrobi. Zjawisko tu zachodzące tłumaczyli sobie autorowie w różny sposób. Według *Shermana* zachodzi tu działanie ochronne,

oparte na powinowactwie w budowie chemicznej aminokwasów i ciała proteinowego, za jakie uważa amylazę.

Rockwood (1924) przypisuje grupie aminowej własności specyficznie przyspieszające.

Euler i *Jacoby* wysuwają inny jeszcze moment (1920 i 1923). Ślady metali ciężkich, mogące się znajdować w fermentach, osiadają na powierzchni enzymów i tworzą kompleksy nieczynne; dodanie ciał takich, jak cjanki, aminokwasy, które wiążą metale, powoduje reaktywację enzymu. Nie są więc aminokwasy w tym wypadku właściwymi aktywatorami, lecz raczej działają jako ciała pomocnicze (*Auxostoffe*).

Takahata przypuszcza natomiast, że aminokwasy wytwarzają z substratem produkty przejściowe bardziej podatne dla działania amylazy. Podobnie *Willstätter* sądzi, że dodanie tych ciał powoduje łatwiejszą adsorpcję przez substrat.

Celem mojej pracy było zbadanie mechanizmu działania glikokolu na reakcję zcukrzania skrobi pod wpływem amylazy roślinnej i zwierzęcej w różnych stężeniach jonów wodorowych.

Metodyka.

Amylaza roślinna. Odważoną ilość amylazy roślinnej (firmy *Mercka*) rozpuszczano w odpowiedniej ilości wody destylowanej, wstrząsając od czasu do czasu (przeciętnie co 5 min.). Po upływie godziny — sączone. Roztwór amylazy przyrządzano do każdego doświadczenia świeży.

Amylaza ślinowa. Świeżą ślinę sączone i rozcieńczano wodą destylowaną 5-o krotnie.

Substrat. Jako substratu używano skrobi rozp. *Mercka*, przyrządzonej w sposób następujący: odważoną ilość skrobi w niewielkiej ilości zimnej wody wkraplano do wrzącej wody — ogrzewano przez 1 godz. na łaźni wodnej z chłodnicą zwrotną — po ostudzeniu dopełniano wodą do odpowiedniej objętości.

Glikokol — firmy *Mercka*. Przyrządzano roztwór 1% i 2% wraz z buforami.

Bufory. Jako płynów buforowych używano kwasu octowego 0,2 m, octanu sodu 0,2 m, fosforanów — pierwszo i drugorzędo-

wego m/15 oraz glikokolu z ługiem 1/10 n. Wpływ dodania glikokolu na amyloлитyczny proces szcukrzania skrobi badano początkowo met. *Willstättera* i *Scheudla* następnie met. *Bertranda*. Wyniki zasadnicze są otrzymane met. *Bertranda*. Układ zawierał 80 cm³ skrobi 1%, 20 cm³ glikokolu 1% lub 2% i 4 cm³ amylazy roślinnej 0,1%, bądź też 1 cm³ śliny w rozcieńczeniu 1:5. Erlenmeyerki zatykano korkami zwykłymi i umieszczano w termostacie powietrznym o temp. około 33°. Po 24 godz. dodawano toluolu w celach antyseptycznych.

W pewnych odstępach czasu erlenmeyerki wyjmowano, odmierzano pipetą 10 cm³ płynu do badania, poczem wstawiano natychmiast z powrotem do termostatu. Każde doświadczenie wykonywane było w 2 równoległych próbach. Pomiar z prób równoległych nie różniły się pomiędzy sobą wcale, lub bardzo mało.

Podane wyniki są średnią z 6—8 doświadczeń. W doświadczeniach, nie zawierających glikokolu, zastępowano glikokol wodą destylowaną z buforami.

Ph układu badano po dodaniu glikokolu wraz z buforami, gdyż skrobia zawarta w układzie zmienia nieco stężenie jonów wodorowych.

Badano Ph układu z glikokolem i bez glikokolu dwiema metodami (jednocześnie) z pomocą indykatorów oraz potencjometrycznie (elektroda wodorowa).

Różnica pomiędzy Ph układów, zawierających glikokol, a układami bez glikokolu wynosiła przeciętnie 0,02; największa różnica była 0,07 — 0,08.

Różnice większe miały, jak się przekonano, zwłaszcza w środowiskach alkalicznych, duży wpływ na charakter wyników.

Wyniki.

A. Badanie z amylazą roślinną.

Tablica 1. Wpływ glikokolu 1% i 2% na rozpad skrobi w Ph 4,5 (tabl. 1). Amylaza roślinna ma różne optimum działania zależnie od tego czy uwzględnimy jej działanie zcukrzające, czy. też rozpadowe (przemawia to również za istnieniem 2 fermentów) Dla działania zcukrzającego optymalne działanie amylazy, jak to

T A B L I C A I.

Wpływ glikokolu 1 ‰ i 2 ‰ na rozpad skrobi przy Ph: 4,5; 6,2; 7,4; 8,21.

Oznaczenia wykonane metodą Bertranda.

a — stężenie początkowe skrobi w mg/cm³, t — czas w godzinach, x — ilość mg maltozy w 10 cm³, ‰ r — procent rozpadu, ‰ p — procent przyspieszenia.

Wyniki podane są średnią z 6-u oznaczeń.

Ph	Ukł. zaw. 0,2 ‰ glikokol				Bez glikokolu			Ukł. zaw. 0,4 ‰ glikokol				Bez glikokolu		
	a	t	x	‰ r	x	‰ r	‰ p	a	t	x	‰ r	x	‰ r	‰ p
4,5	0,8	1	15	18,75	14,5	18,1	3,1	0,8	1	15,5	19,4	14,5	18,1	6,9
		2	30,5	38,1	29,3	36,6	4,1		2	31,07	38,8	29,3	36,6	6,1
		24	49,3	61,6	48,3	60,4	2,1		24	49,3	61,6	48,3	60,4	2,1
6,2	0,8	1	16	20	14,3	17,9	11,1	0,8	1	16,3	20,4	14,3	17,9	14
		2	28	37	27	33,7	3,7		2	29,7	37,2	27	33,7	10
		24	48,7	60,9	48,7	60,9	0		24	49	61,2	48,7	60,9	3,5
		48	49,7	62,1	49,7	62,1	0		48	50,7	63,4	49,7	62,1	2
7,4	0,8	1	12,5	15,6	11,7	14,6	6,8	0,8	1	13	16,2	11,7	14,6	11,1
		2	25,1	31,3	21,7	27,1	15,6		2	25,8	32,2	21,7	27,1	16,2
		24	44,7	55,9	38,6	48,2	15,8		24	46	57,5	38,6	48,2	18,4
		48	49,7	62,1	42,3	52,8	17,4		48	50,7	63,3	42,4	52,8	19,8
8,21	0,8	1	6,8	8,5	3,2	4	112,5	0,8	1	7	8,7	4	4	43,7
		2	13,5	16,8	7,1	8,8	90,1		2	13,8	17,2	7,1	8,8	94,3
		24	44	24	24	30	83,3		24	45	56,2	30	30	87,5

wynika z badań *Shermana, Adlera i Lüersa*, leży w granicach Ph 4,4, 4,9, 5,2. Z tablicy widzimy, że w Ph = 4,5 znajdującym się w granicach optimum działania, glikokol wpływa b. nieznacznie aktywująco na proces zcukrzania skrobi. W pierwszych godzinach doświadczenia procent przyspieszenia jest większy 6,9—6,1%. Rozpad odbywa się proporcjonalnie do czasu (18% rozp. po 1 g. i 36% po 2 g. Po 24 g. ilość maltozy w obu układach zawierających glikokol i bez glikokolu jest prawie jednakowe (w granicach błędów doświadczalnych). Stężenie glikokolu przy zachowaniu Ph nie wpływa prawie na przebieg rozpadu hydrolitycznego.

Tablica 1. W Ph 6,2, a więc w punkcie oddalonym nieznacznie od optimum działania amylazy, wpływ dodania glikokolu uwidacznia się wyraźniej, zwłaszcza w ciągu pierwszych godzin trwania reakcji. Procent przyspieszenia jest w tym czasie dwukrotnie większy niż odpowiednio w Ph 4,5 (po 1 g. 14% po 2 g. 10%).

W miarę trwania reakcji widzimy stopniowe zmniejszanie się aktywującego działania glikokolu, wreszcie po 24 g. i po 48 g. procent ten opada, jak to widać zwłaszcza w tablicy I, do zera.

Wpływ stężenia glikokolu zaznacza się w sposób nieznaczny; 2% glikokol przyspiesza reakcję w stopniu silniejszym niż 1%.

Oznaczenia przedstawione w tablicy I, były wykonane w Ph 7,4. Widzimy wyraźnie aktywujący wpływ glikokolu. Procent przyspieszenia wzrasta w miarę trwania czasu reakcji. Po 1 g. 11%, po 2 g. 16%, po 24 g. 18%, po 48 g. 20%. 2% glikokol aktywuje silniej niż 1% niema jednak równoległości cyfrowej między stężeniem glikokolu dwukrotnie większym a przyspieszeniem reakcji.

W tablicy I mamy zawarte wyniki z oznaczeń w Ph 8,2. Według *Lüersa* amylaza roślinna nie działa w środowiskach alkalicznych, począwszy od Ph 8,1. Jak widać z tablicy, badania moje nie potwierdziły wyników *Lüersa*. Amylaza działa, chociaż w bardzo słabym stopniu.

Przed wstawieniem do termostatu w obu układach były sprawdzane każdorazowo zapomocą indykatorów stężenia jonów wodorowych. Przy zupełnie jednakowem zabarwieniu prób obu układów różnica Ph określona z pomocą elektrody wodorowej wahała się między 0,05 — 0,07 (układ bez glikokolu miał Ph

mniejsze). Małe nawet różnice w stężeniu jonów wodorowych dawały tu wyniki bardzo różniące się między sobą, zwłaszcza, jeśli to dotyczyło układu bez glikokolu. Rozpad po 1 g. i 2 g. odbywa się powoli. Żeby otrzymać wyniki ilościowe, musiano brać do oznaczenia ilości dwukrotnie większe niż to czyniono w układach o niższych Ph. Ilości te następnie odpowiednio obliczono.

W Ph 8,2 glikokol osiąga maksymalny wpływ na reakcję. Procent przyspieszenia jest tu bardzo duży. Po 1 g. — 143 %, po 2 g. spada do 94 %, po 24 g. — 87 %. Zachodzi tu podobnie jak w poprzednich badaniach proporcjonalność rozpadu podczas pierwszego okresu trwania doświadczenia. Stężenie glikokolu nie wywiera wpływu na przebieg procesu.

Tablica II. Widzimy, porównyując układy z glikokolem i bez, że w Ph 4,5 glikokol przyspiesza znacznie proces hydrolityczny. W pierwszych godzinach trwania doświadczenia rozpad odbywa się bardzo gwałtownie. Procent przyspieszenia po 1 g. — 59 %, po 2 g. — 41 %, nie widzimy tu proporcjonalności. Po 24 g. procent rozpadu jest w układach zawierających glikokol taki sam jak z amylazą roślinną w Ph 4,5 t. j. około 58 % i, co za tem idzie, procent przyspieszenia jest dość znaczny (12 %).

Przyspieszenie rozpadu z czasem maleje; po 2-iej godzinie jest dwukrotnie mniejsze niż po pierwszej godzinie. 1 % glikokol przyspiesza reakcję w stopniu silniejszym.

Optimum działania amylazy ślinowej w Ph około 6,0 (wg. badań *Ringera*) *Michaelis* znalazł Ph bardziej zbliżone do punktu neutralnego — około 6,9 przyczem Ph optymalne waha się w zależności od anjonu soli, z którą amylaza ślinowa tworzy kompleks.

Widzimy, że glikokol w granicach optymalnego działania amylazy ślinowej nie działa bądź zupełnie, bądź też nawet nieznacznie hamuje reakcję — po 1 g. procent przyspieszenia jest 3,7 % po 24 g. procent hamowania jest 3,7 %. Proces rozpadu odbywa się podobnie jak w Ph 4,5; w pierwszych godzinach trwania doświadczenia z dużą szybkością. Nie widzimy tu również proporcjonalności rozpadu.

W tablicy II podane są wyniki z oznaczeń przeprowadzonych w Ph 7,4, a więc w punkcie nieznacznie odległym od punktu działania optymalnego amylazy. W układach, zawierających glikokol,

T A B L I C A II.

Amylaza ślinowa. Wpływ glikokolu 1% i 2% na rozpad skrobi przy Ph: 4,5
6,2; 7,4; 8,2 (enzym — amylaza ślinowa), (met. Bertranda).

a — stężenie początkowe skrobi w mg/cm³, t — czas w godzinach, x — ilość mg
maltozy w 10 cm³ układu, % r — procent rozpadu, % p — procent przyspieszenia.

Ph	Ukł. zaw. 0,2% glikokol				Bez glikokolu			Ukł. zaw. 0,4% glikokol				Bez glikokolu		
	a	t	x	% r	x	% r	% p	a	t	x	% r	x	% r	% p
4,5	0,8	1	17,3	21,6	10,7	13,3	61,6	0,8	1	17	21,2	10,7	13,3	58,8
		2	22	27,5	14,7	18,3	49,6			2	20,8	14,7	18,2	41,4
		24	49,3	61,6	37,7	47,1	30,7			24	48,7	37,7	47,1	29,1
		48	53	66,2	47	58,7	12,7			48	52,7	47	58,7	12,1
6,2	0,8	1	28	35	27	33,7	3,7	0,8	1	28	35	27	33,7	3,7
		2	32,3	40,4	32,7	40,8	1,2			2	32,7	32,7	40,8	0
		24	44	55	46	57,5	4,3			24	44,3	46	57,5	3,7
		48	45,7	57,1	46,7	58,3	2,1			48	46,3	46,7	58,3	0,8
7,4	0,8	1	5,9	7,3	5,1	6,3	15,6	0,8	1	5,8	7,2	5,1	6,3	13,7
		2	9,6	12	8,4	10,5	14,2			2	9,5	8,4	10,5	13,1
		24	39	48,7	35	43,7	11,4			24	38,5	35	43,7	10
		48	42	52,5	40	50	5			48	42,5	40	50	6,2
8,2	0,8	1	2	2,5	0,8	1	150	0,8	1	2	2,5	0,8	1	150
		2	4	5	2,1	2,7	86,7			2	5	2,1	2,7	86,7
		24	21	26	12	15	75			24	22	12	15	83,3
		48	32	40	18	22,5	77,7			48	31	18	22,5	72,2

rozpad jest większy niż w układach bez glikokolu. Rozpad w początkowych godzinach jest powolny, przyczem 1 % glikokol działa bardziej przyspieszająco niż 2 %. Procent przyspieszenia jest niewielki po 1 g. — 13 %, po 2 g. — 11 %, mniejszy niż w Ph 4,5 większy niż w 6,2 i zmniejsza się w miarę trwania doświadczenia po 24 g. — 10 %, po 48 g. — 6,2 %.

Tablica II ilustruje wyniki w Ph 8,2. Widzimy tu pewne podobieństwo do wyników z amylazą roślinną. W początkowych godzinach rozpad pod wpływem amylazy ślinowej bez udziału glikokolu jest tak nieznaczny, że pomiarami stwierdzić się nie daje. Brano do pomiarów ilości 5-krotnie większe niż do pomiarów w mniejszych Ph — następnie przeliczano odpowiednio. W układach, zawierających glikokol, rozpad wprawdzie jest niewielki, b. powolny, ale dający się oznaczyć pomiarami. Procent przyspieszenia jest oczywiście olbrzymi.

Po 24 g. i po 48 g. przyspieszenie jest w dalszym ciągu bardzo duże (przeszło 83 % po 24 g. i 72 % po 48 g.). Stężenie glikokolu pozostaje bez wpływu na reakcję.

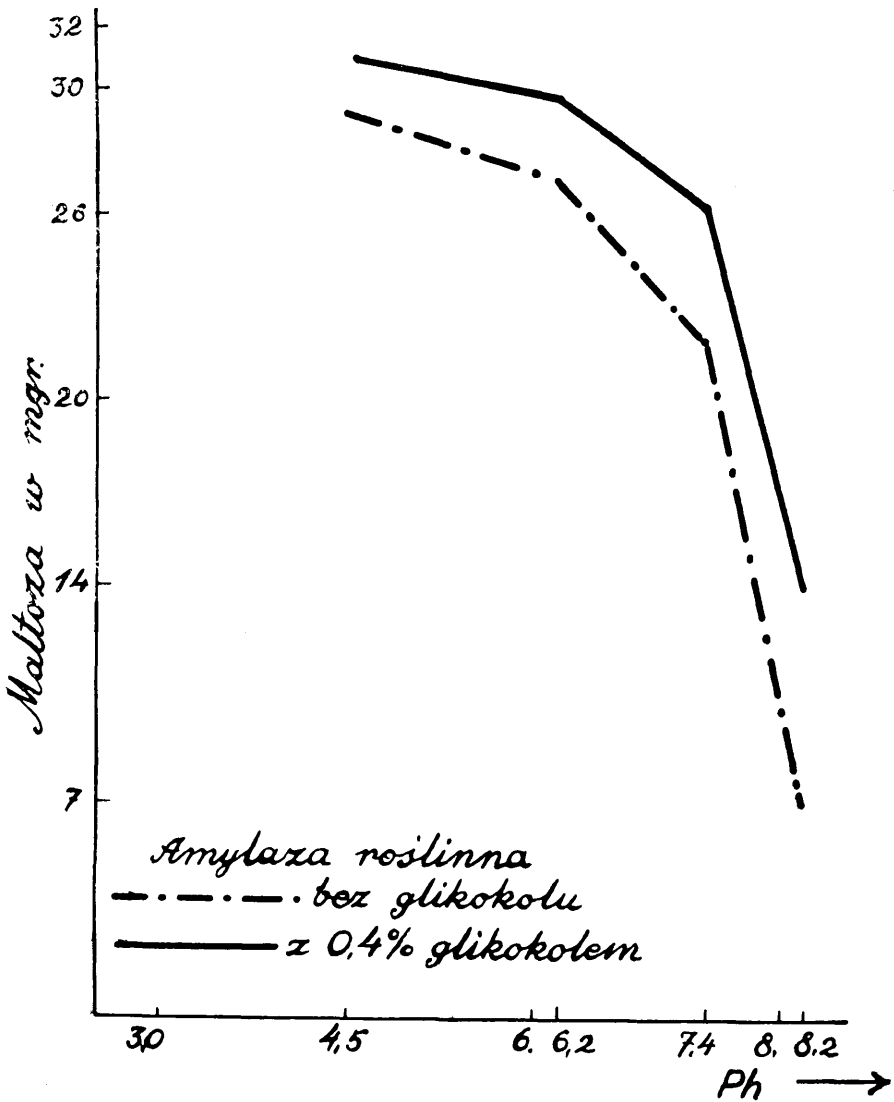
W normalnych warunkach zcukrzanie skrobi pod wpływem enzymów diastatycznych nie przebiega do końca. Po osiągnięciu pewnej koncentracji maltozy (zwykle około 60 % — 78 % wydajności teoretycznej) proces zatrzymuje się. Wpływa na to częściowo zahamowanie działalności amylazy, pod wpływem tworzących się produktów rozpadu; przez usunięcie maltozy drogą fermentacji, lub przez dodanie świeżej skrobi, procent zcukrzania można zwiększyć. Główna jednak przyczyna tego zjawiska leży gdzieindziej, mianowicie, w czasie rozpadu amylolitycznego skrobi wytwarzają się ciała graniczne dekstryny, odporne na działanie zcukrzające samej amylazy. Wg. *Pringsheima* (1922) graniczne dekstryny są strukturalnie identyczne z trójheksozanem. Można je przeprowadzić ilościowo w maltozę, dodając do amylazy roztwór z zabitych drożdży t. zw. komplement *Pringsheima*.

Jak widać z tablic, glikokol, wpływając na szybkość rozpadu hydrolitycznego nie wywiera jednak wpływu na dalsze zcukrzanie skrobi, gdyż maksymalny rozpad w układach zawierających glikokol nie przekracza 70 % wydajności teoretycznej.

Z wyników otrzymanych przezemnie okazuje się, że amylaza roślinna osiąga najwyższy poziom zcukrzania w Ph 4,5 i 6,2 — 60% wydajności teoretycznej po 24 g. i przeszło 62% po 48 g.— ilość ta zmniejsza się w miarę alkalizowania środowiska. W Ph 7,4 po 24 g. mamy już 48% wydajności teoretycznej, a po 48 g. około 53%. W Ph 8,2 po 24 g. mamy 30% rozpadu.

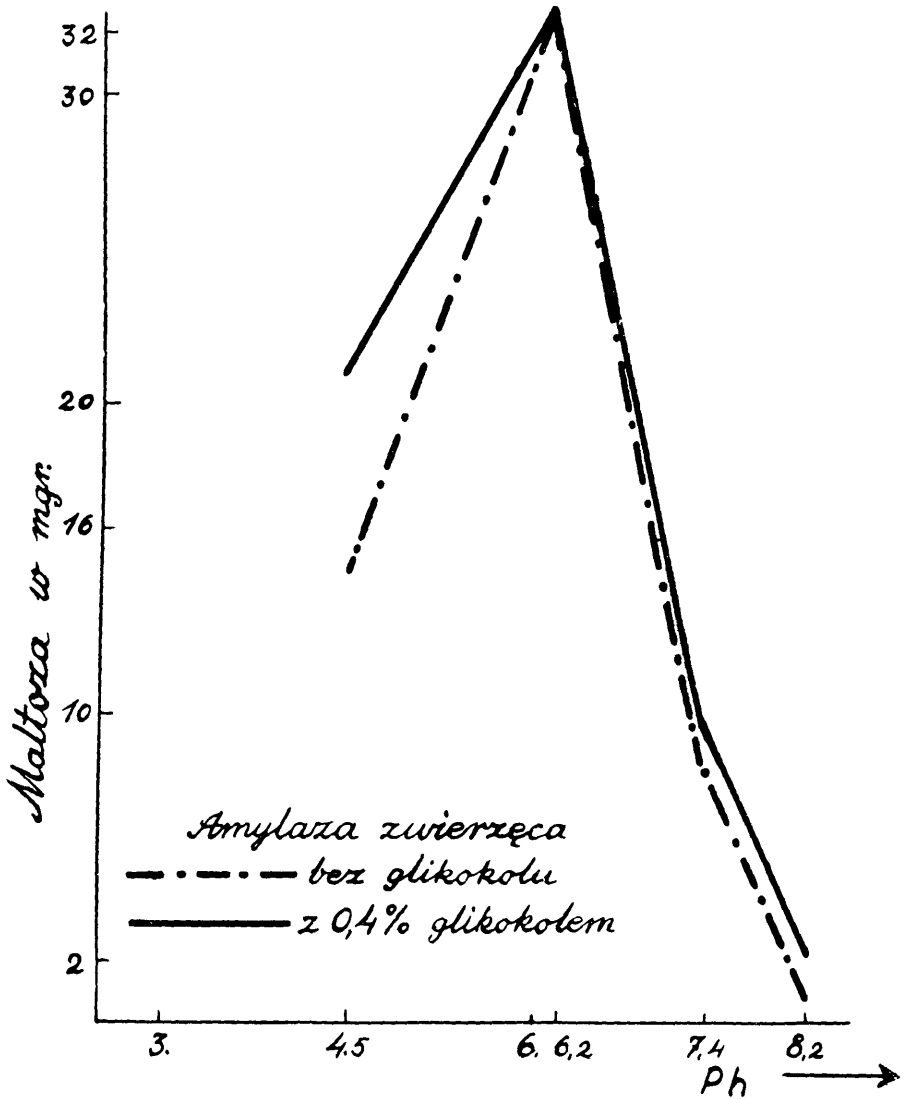
Jeśli porównamy te dane z wynikami układu z glikokolem, to zauważymy, że w Ph 4,5 i Ph 6 proces zcukrzania jest ten sam t. j. po 24 g. przeszło 60% i przeszło 62% po 48 g. Czynność pobudzająca glikokolu uwidacznia się tu tylko w pierwszych godzinach doświadczenia. Jego działanie ochronne widać najlepiej w Ph 7,4, gdzie procent zcukrzania po 48 g. jest prawie ten sam co w Ph 4,5 i Ph 6,2 t. j. przeszło 63% przy znacznie mniejszym rozpadzie, wynoszącym około 53% w układzie bez glikokolu. W Ph 8,2 widzimy podobny stosunek — 56% po 24 g. w układach z glikokolem i 30% w układach bez glikokolu. Nieco inny przebieg ma proces zcukrzania z amylazą ślinową. Rozpad końcowy jest przeważnie mniejszy niż w układach badanych z amylazą roślinną. W Ph zbliżonym do punktu optymalnego amylazy ślinowej glikokol nie wywiera wpływu na końcową fazę zcukrzania. W Ph 6,2 rozpad końcowy po 24 g. i po 48 g. jest w obu układach w przybliżeniu ten sam. Natomiast w Ph 4,5 działanie glikokolu jest bardzo wyraźne. Rozpad w układach z glikokolem dochodzi do 66% podczas gdy w układach bez glikokolu do 59%. Mniej wyraźnie przedstawia się zależność amylazy od glikokolu w Ph 7,4 (zbliżony do zasięgu optymalnego działania amylazy ślinowej). Procent rozpadu po 24 g. w układach z glikokolem 48% po 48 g. — 53%, podczas gdy bez glikokolu mamy około 44% po 24 g. i 50% po 48 g. W Ph 8,2 maksymalna wydajność układów bez glikokolu wynosi zaledwie 15% po 24 g. i 22, 5% po 48 g. W układach z glikokolem wydajność jest większa, ale też nie przekracza 40% (około 26% wydajności po 24 g. i 40% po 48 g.). (Tab. 2).

Oznaczenia wykonywane były początkowo metodą *Willstättera*. Podczas pracy okazało się, że metoda ta nie nadaje się do oznaczenia maltozy w obecności glikokolu. Wodny roztwór glikokolu redukuje podjodyn i to w sposób nie pozwalający na wprowadzenie



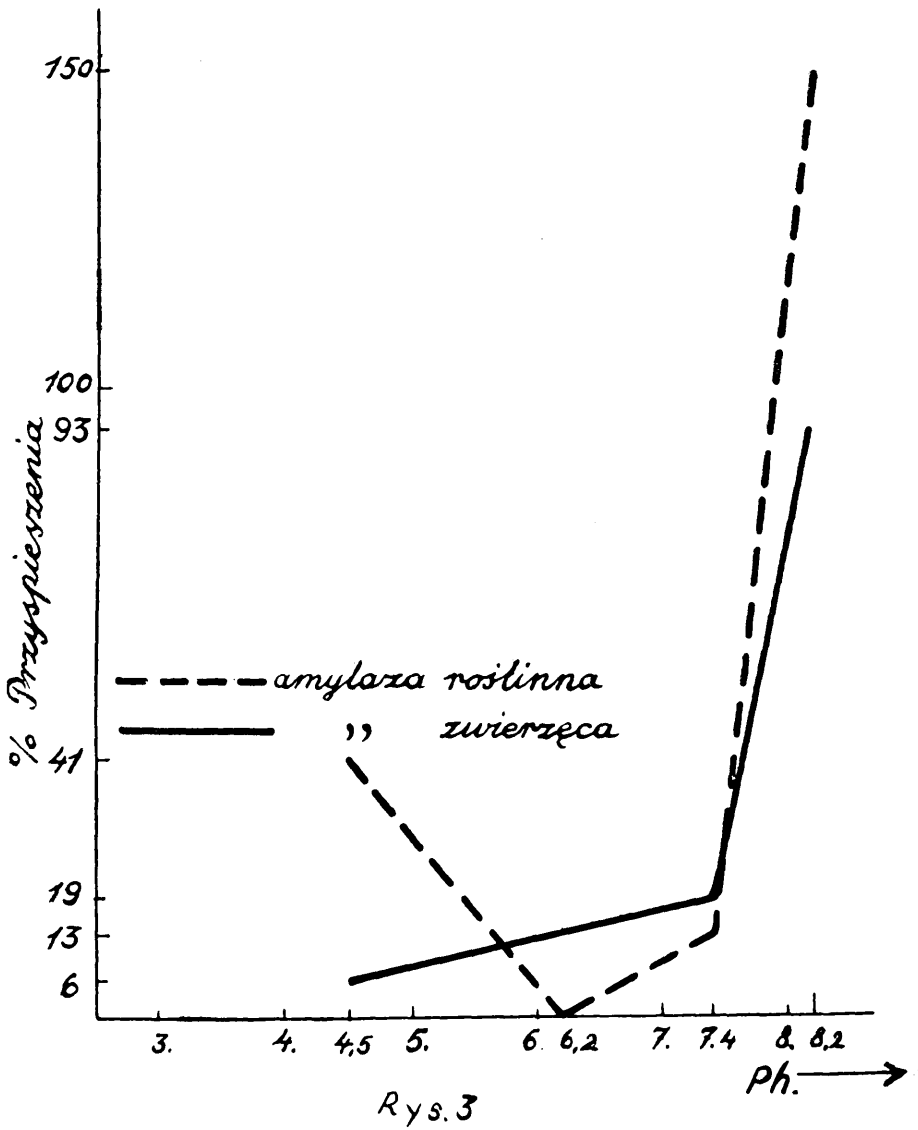
Rys. 1

Rozpad amylolytyczny skrobi pod wpływem 0,4% glikokolu
(Enzym — amylaza roślinna).



Rys 2.

Rozpad amylolytyczny skrobi pod wpływem 0,4% glikokolu.
(Enzym — amylaza zwierzęca).



Procent przyspieszenia reakcji zcukrzania przez 0,4% glikokoli

nie stałej liczby. Ilość zredukowanego podjodynu, obliczana w mg. maltozy, ulega wahaniom niejednostajnym w zależności od czasu trwania reakcji i częściowo od Ph środowiska (wahania są większe w bardziej alkalicznych środowiskach). Metoda *Bertranda* okazała się odpowiedniejsza, gdyż, jak się przekonano, wodny roztwór glikokolu nie redukuje tlenu miedzi. Charakter wyników, o ile nie uwzględnimy liczby, wyrażającej zdolność redukcyjną samego glikokolu, jest w obu metodach ten sam.

W n i o s k i.

Zagadnienie wpływu glikokolu na działanie zcukrzające amylazy roślinnej i zwierzęcej wiąże się ściśle ze sprawą stężenia jonów wodorowych.

Wpływ glikokolu nie zaznacza się w Ph, znajdującem się w granicach optymalnego działania amylaz (roślinnej i zwierzęcej). Amylaza roślinna ma optimum działania w Ph 4,5 — 5,2.

W pierwszych okresach działania glikokol przyspiesza nieznacznie rozpad. Po 24 gr. przyspieszenie opada do zera.

Amylaza zwierzęca działa optymalnie w Ph 6 — 6,2; w granicach tego Ph glikokol nie wpływa na reakcję.

1^o W zasięgu optymalnego działania amylazy glikokol zachowuje się jak ciało obojętne.

W Ph odbiegającym od zasięgu optymalnego działania amylaz glikokol działa przyspieszająco.

Dla amylazy roślinnej działanie przyspieszające wzrasta się wraz z alkalizowaniem środowiska.

Przyspieszenie reakcji w Ph 7,4 jest większe, niż w Ph 6,2 i mniejsze, niż w Ph 8,2.

Dla amylazy ślinowej przyspieszenie, wywołane działaniem glikokolu jest duże w Ph 4,5, maleje w miarę zbliżania się do optymalnego zasięgu działania amylazy, poczem wzrasta i osiąga maximum w Ph 8,2.

Przyspieszenie reakcji jest więc w Ph 4,5 większe, niż w Ph 7,4, mniejsze jednak, niż w Ph 8,2.

Glikohol przyspiesza reakcję jedynie w warunkach nieoptymalnego działania enzymu, wywiera więc stabilizujący wpływ na amylazę.

2^o Działanie glikokolu jest protekcyjne w zasięgu odbiegającym od optymalnego działania amylazy.

Wyrażenie „działanie protekcyjne” rozumiem w sensie w jakim używa go *Willstätter*, mianowicie, jako ochronę struktury koloidalnej amylazy przed czynnikami destrukcyjnymi.

Przyspieszenie reakcji pod wpływem glikokolu w Ph 4,5 w układzie z amylazą ślinową jest jeszcze jednym dowodem przeciwko koncepcji *Shermana*, że działanie ochronne aminokwasów związane jest z charakterem proteinowym amylaz.

3^o Działanie glikokolu nie ma nic wspólnego z inaktywacją amylazy, wywołaną czynnością fermentów proteolitycznych.

W układach z amylazą zarówno roślinną, jak i ślinową, w optymalnym Ph rozpad końcowy po 24 g. osiąga pewną graniczną wartość (wskazaną w tabelach).

W zasięgu odbiegającym od pasa optymalnego działanie amylaz, rozpad końcowy w układach zawierających glikokol, nie przekroczył nigdzie tej granicy rozpadu.

4^o Glikokol nie zwiększa kinetyki ponad szybkość reakcji w zasięgu optymalnego działania amylaz.

Duże przyspieszenie reakcji w Ph 8,2 w układach z glikokolem nasunęło przypuszczenie, że w środowiskach o stężeniu jonowodorowem niskim powstaje związek maltoza-glikokol, analogicznie do badanych przez *Eulera* i *Josephsohna* połączeń glukoza-aminokwas. Działanie glikokolu w tych warunkach dałoby się wytłumaczyć powstaniem luźnych połączeń cukier-glikokol. Znikający podczas reakcji produkt dezagregacji skrobi - maltoza, prwodzi przesunięcie reakcji na korzyść tworzącej się maltozy. Koncepcję tę ze względu na a) negatywne wyniki doświadczeń (częściowo można je odnieść do metody, jak o tem wspominam przy opisie doświadczeń) i przede wszystkim b) wybitnie przyspieszający wpływ glikokolu w układach z amylazą ślinową w Ph 4,5 — należy uważać za błędną.

5^o Połączenia typu maltoza - glikokol nie powstają podczas reakcji i nie są przyczyną przyspieszenia reakcji.

Proces zcukrzania w układzie, zawierającym glikokol, nie dobiega do końca.

6° Obecność glikokolu nie wpływa na amylazę w sensie „komplementu“ *Pringsheima*.

Stężenie glikokolu wpływa niejednostajnie na przebieg procesu. Wpływ stężenia glikokolu nie zaznacza się w zasięgu optymalnego i minimalnego działania amylazy.

7° W zasięgu, leżącym między optymalnym a minimalnym działaniem amylaz, glikokol 2% działa silniej w układach z amylazą roślinną, natomiast w układach z amylazą zwierzęcą glikokol 1% działa bardziej aktywnie.

Panu Prof. dr. *Stan. Przyłęckiemu*, pod którego kierunkiem została wykonana niniejsza praca, składam na tem miejscu jak najserdeczniejsze podziękowanie.

Institut de Chimie Physiologique da l'Université de Varsovie.
(Dir. Prof. Dr. St. Przyłęcki).

L'INFLUENCE DU GLYCOCOLLE SUR LE PROCÈS AMYLOLYTIQUE DE SACCHARIFICATION DE L'AMIDON.

Par M. LANDAU

R É S U M É.

Dans mon travail je me suis posé pour tâche d'étudier le mécanisme de l'action du glycolle sur le processus de la saccharification de l'amidon sous l'influence de l'amylase végétale et animale dans différentes concentrations en ions hydrogènes.

L'influence du glycolle ne se manifeste pas lorsque Ph est situé entre les limites de l'activité optimum des amylases (végétale et animale). Pour l'amylase végétale, l'optimum d'activité est au voisinage de Ph 4,5 — 5,2. Dans les phases initiales, le glycolle accélère légèrement la décomposition. Après 24 h. l'accélération descend à zéro.

Quant à l'amylase animale, son optimum d'activité est au voisinage de Ph 6—6,2. Entre les limites de ce Ph l'influence du glyocolle sur la réaction est nulle.

1. Dans la zone de l'activité optimum de l'amylase, le glyocolle se comporte comme un corps neutre.

Dans les conditions de Ph au-delà de la zone de l'activité optimum des amylases, le glyocolle produit un effet accélérateur.

Pour l'amylase végétale, l'action accélératrice du glyocolle augmente avec l'alcalisation du milieu.

L'accélération de la réaction à Ph 7,4 est plus considérable qu'à Ph 6,2 et moins grande qu'à Ph 8,2.

Pour l'amylase salivaire (ptyaline) l'accélération due à l'action du glyocolle est considérable à Ph 4,5, elle diminue au fur qu'elle approche de la zone de l'activité optimum de l'amylase, après quoi elle augmente pour atteindre son maximum à Ph 8,2.

Le glyocolle accélère la réaction uniquement dans les conditions de l'activité non optimum de l'enzyme, par conséquent il exerce sur l'amylase une action stabilisante.

2. Dans les zones situées au-delà de celle de l'activité normale de l'amylase, le glyocolle exerce une action protectrice. Par „action protectrice” l'auteur comprend la défense de la structure colloïdale de l'enzyme contre les agents destructeurs.

L'accélération de la réaction sous l'influence du glyocolle à Ph 4,5 dans le système avec l'amylase salivaire est un argument de plus contre l'hypothèse de Sherman d'après qui l'action protectrice des acides aminés serait en rapport avec le caractère protecteur des amylases.

3. L'action du glyocolle n'a rien de commun avec l'inactivation de l'amylase provoquée par l'activité des ferments protéolytiques.

Dans les systèmes avec l'amylase salivaire aussi bien que végétale, à Ph optimum la décomposition finale après 24 h. atteint une certaine valeur limite (ct. les tableaux).

Dans les zones au delà de celle de l'activité optimum des amylases, la décomposition finale dans les systèmes contenant le glyocolle n'a dépassé nulle part cette limite de décomposition.

4. Le glyocolle n'augmente pas la cinétique au-dessus de la vitesse de la réaction dans la zone de l'activité optimum des amylases.

L'accélération considérable de la réaction à Ph 8,2 dans les systèmes avec le glyocolle a fait supposer que dans les milieux à concentration faible en ions H se forme la synthèse maltose—glyocolle, analogiquement aux combinaisons glycose—acide aminé étudiées par Euler et Jacobson. Toutefois, vu l'action hautement accélératrice du glyocolle dans les systèmes avec l'amylase salivaire à Ph 4,5, une telle supposition doit être considérée comme erronée.

5. Les combinaisons du type maltose—glyocolle ne se produisent pas au cours de la réaction et n'en causent pas l'accélération.

Le procès de la saccharification dans un système contenant la glyocolle n'aboutit pas à sa fin.

6. La présence du glyocolle n'agit pas sur l'amylase dans le sens du „complément” de Pringsheim.

L'influence de la concentration du glyocolle sur la marche du procès n'est pas uniforme.

7. L'influence de la concentration du glyocolle ne se manifeste pas dans les zones de l'activité optimum et minimum de l'amylase.

8. Dans les zones situées entre l'activité optimum et minimum des amylases, le glyocolle à 2% agit plus fortement dans les systèmes avec l'amylase végétale, tandis que dans les systèmes avec l'amylase animale le glyocolle à 1% exerce une influence plus activante.

P I Ś M I E N N I C T W O.

1) Caujolle (1930) i Molinier. Soc. Biol. 104, (294). Desgrer C. R. 127, (551). Effront Soc. Biol. 57, (234). Euler i Josephson (1926). Z. Phys. Ch. 152, (131). Jacoby Bioch. Ztschr. 140. Kostyczew i Brilliant Hoppe Seyl. Ztschr. 127. Kuhn Ber. Ch. Gcs. 57, (1960). Michaelis Bioch. Ztschr. 59 (77), Neuberg i Kabel (1925). Bioch. Ztschr. 162, (496). Oppenheimer (1926) 5 Aufl. Die Fermente u ihre Wirkung. Pringsheim Ber. Chem. Ges. 57, Pringsheim u Fuchs Bioch. Ztschr. 142, Pringsheim O. Bioch. Ztsch. 173, 177, (4^o6). Roger, Soc. Biol. 64. Sherman (1922). Amer. Chem. Soc. 44 (2956). Takahata, Bioch. Ztsch. 140, (154). Terroine, Journ. de Phys. Pat. 14, wg Oppenheimera. Willstätter-Waldschmidt (1923). Ztschr. Phys. Ch. 126, (143). Willstätter i Scheudel (1918). Ber. Chem. 51, (780).

Wpłynęło 14.VIII 1932.

Z Zakładu Biologii Ogólnej Uniw. J. K. we Lwowie.
Kier. Prof. Dr. R. Weigl.

OBRAZ CYTOLOGICZNY KRWI U LUDZI KARMIĄCYCH WSZY.

P o d a ł
ADAM FINKEL

W pracowni Prof. *Weigla* istnieje od lat kilkunastu sztuczna hodowla wszy odzieżowej (*pediculus vestimenti Burmeister*), prowadzona ostatnio na wielką skalę. Wszy tych używa się tak do eksperymentów naukowych, jakoteż do wyrobu szczepionki przeciw durowi plamistemu sposobem *Weigla*. Utrzymanie takiej hodowli napotyka na pewne trudności przedewszystkiem z tego powodu, że wszy — jak wiadomo — żywią się wyłącznie świeżą, krążącą krwią ludzką¹⁾, ludzi zaś karmiących wszy trzeba za to stosunkowo wysoko wynagradzać. Wynika stąd wielka kosztowność takiej hodowli. Po drugie nie każdy osobnik, który podejmuje się tego nieprzyjemnego zadania, nadaje się do karmienia nawet zdrowych wszy²⁾; u niektórych bowiem osób szczególnie czułych występują już po kilku dniach karmienia wszy tak silne odczyny miejscowe na skórze, że muszą oni zaniechać tego

¹⁾ Prócz krwi ludzkiej nadawałaby się tu jedynie jeszcze krew małąp (*Niccolle*) i świń (*Noeller*); jednakowoż utrzymanie większej liczby kolejnych pokoleń wszy udało się dotychczas tylko zapomocą krwi ludziej (*da Rocha-Lima*).

²⁾ Karmić wszy zakażone dudem plamistym mogą tylko te osoby, które niedawno przebyły dur plamisty, albo zostały uodpornione zapomocą szczepionki przeciudurowej.

zajęcia. W końcu należy uwzględnić także tę ewentualność, że we krwi osób karmiących wszy mogą powstać pewne zmiany chorobowe, wskutek ustawicznych ubytków krwi. Dlatego należy stale kontrolować obraz krwi i w ogólności stan zdrowia tych osób, aby w razie stwierdzenia szkodliwych dla zdrowia następstw albo czasowo zabronić zupełnie karmienia wszy lub też zmniejszyć liczbę wszy karmionych przy równoczesnem odpowiedniem leczeniu. Badania nad tą sprawą, aktualną dla osób karmiących wszy w tutejszym Zakładzie, a mającą też znaczenie ogólniejsze ze względu na plagę owadów żywiących się krwią ludzką, przeprowadzałem w ciągu dwóch lat od marca 1930 do lutego 1932.

Możliwość powstania niedokrewności w następstwie przewlekłej utraty małych ilości krwi budzi zainteresowanie nie tylko z wyżej wspomnianych względów praktycznych, ale też z punktu widzenia teoretycznego. Nie ulega wprawdzie żadnej wątpliwości, że obfity, choćby tylko jednorazowy krwotok może spowodować ciężką niedokrewność, a nawet sprowadzić śmierć dotkniętego nim osobnika¹⁾. Wiadomo również ze spostrzeżeń klinicznych, że nie tylko duże, ale też małe przewlekłe krwawienia (np. przy wrzodzie rakowym żołądka) mogą doprowadzić do stanu niedokrewności. Jednakowoż musimy wziąć pod rozwagę, że chodzi tu nie tyle o sam ubytek krwi, ile raczej o cały zespół chorobowy, przyczem krwawienie stanowi tylko jeden z objawów choroby. Pozostaje więc otwartą kwestja, jaką rolę w etiologii i patogenezie tej t. zw. pokrwotocznej niedokrewności odgrywają obok krwotoków inne objawy oraz sama zasadnicza choroba. Brak zatem dotychczas ścisłych badań eksperymentalnych na dowód, że powtarzający się dzień w dzień ubytek nawet drobnych ilości krwi może spowodować u człowieka anemię, a zagadnienie, jak wielką musi być ilość krwi straconej, by wywołać kliniczne objawy niedokrewności, pozostało dotąd nierozstrzygnięte.

¹⁾ Jeśli chodzi w szczególności o śmierć ze skrwawienia wskutek wysysania krwi przez pasorzyty, to znanym jest przypadek sekcji sądowo-lekarskiej, opisany przez *Wachholz*a: 30-letni mężczyzna w stanie podchmielonym udał się nad stawek, zawierający hodowlę pijawek i tu począł moczyć nogi. Wkrótce uległ około 300 ukąszeniom, zadany przez pijawki, i mimo rychłej pomocy zakończył życie a sekcja wykazała jako przyczynę śmierci znaczną utratę krwi.

Przy tym jedynym w swoim rodzaju eksperymencie codziennego upustu drobnych ilości krwi u osób karmiących wszy mogłem z dostateczną dokładnością oznaczyć ilość krwi straconej. By obliczyć tę stratę, trzeba przedewszystkiem ustalić, ile krwi wysysa jedna wesz podczas jednorazowego aktu ssania. Ilość ta wynosi dla dojrzałej wszy odzieżowej wedle *Widmana* 0,7—1,1 mg, wedle doświadczeń *Sikory i Halberkann* 0,89 mg dla samiczek, a 0,325 mg dla samca. Także czas trwania jednego nieprzerwanego aktu ssania waha się rzekomo w szerokich granicach i wynosi wedle *Sikory* przeciętnie 4 — 10 minut (cyt. *Hase*) wzgl. 1 — 1½ godziny przy dwurazowym dziennie karmieniu, wedle *Galli-Valerio* 10 — 20 minut, wedle *Hasego* do 23 minut. Inni obserwowali ssanie trwające godzinami, ale z przerwami, co wychodzi na to samo. Dane powyższe nie wydają się jednak zupełnie ściśle i pewne, ponieważ są zbyt rozbieżne i zostały uzyskane na skąnym materiale nielicznych egzemplarzy wszy. Przy własnych moich badaniach posługiwałem się metodą ważenia wszy naczczo oraz po karmieniu, przyczem przybytek wagi równał się masie krwi wyssanej. Zrazu trzymałem wszy podczas karmienia w klateczkach *Sikory*, zmodyfikowanych przez *Weigla*; otrzymane przytem wyniki ważenia były jednak niepewne i niejednolite, ponieważ nie wszystkie wszy mogły się dosyta nassać, a nadto oddany przez wszy kał wysypywał się częściowo z klateczek. Dlatego przy dalszych doświadczeniach puszczałem wszy zupełnie wolno na sktórę ludzką albo też umieszczałem je pod odwróconym lejkiem szklanym, aby móc je obserwować podczas ssania. Ilość krwi wyssanej zależy nie tylko od wielkości wszy, która — jak wiadomo — zawisła jest od wieku i płci wszy, ale zależy także od stanu odżywienia wszy przed ssaniem. Uwzględniwszy to wszystko obliczyłem, że na jedną dojrzałą wesz wygłodzoną, t. j. pozostawioną bez pokarmu przez 12 godzin w temp. 35° C. wypada przeciętnie 1 mg krwi, przyczem czas trwania aktu ssania wynosi przeciętnie ok. ½ godziny. Natomiast na 100 młodych, świeżo wylęgłych wszy przypada 2 — 4 mg krwi, przyczem akt ssania trwa 10—15 minut.

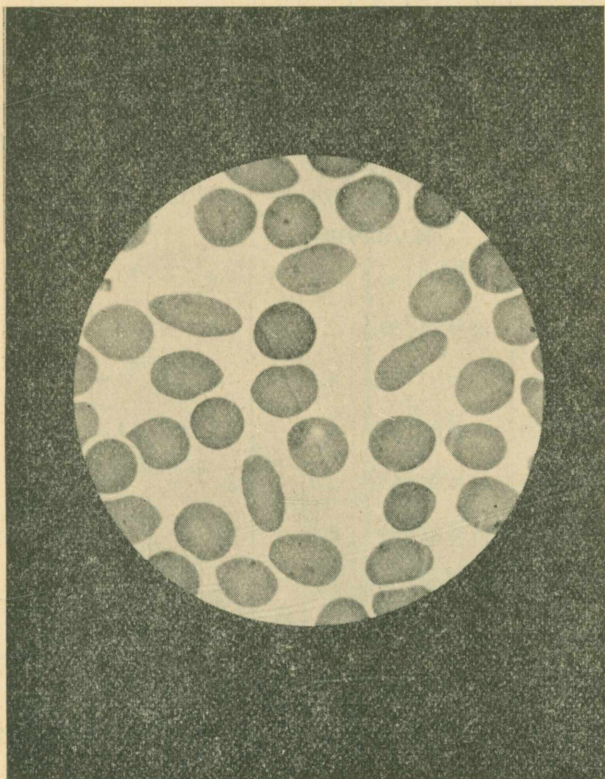
Ponieważ technikę hodowli wszy opisano już nieraz w licznych publikacjach, przypomnę tu tylko te szczegóły, które są niezbędne dla lepszego zrozumienia niniejszego artykułu.

Wszy trzyma się w tutejszym Zakładzie w cieplarni w temp. 35° C. i karmi się tylko dwa razy dziennie (rano i wieczorem) przywiązując klatki z wszami do kończyn karmicieli na $\frac{1}{2}$ — 1 godz. Przy tym sposobie hodowania młode wszy osiągają dojrzałość płciową już po 6 — 8 dniach, poczem wyjmuje się je z klatek, zakaża dudem plamistym wedle metody *Weigla* i żywi się je dalej jeszcze około 8 dni, w którym to czasie zakażenie dudem rozwija się w pełni. Zresztą dojrzewanie hodowli zależy w znacznej mierze od zachowania się i indywidualnych właściwości osoby karmiącej wszy. Uwzględnwszy spowodowane przez to pewne niedokładności i źródła błędów, jak np, rozmaity odsetek ginących przedwcześnie wszy, można przyjąć, że dla wyhodowania wszy zdrowej potrzeba około 20 mg krwi, zaś dla wykarmienia wszy zakażonej zużywa się około 18 mg krwi. Jeśli wyżej podane liczby pomnożymy przez liczbę wszy wykarmionych przez daną osobę w pewnym okresie czasu, to otrzymamy ilość krwi straconej przez tę osobę w danym czasie. Jak wynika z załączonych zestawień miesięczna suma ilości krwi, straconej przez osoby karmiące wszy, może wynosić poważne wartości i sięga nawet do 750 gr krwi.

Badania krwi wykonano w nieregularnych odstępach czasu od 1 tygodnia do 3 miesięcy (w czasie przerwy wakacyjnej) na 7 osobach karmiących wszy. Z badanych tylko 2 osobnicy M. M. i G. K. poddali się dwuletniej obserwacji, inni natomiast usunęli się po dłuższym lub krótszym czasie z pod dalszej obserwacji lub też wogóle zaprzestali karmić wszy. Krew pobierano z opuszki palca osób badanych naczczo około godziny 9-tej przedpołudniem i oznaczano: 1) liczbę ciałek czerwonych i białych w komorze Thoma-Zeissa, 2) ilość hemoglobiny zapomocą hemometru Sahli'ego, 3) różniczkowano leukocyty wedle V. Schillinga w preparatach rozciąganych, barwionych metodą Pappenheima (liczono do 250 ciałek białych). Niekiedy stosowano dodatkowo metodę grubej kropli, barwienia przyżyciowego i t. p. Z uzyskanych w ten sposób hemogramów uwzględniono tu tylko te, które odnoszą się do dwóch najdłużej obserwowanych osobników. Osoby te poddano zarazem dokładnej obserwacji lekarskiej w ogólności, by uwzględnić inne ewentualne przyczyny, któreby mogły wywołać zmiany

w obrazie krwi. Poniżej przytaczam pokrótce historie chorób obu krwiodawców.

Michał M., ur. 1897, z zawodu laborant Zakładu Biologii U. J. K. Wywiady rodzinne bez znaczenia. W czasie wojny światowej nabawił się w Bośni zimnicy i leżał w szpitalu w Sarajewie od 6.III — 8.V.1916. Ataki malarji trwały zwykle 6—10 dni i powtarzały się 4—5 razy do roku aż do r. 1926. Odtąd ustały zupełnie, jednak od czasu do czasu odczuwa M. M. bóle pod lewym łukiem żebrowym.



Mikrofotogram rozmazu krwi M.M. z dnia 31.I.1932
z owalocytami (o) w polu widzenia.

Z początkiem marca 1919 zachorował na dur plamisty i leżał w wojskowym szpitalu epidemicznym we Lwowie do 18.V.1919. W listopadzie 1920 został zraniony odłamkiem szrapnelu w prawe udo. W kwietniu 1921 karmił poraz pierwszy wszy zakażone dudem plamistym, a od sierpnia 1923 dotychczas karmi prawie bez

Tabela hemogramów M. M.

Data bada- nia krwi	Ilość erytr. w 1000	Ilość leukocytów	Ilość Hb. w %	Wskaznik barwny	Ilości procentowe leukocytów						U w a g i	
					Segm.	Pał.	Mł.	Eo.	T.	Mon.		Limf.
17.III 1930	5,600	6,700	92	0,82	62,4	2	—	3,2	—	13,6	18,8	Liczono do 334 leukoc.
26.III 1930	6,260	6,300	104	0,83	58,8	4,8	—	2,4	1,6	11,2	21,2	
2.IV 1930	5,775	3,600	98	0,85	55,6	5,6	—	1,6	0,8	10,8	25,6	
11.IV 1930	5,690	3,500	105	0,92	55,8	7,2	0,3	1,8	2,1	8,4	24,4	
27.V 1930	4,880	6,300	98	1,01	68	0,4	—	2	0,4	8,4	20,8	
Urlop od 20.VI — 20.VII.1930.												
22.VII 1930	5,040	6,200	116	1,09	48,4	4,4	—	0,4	—	10	36,8	Nieznaczna
5.XI 1930	6,260	3,900	126	1,06	57,6	2,4	—	1,6	—	12	26,4	
15.XI 1930	6,190	6,700	119	0,93	58,8	4,4	—	1,6	0,8	8,4	26	
16.I 1931	6,595	5,900	111	0,85	50,8	4	—	1,2	0,4	13,2	30,4	
12.II 1931	6,330	4,900	116	0,91	53,6	3,6	—	2	—	7,2	33,6	
20.II 1931	6,350	8,000	111	0,87	54	8,4	—	0,8	—	8	28,8	
25.III 1931	5,730	3,800	109	0,94	64	1,2	—	—	0,4	8	26,4	
13.IV 1931	4,950	4,100	103	1,04	54,8	4	—	2,4	—	10,4	28,4	
4.VII 1931	5,210	6,200	97	0,93	51,6	3,2	—	4,8	—	5,6	34,8	
24.VII 1931	4,665	9,500	96	1,03	59,6	3,2	—	2,4	—	8,8	26,8	
anizo-pojkilocytoza (owalocyty) Urlop od 2.VIII—31.VIII.1931												
25.IX 1931	5,105	5,800	101	0,99	55,6	3,2	—	2,4	—	12,4	26,4	Wyrażna
12.XII 1931	5,300	5,400	93	0,88	54,4	3,2	—	4	—	10,4	28	
31.I 1932	4,713	5,900	89	0,94	42,8	4,4	—	6,4	—	12,8	33,6	
owalo-pojkilocytoza, pojedyncze mikrocyty i polichromatofilne erytrocyty.												

**Liczbowe zestawienie ilości wszy karmionych
przez M. M. oraz ilości krwi, przytem straconej.**

Okres karmienia	Ilość wszy	Ilość krwi straconej w mg
20.II — 10.III.1930	2,837	41,066
20.III — 20.IV	1,452	26,136
20.IV — 20.V	3,954	71,010
20.V — 20.VI	5,683	102,294
20.VII — 20.X	8,973	161,514
20.X — 20.XI	3,415	61,470
20.XI — 20.XII	7,384	132,913
20.XII.1930 — 20.I.1931	12,479	224,622
20.I — 23.II	17,494	314,892
23.II — 18.III	11,792	212,256
18.III — 23.IV	14,520	261,360
23.IV — 22.V	16,160	290,880
22.V — 22.VI	16,360	294,480
22.VI — 27.X	38,503	693,054
(od 1—31.VIII nie karmił wszy)		
27.X — 27.XI	15,262	274,716
27.XI — 23.XII	19,322	347,796
23.XII.1931 — 26.I.1932	13,328	239,904
26.I — 24.II.1932	17,250	309,690

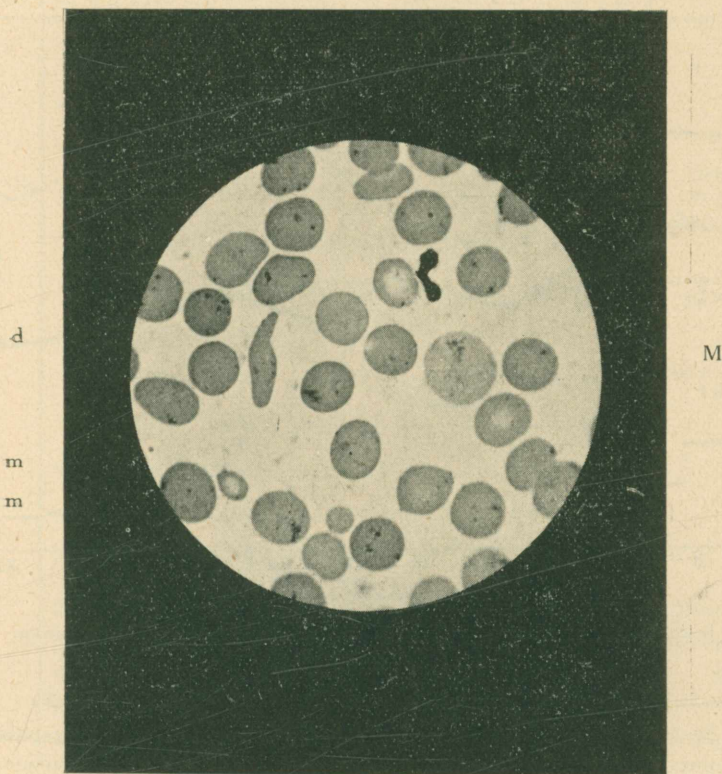
przerwy wszy zakażone. Nie odczuwał przytem żadnych większych dolegliwości aż do listopada 1931 r. Od tego czasu czuje się nieco osłabiony, męczy się łatwo i dostaje bicia serca przy wysiłkach fizycznych, uskarża się też na kłucie w okolicy serca oraz na względną utratę apetytu, przyczem odczuwa pociąg do kwaśnych potraw. Nadto odczuwa zgagę w 3 — 4 godziny po jedzeniu niezależnie od rodzaju przyjętych pokarmów. Nie pije, nie pali. Chorób wenerycznych nie przechodził. Nie zauważył nigdy krwi ani robaków w stolcu. Nie krwawił z nosa. Nie był wystawiony przez dłuższy czas na działanie promieni rentgenowskich ani radium.

M. M. jest mężczyzną wzrostu wysokiego, budowy kośćca miernie silnej, odżywienia dość dobrego. Pozytywnie stwierdza się: próchnicę kilku zębów, zresztą plombowanych; przytłumienie wypuku nad szczytem płuca prawego, nad lewym szczytem wypuk nieco krótszy (lewy bark jest węższy i wyżej ustawiony, niż prawy). Granice dolne płuc sięgają z tyłu na 8 palców poniżej dolnego kąta łopatki, dobrze ruchome. Na prawem udzie wielka zaciągnięta blizna. Śledziona nieco powiększona, przy ucisku niebolesna. Znaczniejszego zblednięcia skóry ani błon śluzowych zzewnątrz widzialnych nie zauważono. Waga ciała zmniejszała się (23.VI. 1931 ważył 71,700 kg, we wrześniu 1931 — 72 kg; 9.II.1932 — 65,500 kg), także jego siła mięśniowa mierzona dynamometrem uległa zmniejszeniu (w czerwcu 1931 180 kg, w grudniu 1931 tylko 130 kg).

Inne dodatkowe badania kliniczne bez znaczenia (odczyn Wassermanna ujemny, grupa krwi 0 i t. d.).

Grzegorz K., ur. 1883, z zawodu woźny Zakładu Biologii U. J. K. Anamneza rodzinna bez znaczenia. W r. 1908 przebył lewostronne zapalenie płuc, leżał przez 6 tygodni, a potem odpluwał jeszcze przez cały rok plwociną z domieszką krwi. W r. 1929 był obłożnie chory przez dwa tygodnie z powodu grypowego zapalenia oskrzeli. Dwukrotnie w listopadzie 1930 oraz z początkiem lutego 1931 przebył trzydniową gripę z ostrym nieżytem oskrzeli oraz gorączką do 38,8 C. Od r. 1923 zajmuje się karmieniem wszy. Dopiero w maju 1931 zaczął odczuwać ogólne osłabienie i szybkie zmęczenie przy fizycznych wysiłkach, skarżył się również na bicie serca, duszność i bóle głowy. Podczas dwumiesięcznej przerwy wakacyjnej (lipiec—sierpień 1931) nie karmił wcale wszy i początkowo czuł się jeszcze przez 5 tygodni niezdrów. Później dopiero nastąpiła powolna poprawa stanu zdrowia tak, że po urlopie pokonywał na siłomierzu 200 kg i podjął się znowu karmienia większych ilości wszy. Jednak już z końcem września 1931 wystąpiły ponownie podobne objawy jak przed ferjami. Od grudnia 1931 aż do końca obserwacji czuł się dość dobrze (ostatnio pokonywał na dynametrze 160 — 170 kg). Apetyt utrzymany, ale nie tak dobry, jak przedtem, z predylekcją do kwaśnych potraw. W kilka godzin po jedzeniu miewa uczucie przepełnienia i wzdęcia w brzuchu. Kaszle nieco, odpluwa czasem małą ilość plwociny śluzowej bez domieszki krwi. Nie pije, pali miernie. Nie przechodził chorób wenerycznych. Nie miewa krwawień z nosa. W stolcu nigdy nie zauważył krwi ani robaków. Nie był wystawiony przez dłuższy czas na działanie promieni Roentgena, ani pierwiastków radioaktywnych.

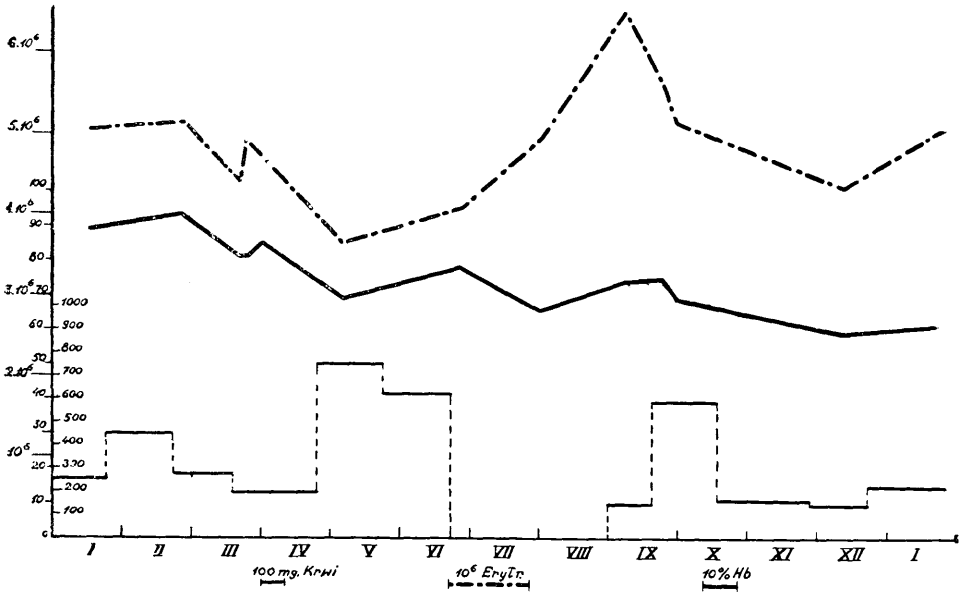
Badanie fizykalne. Mężczyzna średniego wzrostu, krępy, silnej budowy kośćca, dobrze odżywiony. Nad szczytem płuca prawego wypuk nieco krótszy (mięśnie prawego barku silniej rozwinięte). Granice dolne płuc sięgają z tyłu na 5 palców poniżej dolnego kąta łopatki, dobrze ruchome. Przysłuchem nad obu płucami szmery pęcherzykowe, nieco zaostrome, gdzieindziej rozsiane



Mikrofotogram rozmazu krwi G. K. z dnia 3.II.1932
z drepanocytem (d), makrocytem (M) i 2 mikrocytami (m)
w polu widzenia.

świsty, których intensywność i rozprzestrzenienie ulegały dość znacznym wahaniom podczas okresu obserwacji. Barwa skóry i widzialnych zzewnątrz błon śluzowych zmieniała się również zależnie od każdorazowego stanu zdrowia, a mianowicie w miesiącach maj — czerwiec 1931, jakoteż w listopadzie i grudniu 1931 zauważyłem wyraźną błądź i podżółtaczkowe zabarwienie spojówek oczu z żółtozielonkawym odcieniem. Na skórze kończyn w miejscach, gdzie zwykle przystawiano

klatki z wszami widać pasy skóry na 5 cm szerokie, ciemnobrunatno zabarwione (melanoderma e pediculosi). Waga ciała wynosiła z końcem lipca 1931 — 83 kg; 9.II.1932 — 79,600 kg. Badanie treści żołądkowej wykazało zupełny brak kwasoty. Inne dodatkowe badania kliniczne bez istotnego znaczenia (odczyn Wassermanna ujemny; odporność krwinek czerwonych — prawidłowa i t. p.).



Wykres ilości erytr. Hb., oraz krwi straconej w ciągu roku 1931 w przyp. G. K.

Prześwietlenie promieniami Roentgena (Dr. W. Grabowski) wykazało:

U M. M. przepona niżej ustawiona, dobrze ruchoma. Kąty przeponowożebrowe wolne. W szczycie prawym dość intensywne zagęszczenie. Zgrubienie opłucnej szczytu lewego.

U G. K. cienie wnękowe nieco szersze. Żołądek, dwunastnica i kiszka gruba bez zmian.

Przystępując do analizy wyników badań krwi pozwolę sobie poczynić najpierw parę uwag ogólnych.

Celem stwierdzenia ewentualnych zmian w obrazie cytologicznym krwi, wybrałem wyżej podane sposoby badań nietylko ze względu na łatwą wykonalność tychże, ale raczej dlatego, że taki hemogram najlepiej orjentuje nas co do ewentualnych zmian

Tablica hemogramów G. K.

Data bada- nia kwi	Ilość erytr. w 1000	Ilość leukocytów	Ilość Hb. w %	Wskaźnik barwny	Ilości procentowe leukocytów							U w a g i
					Segm.	Pał.	Mł.	Eo.	T.	Limf.	Mon.	
19.III 1930	5,550	4,900	113	1,02	61,2	2	—	1,2	—	33,2	2,4	Urlop od 20.VII do 31.VIII.1930
10.IV 1930	4,800	7,800	102	1,06	65,6	5,6	—	0,4	1,6	20	6,8	
28.V 1930	4,765	7,200	103	1,09	56,8	4,4	—	1,6	0,4	31,2	5,6	
15.VIII 1930	5,455	8,800	109	1	64,4	4	—	0,4	0,4	25,6	5,2	
26.X 1930	5,225	5,000	101	0,97	60,8	6,4	—	0,4	—	27,2	5,2	
10.XI 1930	5,391	7,400	89	0,83	66,8	2	—	—	—	26,8	4,4	Grypa od 27— 30.XI.1930
6.XII 1930	5,650	6,200	92	0,82	46,8	6,8	—	2,8	—	36	7,6	Grypa od 5— 5.II.1931
15.I 1931	5,065	4,200	90	0,9	58,8	3,2	—	2	0,4	32	3,6	
26.II 1931	5,175	6,100	94	0,9	69,6	3,6	—	2	—	16,8	8	
16.III 1931	4,425	5,800	82	0,93	57,6	5,2	—	2,4	0,4	25,6	8,8	Nieznaczna anizo-pojkilocytoza, pojedyncze mikrocyty, polichromatofile, owalocyty.
24.III 1931	4,965	4,900	82	0,84	64,6	4	—	1,2	0,4	24	5,8	
1.IV 1931	4,795	5,400	86	0,9	62	3,6	—	1,6	—	25,2	7,6	
5.V 1931	3,765	5,400	70	0,93	66,4	4,8	1,6	0,4	0,4	18,4	8	
26.VI 1931	4,115	7,800	79	0,96	64	6	—	0,4	—	24,8	4,8	
1.VIII 1931	4,950	8,900	66	0,66	63,6	1,6	0,4	0,8	—	28	5,6	Wyrażna anizo-pojkilocytoza (dolichocyty, mikro i makrocyty, schistocyty), poli- chromazja, oligochromemja.
7.IX 1931	6,540	5,600	74	0,57	64,8	3,6	0,4	0,4	0,4	24	6,4	dtto
22.IX 1931	5,767	7,200	75	0,65	60,8	2,4	0,4	2,8	0,8	27,6	5,2	Wybitna anizo-pojkilocytoza, polichromazja, oligochromemja.
29.IX 1931	5,170	7,100	68	0,66	64	4,5	—	0,8	—	26,3	4,4	dtto
10.XII 1931	4,380	6,200	59	0,67	56,4	8	0,4	0,8	—	26	8,4	dtto
22.I 1932	5,075	6,000	61	0,61	60,8	4,4	—	0,8	2,4	24	7,6	dtto
3.II 1932	4,495	4,900	61	0,68	69,2	4	—	2	—	19,4	5,4	Od 21.I — 2.II.1932 podawano hepatynę (3 razy dz. łyżeczkę). dtto

**Zestawienie liczbowe ilości wszy karmionych przez G. K.
oraz ilości krwi przytem straconej.**

Okres karmienia	Ilość wszy karmionych	Ilość krwi straconej w mg
20.II — 20.II.1930	4,055	81,100
20.III — 20.IV	12,670	253,400
20.IV — 20.V	13,380	267,600
20.V — 20.VI	2,873	57,460
20.VI — 20.VII	3,680	73,600
1.IX — 20.X	4,870	97,400
20.X — 20.XI	8,264	165,280
20.XI — 18.XII	12,865	257,300
18.XII.1930 — 23.I.1931	13,164	263,280
23.I — 22.II	22,388	447,760
22.II — 18.III	13,991	279,820
18.III — 24.IV	9,758	195,160
24.IV — 22.V	37,842	756,840
22.V — 22.VI	31,217	624,340
1.IX — 19.IX	7,648	152,960
19.IX — 27.X	29,446	588,920
27.X — 22.XI	8,145	162,900
27.XI — 22.XII	7,453	149,060
22.XII.1931 — 26.I.1932	11,034	220,680
26.I — 24.II.1932	12,190	243,800

w ludzkim ustroju. Inne metody jak np. oznaczanie ogólnej ilości krwi wydały mi się niedość czułe z powodu zbyt szerokiej granicy błędów.

Zmiany patologiczne w obrazie krwi opisanych przypadków są wynikiem rozgrywki między utratą krwi a wzmożoną produkcją tejże (przede wszystkim w szpiku kostnym), przyczem wpływ krwi stanowi fizjopatologiczny bodziec dla szpiku kostnego. Obraz krwi jest tu więc wypadkową tych dwu wyżej wspomnianych, wprost przeciwnych sobie zjawisk. Z zestawienia dwu znanych nam wartości, a mianowicie ilości straconej krwi, jakoteż obrazu krwi krążącej, możemy sobie odtworzyć decydujące tutaj zmiany w szpiku kostnym¹⁾.

Należy przytem wziąć pod uwagę, że krew obwodowa ulega działaniu różnych przejściowych, często nieuchwytnych czynników. I tak wiadomo, że przy dłużej trwającym, niedostatecznym zaopatrzeniu organizmu w wodę lub przy obfitych utratkach wody następuje zagęszczenie krwi krążącej w ustroju, a badanie krwi wykazuje wyższe ponad normę ilości erytrocytów. Otrzymane więc wyniki ilościowe badania krwi mają tylko względne znaczenie i powinny być oceniane przy równoczesnem uwzględnieniu nie tylko całości obrazu cytologicznego krwi, jakoto właściwości morfologicznych i t. p., ale nawet ogólnego stanu zdrowia danej osoby. Mniejsze wahania ilości erytrocytów do 10% można uważać za fizjologiczne wzgl. leżące w granicach błędu technicznego.

W ogólności nie jest tu miarodajnym jednorazowo otrzymany wynik ilościowy, ale raczej dłużej trwająca tendencja do wysokich lub niskich ilości krwinek czerwonych i hemoglobiny, przyczem jako normę przyjmujemy: ilość erytrocytów równą 5,000,000 w 1 mm³, ilość hemoglobiny równą 100%, wskaźnik hemoglobinowy równy 1.

Z odnośnych tablic i diagramu wynika, że szpik kostny reaguje początkowo na utratę małych ilości krwi w myśl praw biologicznych Arndta-Schulzego wzmożoną produkcją erytrocytów i hemoglobiny (ilość erytrocytów większa od 5 milionów 1 cmm, ilość hemoglobiny wyższa niż 100%). Dopiero po dłużej trwają-

¹⁾ Bezpośredniego badania szpiku kostnego nie można było niestety przeprowadzić.

cych silniejszych utratach krwi wynoszących około 10 gr dziennie zaczyna ilość ciał czerwonych spadać. Przy dalszej utracie krwi (około 15 gr dziennie) staje się już widoczną pewna niewydolność szpiku kostnego (pojawienie się we krwi krążącej młodocianych i zwyrodniałych postaci krwinek). Po wcale dużych stosunkowo ubytkach krwi powyżej 20 gr dziennie ilość erytrocytów spada gwałtownie poniżej 4 milionów, a ilość hemoglobiny obniża się do 70%, tak, że indeks barwny zrazu pozostaje równy 1, względnie jest nie dużo mniejszy. Po przerwie w karmieniu wszy lub przy zmniejszeniu ilości wszy karmionych widzimy szybką hiperregenerację erytrocytów, co znowu stanowi niewątpliwy dowód związku przyczynowego między utratą krwi a powstaniem niedokrewności w myśl znanej maksymy: *cessante causa cessat effectus*. Odnowa hemoglobiny natomiast postępuje znacznie powolniej, aniżeli regeneracja erytrocytów tak, że nawet po 2-miesięcznej przerwie w karmieniu wszy ilość hemoglobiny w przypadku G. K. nie dosięga jeszcze pierwotnej wartości, co się tłumaczy brakiem budulca w skrwawionym organizmie. Ta rozbieżność w regeneracji między erytrocytami a hemoglobiną staje się jeszcze bardziej wybitną wskutek wspomnianej wyżej hiperregeneracji erytrocytów, podczas przerwy w karmieniu wszy, wobec czego po urlopie wypoczynkowym indeks ulega znacznemu obniżeniu i rozwija się obraz wtórnej niedokrewności rzekomo-bledniczej (*anaemia secundaria pseudochlorotica*).

Równocześnie występują również odpowiednie zmiany morfologicznych i barwikowych właściwości erytrocytów, jak anizopoj-kilocytoza, hipochromja i polichromazja.

Co się dotyczy leukocytów to widzimy w przypadku M. M. stałą monocytosę, którą można uważać za pozostałość po przebytej zimnicy. W kwietniu 1930 i w lutym 1931 wystąpiło nieznaczne zresztą przesunięcie w lewo, które wobec dobrego stanu zdrowia tego osobnika pozostało niewyjaśnionem. Także w przypadku G. K. spostrzegałem podobne zmiany; obserwowane dnia 6.XII.1930 przesunięcie w lewo zostało zapewne spowodowane niedawno przebytą gripą. Inne zmiany można odnieść do zjawisk regeneracyjnych w szpiku kostnym.

Już od samego początku tych badań napotykałem gdzieniegdzie w preparatach krwi obu przypadków (częściej u G. K.) dziwnie wydłużone erytrocyty kształtu owalnego, półksiężycowatego i t. p. niezwykle postaci, które w toku obserwacji a w miarę wzmaganiania się stanu niedokrewności wyraźnie przybierały na wyrazistości i częstości. Badania doświadczalne wykazały, że chodzi tu o prawdziwe owalocyty i drepanocyty (dolichocyty). Muszę zatem zaznaczyć, że obaj badani jako konstytucjonalnie predysponowani do anemji są osobnikami szczególnie czułymi na stratę krwi.

Reasumując można powiedzieć, że w obrazie cytologicznym krwi osób karmiących wszy stwierdzono niedokrewność na skutek codziennych drobnych ubytków krwi, które jednak razem wzięte przedstawiają miesięcznie wcale pokaźne ilości do 750 gr krwi, a mianowicie u M. M. wystąpiła niedokrewność regeneratywna z lekkim odcieniem degeneracyjnym, u G. K. zaś dość ciężka niedokrewność regeneratywna z wyraźnym odcieniem degeneracyjnym.

Badania omawiane mają też pewne znaczenie społeczno-higieniczne o tyle, że wykazują dowodnie poważne zagrożenie stanu zdrowia u osobników dotkniętych wszawicą. Tyczy się to zwłaszcza dzieci i starców, którzy na stratę krwi są wrażliwsi, aniżeli bardziej wytrzymałe osoby w wieku średnim. Błady nędzny wygląd osobników trapionych plagą wszy lub innych owadów ssących krew ludzką, jak np. pluskwy i t. p. należy odnieść w pierwszym rzędzie do niedokrewności jako następstwa codziennych drobnych ubytków krwi oczywiście przy uwzględnieniu również innych warunków zdrowotnych ¹⁾.

Wyniki badań powyższych streścić można jak następuje:

¹⁾ Badania te wyświełtają pewne zdarzenia znane nam z historii: Niektórzy sławni ludzie, jak *Plato*, król *Antjoch*, *Sulla*, kardynał *Duprat*, król hiszp. *Filip II* i inn. zostali rzekomo zagryzieni przez własne wszy. Trudno sobie wyobrazić, żeby same zmiany skórne spowodowały śmierć tych osób, o ile nie przyłączyły się tu ogólne zakażenie krwi. Natomiast jeśli uprzytomnimy sobie, że już po 2 tygodniach z jednej pary wszy może wylęgnąć się 50,000 wszy, dalej że 100,000 wszy tylko przy 2-razowym dziennie ssaniu zapotrzebowuje 200 gr krwi na dobę, to możemy z pewnością przyjąć, że ci nieszczęśliwcy zostali wprawdzie nie zagryzieni, ale skrwawieni przez własne wszy.

1. Przy codziennych drobnych ubytkach krwi (do 10 gr dziennie) stwierdziłem u osób badanych podwyższenie liczby erytrocytów i pomnożenie ilości hemoglobiny ponad przyjętą normę.

2. Po dłuższej trwających silniejszych utratkach krwi, wynoszących około 15 — 25 gr dziennie, wartości erytrocytów i hemoglobiny spadają równolegle, przyczem powstaje obraz prostej pokrwotocznej niedokrewności ze wskaźnikiem barwnym równym lub zbliżonym do 1.

3. Po przerwie w karmieniu wszy rozwija się obraz wtórnej niedokrewności rzekomo-bledniczej ze wskaźnikiem barwnym niższym od 1 wskutek powolnej odnowy hemoglobiny przy równoczesnej hiperregeneracji erytrocytów.

4. W patogenezie niedokrewności osób nawiedzonych plagą owadów ssących krew, codzienne ubytki krwi spowodowane przez te pasorzyty odgrywają rolę czynnika etiologicznego.

Współpracownikom Zakładu składam także na tem miejscu najserdeczniejsze podziękowanie za łaskawą pomoc przy przeprowadzeniu pewnych badań.

De l'Institut de Biologie Générale—Université Jean Casimir à Lwów.
Dir. Prof. Dr. R. Weigl.

L'IMAGE CYTOLOGIQUE DU SANG CHEZ LES SUJETS NOURRISSANT LES POUX.

P a r

ADAM FINKEL

R É S U M É.

Les recherches que j'ai faites dans le laboratoire du Prof. Weigl sur l'image cytologique du sang des hommes nourrissant les poux ont montré, que dans le sang de ces personnes il se manifesta en conséquence de pertes de sang une anémie à savoir:

chez M. M. l'anémie régénérative avec une légère nuance dégénérative, chez G. K. l'anémie régénérative assez grave avec une nuance dégénérative distincte. Les pertes quotidiennes de sang étaient peu considérables, mais prises en somme s'élevaient à des quantités mensuelles assez grandes (jusqu'à 750 gr par mois). Quand les pertes de sang étaient très peu considérables (environ 5 — 10 gr journellement), je constatais des quantités des globules rouges et d'hémoglobine plus élevées, que celles qu'on admet comme normales (c. a. d. plus de 5 millions des globules rouges et Hb. plus de 100%). Quand les pertes de sang étaient plus durables et plus grandes (environ 10 — 25 Gr journellement) les quantités des globules rouges et d'hémoglobine s'abaissaient parallèlement et en même temps se produisit l'image d'une anémie simple posthémorragique avec l'index colorique égal ou approchant à l'unité. Après une pause dans la nutrition et en conséquence d'une régénération lente d'hémoglobine, accompagnée d'une hyperrégénération des globules rouges s'était développée une image d'anémie secondaire pseudochlorotique avec l'index colorique moindre que l'unité.

Ces recherches montrent, que dans la pathogénèse et dans l'étiologie de l'anémie des personnes tourmentées par le fléau d'insectes sanguivores, les morsures des insectes causant des pertes de sang quotidiennes jouent le rôle de l'agent provocateur.

Dans ces deux cas on a aperçu, à côté des hématies rondes à l'état normal, des globules ovales (ovalocytes) et falciformes (drepanocytes), plus nombreux et plus distinctes à mesure que l'anémie augmentait. Ces deux formes furent trouvées jusqu'à présent presque exclusivement chez les nègres et les bâtards; seulement quelques auteurs les ont décrits comme un symptôme exceptionnel chez les individus de la race blanche pure.

Les expérimentations ont confirmé, que ces hématies déformées sont en réalité des typiques ovalocytes resp. drepanocytes.

PIŚMIENNICTWO.

- 1) Aubertin M. Ch. Les anémies. Nouveau traité de médecine. Fasc. IX. Paris. 2) Finkel A. P. G. L. Nr 29 i 30. 1933, str. 562—563. 3) Günther H. Handbuch der allg. Hämatologie hrgb. v. H. Hirschfeld u. A. Hittmair, str. 1—98 Wien u. Berlin 1932. 4) Hase A. Verhandlungen der ausserord. Tagung des deutschen Kongresses f. innere Medizin in Warschau am 1 u. 2 Mai 1916, str. 125—135, str. 136—191. 5) Nägeli O. Lehrbuch der Blutkrankheiten. Berlin 1931. 6) Rocha Lima H. da Ergebnisse d. allg. Pathologie u. pathol. Anatomie des Menschen u. der Tiere XIX. Jg. I. Abt. str. 206—207. 7) Schilling V. Das Blutbild u. seine klinische Verwertung. Jena 1924. 8) Sikora H. Centralbl. für Bakter. etc. I. Abt. Orig. Bd. 76. H. 7. 1915, str. 523—537. 9) Wachholz L. Podręcznik medycyny sądowej. Kraków 1899, str. 237. 10) Weigl R. Beiträge zur Klinik d. Infektionskrankheiten. Bd. VIII, H. 4, S. 353—376 1915. 11) Weigl R. Extrait du bulletin de l'Académie Polonaise des Sciences et des Lettres. Classe de Médecine. Cracovie 1930.
-

Wpłynęło I.IX.1933

STUDJA Z DZIEDZINY HEMOLIZY.

P o d a ł

Dr. J. GUTMAN.

C e l p r a c y .

Hemoliza, jak wiadomo, polega na tem, że ciałko czerwone krwi pod wpływem szczególnych czynników traci swój barwnik, hemoglobinę, przechodzącą do cieczy w której krew została zawieszona. Nas w danym wypadku interesuje hemoliza krwi uczulonej t. zw. amboceptorem, t. j. odpornościową surowicą króliczą, zachodzącą pod wpływem komplementu — świeżej surowicy świnki morskiej.

Jakkolwiek literatura traktująca o hemolizie jest bardzo obszerna, to jednak sam mechanizm tego procesu jest jeszcze bardzo mało znany. Jak proces zachodzi jest jeszcze niewyjaśnione. Próby tłumaczenia tego procesu sprowadzają się głównie do dwóch teoryj.

Według pierwszej powierzchnia ciałka krwi pod wpływem amboceptora adsorbuje komplement i wtedy przepuszcza zawartą w komórce hemoglobinę nazewnątrz (*Bordet*).

Według drugiej teoryj prócz zjawiska adsorpcji mamy tu jeszcze reakcję chemiczną między zaadsorbowanym komplementem i amboceptorem a w wyniku tej reakcji uwolnienie się hemoglobiny z więzów komórki (*Ehrlich, Morgenroth, Sachs, Neisser i Wechsberg, Arrhenius*).

Liefmann i Cohn ogłosili teorię, według której, fakt że komplement znika z postępowaniem hemolizy, to jest raczej wynikiem hemolizy aniżeli jej przyczyną, następstwem związania komplementu w uczulonych krwinkach. Według wspomnianych autorów komplement gra w hemolizie rolę fermentu.

Dick, stwierdzając zwiększenie ilości aminokwasów po hemolizie był skłonny do określenia komplementu jako fermentu proteolitycznego.

Olsen i Goette wskazują na duże podobieństwo między komplementem i lipazą surowiczą. Według *Hilla A. i Parkera G.* hemoliza zachodzi w sposób następujący: z początku uczulona krwinka łączy się z komplementem w quasi chemicznej kombinacji. W dalszym ciągu następuje tworzenie się produktu śródkomórkowego, który hemolizę wywołuje. Właściwe działanie owego produktu polega na wpływie katalitycznym, umożliwiającym fermentowi zawartemu w amboceptorze uwolnienie hemoglobiny. Produkt ów nie bierze czynnego udziału w samej hemolizie. Co prawda wiąże się z substancją komórkową i w tej kombinacji zostaje zniszczony, ale następuje to już niezależnie od procesu hemolitycznego.

Eagle przez użycie uproszczonej, ilościowej metody miareczkowania komplementu ustala, wbrew poglądom *Liefmanna i Cohna*, że wywołanie hemolizy wymaga jednakże uprzedniego związania komplementu na uczulonych krwinkach, i że uchylenie tego związania uniemożliwia hemolizę nawet w obecności dużego nadmiaru komplementu.

Należy więc w procesie hemolitycznym przyjąć dwojaki mechanizm. Pierwszy to wiązanie krwinki uczulonej z komplementem, drugi to wydzielanie się hemoglobiny. Nazwijmy pierwszy mechanizm „inkubacją”, drugi — „hemolizą właściwą”.

W pracach dotychczasowych rozpatrywano oddzielnie te mechanizmy, nie kuszono się natomiast o znalezienie związku bliższego jaki ewentualnie między nimi zachodzi. To też niewiele wiemy o stosunku okresu inkubacji do okresu hemolizy właściwej, czy są to okresy ściśle między sobą rozgraniczone, czy może nie ma między nimi wyraźnej granicy, gdyż równoległe do wiązania komplementu następuje już częściowe wydzielanie się he-

moglobiny. Również nie wiemy jakie zmiany w długości okresu inkubacji wywołują różne czynniki i czy te zmiany pozostają w jakimś związku z okresem właściwej hemolizy.

Zagadnienia wspomniane może i dlatego nie znalazły chętnych badaczy, że metodyka dotychczasowa była uciążliwa i w dokładnych a dość krótkich pomiarach nie dopisywała. Polegała ona głównie na odpipetowaniu co określony czas pewnych ilości płynu z układu hemolitycznego i porównywaniu barwy rozpuszczonej hemoglobiny z barwą cieczy o znanej zawartości hemoglobiny (*Arrhenius, Madsen, Liebermann*).

Celem pracy poniższej było dokładniejsze zbadanie przebiegu procesu hemolizy przy pomocy spektrofotometru.

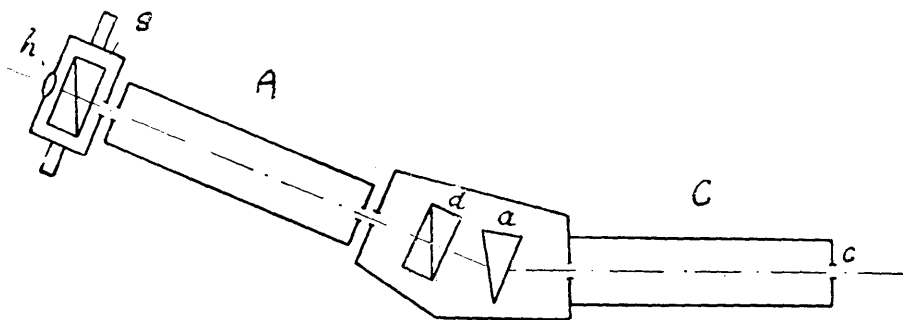
Spektrofotometr szczególnie dobrze nadawał się do tego rodzaju badań, gdyż szybko i dokładnie podawał stopień hemolizy w danym momencie, umożliwiał ściśle uchwycenie momentu rozpoczęcia hemolizy właściwej i zakończenia procesu z dokładnością 10 — 15 sekund, dawał okazję do zbadania b. krótkich, nawet 1—2 minuty trwających procesów, a więc takich, w których produkty hemolizy nie powodują ubocznych zjawisk przeszkadzających w śledzeniu czystego procesu hemolitycznego.

Aparatura i metodyka.

Używałem spektrofotometru konstrukcji Königa - Martensa (rys. 1). Promienie świetlne wpadają do spektrofotometru przez 2 poziome szczeliny c, umieszczone na końcu rury nieruchomej C, wielkość szczelin reguluje się śrubą mikrometryczną K, następnie promienie trafiają do pryzmatu a rozszczepiającego, pryzmaty Nikola d i g służą jako polaryzator i analizator. Rurę A można nastawić na dowolny promień widma, do tego służy śruba mikrometryczna ze skalą na bębnie, podnosząca i opuszczająca rurę A. Promienie świetlne po przejściu przez szereg powyżej wskazanych soczewek i pryzmatów dają dwa półpola, które mają być porównywane przez lupę h, umieszczoną razem z pryzmatem Nikola g w ruchomej oprawie. Oprawa posiada tarczę z podziałką, jak w przyrządach polaryzacyjnych. Jeżeli przed jedną ze szczelin umieścić naczynko z roztworem absorbującym światło, to promień,

który przeszedł przez ten roztwór zostanie osłabiony. Promień zaś drugi, trafiający bezpośrednio do szczeliny, nic nie traci na jasności pól. O ile więc dla naczynka z czystą wodą kąt α_0 odpowiadał równości natężeń obu wiązek, to obecnie musimy tarczę obrócić o pewien kąt α dla powtórniego zrównania jasności pól.

Zestawienie aparatury było następujące: do jednej ze szczelin wchodziło światło wprost z matowej żarówki. Do drugiej wpadało od innej podobnej żarówki, przechodząc wpierw przez ter-



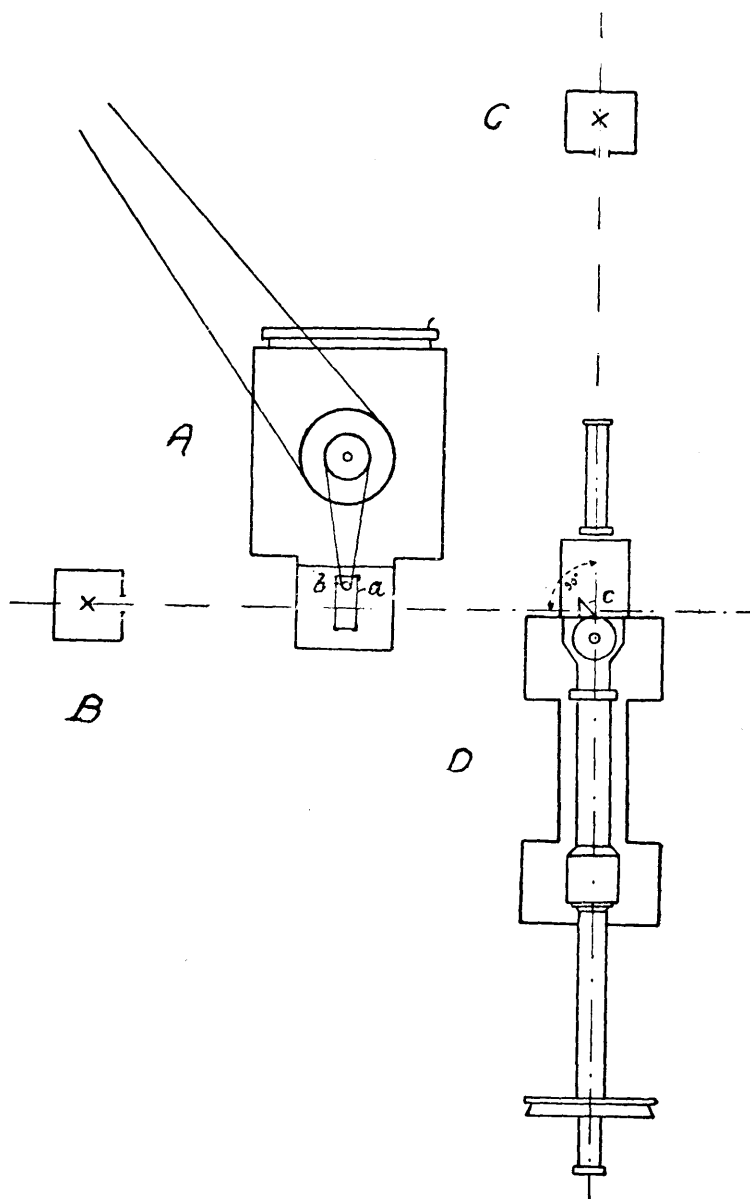
Rys. 1.

mostat wodny (o pojemności około 3 litrów) z dwiema naprzeciwległymi ściankami szklanymi. Pomiedzy temi ściankami mieściło się naczynko absorpcyjne z zawiesiną 3% krwi baraniej w soli fizjologicznej.

Naczynko absorpcyjne o równoległych ściankach szlifowanych miało wymiary $0,6 \times 0,9 \times 5,6$ cm. W naczynku, z boku umieszczone było mieszađelko w postaci drutu platynowego wtopionego w bagietkę szklaną i zwiniętego w spiralę. Mieszađło było obracane przy pomocy motoru elektrycznego. Schemat poniższy podaje szczegóły zestawienia przyrządów (rys. 2).

Do uczulenia krwi brano $0,4 \text{ cm}^3$ amboceptora o mianie 1:1000 na 100 cm^3 3% zawiesiny krwi baraniej.

Metodyka pracy była następująca: do naczynka absorpcyjnego wlewano z pipety 1 cm^3 3% zawiesiny krwi baraniej uczulonej w soli fizjologicznej. Naczynko umieszczano w termostacie na drodze światła wpadającego do spektrofotometru i ogrzanego



Rys. 2

do właściwej temperatury. Po pewnym czasie, gdy temperatura zawiesiny zrównywała się z temperaturą termostatu, wlewano z pipety ogrzanej również do tejże temperatury 1 cm^3 komplementu uprzednio ogrzanego do temperatury doświadczenia oraz puszczano w ruch mieszadełko. W chwili znikania ostatniej kropli komplementu naciskano stopper—był to punkt początkowy pomiaru.

Pomiary były przeważnie prowadzone w temp. 27° C .

Światło użyto w spektrofotometrze było czerwone.

Szerokość szczelin w spektrofotometrze = 1 mm.

Chwilę rozpoczęcia hemolizy właściwej sygnalizowało ściemnienie jednego z pól w aparacie nastawionych z początkiem doświadczenia na jednakową jasność: należało nikol przekręcić o pewien kąt aby doprowadzić oba półpola do jednakowej jasności. W miarę postępu hemolizy pole odpowiadające światłu przycho-dzącemu przez układ hemolityczny ciemniało coraz mocniej. Co pewien czas doprowadzano oba półpola do jednakowej jasności. Koniec hemolizy można było bardzo dokładnie uchwycić jako moment od którego natężenia jasności pól pozostawały stale te same.

Uwaga: W pracy niniejszej mówiąc wciąż o „wiązanu” komplementu przez krwinki opieram się na wynikach prac ostatnich, zwłaszcza zaś pracy *Eagle’a*.

Okres inkubacji.

Pierwsze pomiary miały na celu wykrycie związku między okresem inkubacji a okresem właściwej hemolizy. Okazuje się, że właściwa hemoliza nie następuje z chwilą dolania komplementu do zawiesiny uczulonych krwinek. Pierwsze ślady hemoglobiny ukazują się po pewnym czasie, krótszym lub dłuższym w zależności od temperatury, stężenia komplementu i t. p. Pozatem ujawniła się uderzająca prawidłowość istniejąca między czasem inkubacji a czasem właściwej hemolizy, a mianowicie czasy te były sobie równe. Jest to tem ciekawsze, że prawidłowość ta sprawdzała się z dużą dokładnością, jak to widać z tabelki niżej podanej.

U w a g a : We wszystkich tablicach zamieszczonych w tej pracy, liczby podające czasy oznaczają minuty i sekundy.

T A B L I C A I.

Czas podany jest w minutach i sekundach.

Czas inkubacji	1 ⁰⁰	1 ¹⁵	1 ⁴⁵	2 ⁰⁰	2 ¹⁵	2 ³⁰	3 ⁰⁰	3 ³⁰	4 ⁰⁰	4 ³⁰	5 ⁰⁰	6 ⁰⁰	7 ⁰⁰	8 ⁰⁰
Czas całkowitej hemolizy I	2 ⁰⁰	2 ¹⁵	3 ⁰⁰	4 ³⁰	5 ⁰⁰	5 ⁰⁰	6 ⁰⁰	7 ⁰⁰	7 ³⁰	8 ⁰⁰	10 ⁰⁰	13 ⁰⁰	20 ⁰⁰	25 ⁰⁰
II			3 ¹⁵			4 ¹⁵	6 ³⁰	6 ⁰⁰	8 ⁰⁰	9 ⁰⁰	10 ³⁰	15 ⁰⁰	26 ⁰⁰	
III			3 ³⁰						8 ³⁰	9 ³⁰	11 ⁰⁰			
IV										13 ⁰⁰	15 ⁰⁰			

W dłuższych pomiarach spotykamy często odchylenia polegające na wydłużaniu się okresu właściwej hemolizy, co by należało może tłumaczyć zjawianiem się z postępowaniem czasu dodatkowych czynników hamujących. Czasem spotykamy się z odchyleniami również w pomiarach o krótkich okresach inkubacyjnych. Jako przykład można przytoczyć pomiary następujące: okresy inkubacyjne są równe 4³⁰ względnie 5⁰⁰ minutom a okresy całkowitej hemolizy równe są 13⁰⁰ względnie 15³⁰ min. (patrz tablica I).

Te wyjątki wskazują, że hemoliza nie zawsze zachodzi prawidłowo i że jest czasem hamowana nawet w krótkim pomiarze.

Jest to bardzo ważne w rozmaitych odczynach serologicznych, w pierwszym rzędzie w odczynie Wassermanna, gdzie staramy się wszelkie czynniki hamujące hemolizę, jako źródło błędów jaknajdokładniej usunąć. To też słusznem wydaje się na podstawie powyższych wyników odczyn Wassermanna uzupełnić jeszcze próbą wstępną, polegającą na stwierdzeniu, że w krótkim do 10 minut trwającym pomiarze hemolitycznym okres inkubacyjny jest mniej więcej równy połowie całego procesu.

Hemoliza w temperaturze 0° C.

Wiadomo, że hemoliza pod wpływem niskiej temperatury zostaje zwolniona a w temp. 0° C. całkowicie zahamowana. Tłumaczy się to tem, że komplement w niższej temperaturze nie zostaje adsorbowany przez uczuloną krwinkę, a więc inkubacja zostaje uchylona.

Określiwszy uprzednio dokładnie okres inkubacji w temp. 27° C., przeprowadziłem szereg doświadczeń polegających na oziębieniu układu hemolitycznego nastawionego w temp. 27° do 0° C. przed rozpoczęciem właściwej hemolizy: miało to na celu stwierdzenie, w jakim stopniu hemoliza się posunie w nowych warunkach. Oczywiście, jeśli uprzednio komplement zdążył związać się z uczuloną krwinką, to oziębienie nie może już być przeszkodą w procesie hemolizy, o ile tylko słuszne jest nasze założenie, że do zupełnej hemolizy konieczna jest uprzednia reakcja związania komplementu z czerwonym ciałkiem krwi.

Sposób postępowania był następujący: w próbie wstępnej określałem przy pomocy spektrofotometru czas inkubacji w temp. 27° C. i przy danem stężeniu świeżego komplementu. Następne próby przeprowadziłem w 2 temperaturach: 27° i 0° C. W 27° C. otrzymałem układ hemolityczny tylko tak długo, póki trwał okres inkubacji lub krócej i następnie możliwie szybko oziębiałem lodem z solą do 0°, i stwierdzałem w jakim stopniu takie postępowanie wpływało na przebieg hemolizy.

T A B L I C A II.
Czas podany jest w minutach i sekundach.

Rozcieńczenie komplementu	1/10	1/10	1/30	1/40	1/40	1/40	1/40	1/80	1/80	1/40	1/40	1/40	1/40	1/40
Okres inkubacji	3 ⁰⁰	3 ⁰⁰	3 ¹⁵	3 ¹⁵	4 ⁰⁰	4 ⁰⁰	4 ⁰⁰	4 ³⁰	4 ³⁰	5 ⁰⁰	5 ⁰⁰	5 ⁰⁰	5 ⁰⁰	5 ⁰⁰
Czas doświadczenia przy 27° C.	2 ⁴⁵	1 ¹⁵	2 ⁴⁵	1 ³⁰	3 ³⁰	3 ³⁰	0	4 ⁰⁰	2 ⁰⁰	4 ³⁰	2 ⁰⁰	2 ⁰⁰	2 ⁰⁰	0 ⁰⁰
Czas doświadczenia przy 0° C.	5 ⁰⁰	5 ⁰⁰	10 ⁰⁰	10 ⁰⁰	10 ⁰⁰	5 ⁰⁰	10 ⁰⁰	5 ⁰⁰	10 ⁰⁰	10 ⁰⁰	10 ⁰⁰	15 ⁰⁰	30 ⁰⁰	30 ⁰⁰
Stopień hemolizy w %	100	1	100	0	100	38	0	58	0	100	0	24	63	0

Tablice powyższe wskazują wyraźnie na rolę okresu inkubacyjnego. O ile układ hemolityczny ma już za sobą okres inkubacji, wtedy oziębienie nie jest przeszkodą w dalszym procesie. Proces jest jednak zwolniony mniej więcej dwukrotnie w stosunku do tempa reakcji w temp. 27° C. Przetrzymanie układu hemolitycznego w ciągu części okresu inkubacyjnego a następne oziębienie do 0° C. powoduje tylko częściową hemolizę.

Hemoliza w hipertonicznym roztworze soli.

Wobec tego, że hipertoniczny roztwór soli podobnie jak i temp. 0° C. zapobiega hemolizie, wykonałem szereg pomiarów również w hipertonicznym roztworze soli, a to dla potwierdzenia naszego założenia o konieczności uprzedniego związania komplementu jako warunku koniecznego i wystarczającego dla hemolizy.

Doświadczenia prowadzone były w sposób podobny do poprzednich a mianowicie: do 1 cm³ zawiesiny uczulonych krwinek w soli fizjologicznej dodawano 1 cm³ komplementu, a po pewnym czasie, nie przekraczającym okresu inkubacyjnego, dodawano 0,2 cm³ chlorku sodu 10%, w ten sposób zmieniając roztwór fizjologiczny na 1,7%. Roztwór taki normalną hemolizę już hamuje. Oczywiście w moich doświadczeniach hemoliza była tem bardziej hamowana, im krócej uprzednio pozostawał komplement w kontakcie z zawiesiną uczulonych krwinek w roztworze fizjologicznym.

Tablica III podaje szczegóły doświadczenia.

T A B L I C A III.

Temperatura doświadczeń = 27° C. Czas podany jest w minutach i sekundach.

Rozcieńczenie komplementu	$\frac{1}{40}$	$\frac{1}{40}$	$\frac{1}{40}$	$\frac{1}{40}$
Okres inkubacji.	2 ³⁰	2 ³⁰	2 ³⁰	2 ⁰⁰
Czas doświadczeń w roztworze fizjologicznym . .	0 ⁰⁰	2 ³⁰	1 ¹⁵	0,75 ⁰⁰
Czas hemolizy w roztworze soli 1,7%.	—	7 ⁰⁰	24 ⁰⁰	38 ⁰⁰
Stopień hemolizy w %	0	100	82	52

Widzimy raz jeszcze, że ilość komplementu, która się wiąże w ciągu okresu inkubacyjnego z uczuloną krwinką, wystarcza dla spowodowania zupełnej hemolizy.

Zastanawiającem jest, że hemoliza nie idzie równolegle do procesu wiązania komplementu. Pierwsze ślady hemolizy dostrzegamy dopiero po związaniu pewnej ilości komplementu. Ciało krwi musi niejako nasiąknąć wprzód komplementem czy też produktem jego reakcji z amboceptorem, by potem w gwałtownym procesie wyładowania wydalić barwik swój nazewnątrz.

Hemolizę mamy również i w razie krótszego czasu oddziaływania komplementu na uczuloną krwinkę, ale wtedy hemoliza jest tylko częściowa i trwa bez porównania dłużej.

Hemoliza w czystym roztworze soli fizjologicznej.

Skoro jest słuszne nasze przypuszczenie, że w okresie inkubacji krwinka pobiera komplement w ilości wystarczającej do całkowitej hemolizy, to taka krwinka winna również po usunięciu jej ze środowiska z którego komplement pobrała i zawieszeniu w roztworze fizjologicznym czystej soli ulec hemolizie całkowitej.

Wykonałem pomiary w ten sposób, że po dodaniu komplementu krwinki po pewnym czasie oziębiałem do 0°, odwirowywałem możliwie szybko i zawieszałem w roztworze fizjologicznym soli.

T A B L I C A IV.

Temperatura doświadczeń = 27 C. Czas podany jest w minutach i sekundach.

Rozcieńczenie komplementu	$\frac{1}{80}$	$\frac{1}{80}$	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{10}$	$\frac{1}{20}$	$\frac{1}{20}$
Długość okresu inkubacyjnego . . .	5 ⁰⁰	5 ⁰⁰	3 ³⁰	3 ³⁰	2 ³⁰	2 ³⁰
Czas po którym odwirowano krwinki .	4 ³⁰	2 ⁴⁵	2 ⁴⁵	1 ³⁰	2 ⁰⁰	1 ⁴⁰
Czas hemolizy w roztworze czystej soli	15 ⁰⁰	—	8 ⁰⁰	12 ⁰⁰	8 ⁰⁰	24 ⁰⁰
Stopień hemolizy w %	100	0	100	26	100	84

W temperaturze 0°C. , w roztworze hipertonicznym lub w roztworze soli fizjologicznym bez dodatku komplementu, szybkość hemolizy krwinek uczulonych, które mają za sobą okres inkubacji jest zmniejszona mniej więcej 2 — 3 krotnie, choć hemoliza jest całkowita. Jak z tego wynika, nadmiar komplementu czynnego wpływa przyspieszająco na hemolizę. Takie działanie nadmiaru komplementu jest prawdopodobnie wynikiem dalszego wiązania się komplementu z krwinką w toku właściwej hemolizy.

Wpływ surowic syfilitycznych oraz wyższej temperatury na szybkość hemolizy.

Wyraźne zróżniczkowanie procesu hemolizy na dwa równe sobie co do czasu okresy zwłaszcza w pomiarach krótkich nasuwa myśl o głębszym związku między wiązaniem komplementu a procesem uwolnienia hemoglobiny. To też ciekawe było zbadanie czynników, które tę równość zdają się zakłócać. W pierwszym rzędzie ciekawy jest wpływ dodatnich surowic syfilitycznych. Wiadomo, że surowice te w odpowiednich dawkach hamują hemolizę właściwą. Szybkość wiązania komplementu jest ogromnie zmniejszona, hemoliza jest częściowa i przytem również zwolniona, ale w o wiele większym stopniu aniżeli wiązanie komplementu w okresie inkubacji.

T A B L I C A V.
Temperatura doświadczeń 27°C. Rozcieńczenie komplementu = $\frac{1}{10}$.
Czas podany jest w minutach i sekundach.

	I	II	III
Surowica dodatnia w cm^3	0,5	—	—
Surowica ujemna w cm^3	—	0,5	—
NaCl w cm^3 0,85% . . .	—	—	0,5
Czas inkubacji.	20	5	5
Czas całkowitej hemolizy	110	10	10
Stopień hemolizy w % .	70	100	100

Podobne stosunki istnieją również w temp. 47° C., w pomiarach nieco dłuższych.

T A B L I C A VI.

Czas podany jest w minutach i sekundach.

Temperatura	37° C.	47° C.
Rozcieńczenie komplementu	$\frac{1}{40}$	$\frac{1}{40}$
Czas okresu inkubacyjnego	2 ³⁰	2 ⁰⁰
Czas całkowitej hemolizy	5 ³⁰	10 ⁰⁰

Jak widać, możemy przeprowadzić pewną analogię w działaniu surowicy syfilitycznej a wyższej temperatury.

Zbadałem wpływ stężenia komplementu, stężenia krwinek, objętości, temperatury, mieszania na szybkość hemolizy. Pomiarы te potwierdzają nasze spostrzeżenie o równości okresów inkubacji i właściwej hemolizy w najrozmaitszych warunkach. Spektrofotometr umożliwiał dokładne ilościowe zbadanie tych czynników i pozwalał na eliminowanie wszystkich pomiarów, w których dały się stwierdzić jakieś hamujące wpływy.

Wpływ stężenia komplementu.

Wyniki doświadczenia podaje tablica VII.

Równość czasów okresu inkubacyjnego i hemolizy właściwej jest stale utrzymana jakkolwiek czasy te się zmieniają a to zależy od stężenia użytego do doświadczenia komplementu.

Wpływ temperatury.

W temperaturze 0° C. hemoliza nie zachodzi. Wyższa temperatura przyspiesza wydatnie szybkość hemolizy, jak to wskazuje tablica poniższa.

T A B L I C A VII.

Temperatura 27° C. Czas podany jest w minutach i sekundach.

Rozcieńczenie komplementu		1	1/2,5	1/5	1/10	1/20	1/40	1/80
I	Czas całkowitej hemolizy.	—	4 ⁰⁰	3 ⁰⁰	4 ⁰⁰	5 ⁰⁰	8 ³⁰	—
	Czas inkubacji.	—	2 ⁰⁰	1 ⁴⁵	1 ⁴⁵	2 ³⁰	4 ⁰⁰	—
II	Czas całkowitej hemolizy.	—	—	3 ¹⁵	3 ³⁰	5 ⁰⁰	8 ³⁰	—
	Czas inkubacji.	—	—	1 ³⁰	1 ³⁰	2 ³⁰	4 ¹⁵	—
III	Czas całkowitej hemolizy.	5 ³⁰	2 ³⁰	2 ³⁰	2 ³⁰	3 ¹⁵	6 ³⁰	13 ⁰⁰
	Czas inkubacji.	2 ³⁰	1 ¹⁵	1 ¹⁵	1 ¹⁵	1 ³⁰	2 ³⁰	6 ⁰⁰
IV	Czas całkowitej hemolizy.	17 ⁰⁰	7 ⁰⁰	7 ⁰⁰	7 ³⁰	10 ³⁰	23 ⁰⁰	51 ⁰⁰
	Czas inkubacji.	6 ⁰⁰	3 ⁰⁰	3 ³⁰	3 ³⁰	5 ⁰⁰	9 ⁰⁰	15 ⁰⁰

T A B L I C A VIII.

Czas podany jest w minutach i sekundach.

Temperatura		17° C	27° C	37° C	
I	Czas całkowitej hemolizy .	7 ³⁰	3 ⁰⁰	1 ⁴⁵	
	Czas inkubacji	3 ³⁰	1 ³⁰	0,75 ⁰⁰	Rozcieńczenie komplementu 1/10
II	Czas całkowitej hemolizy .	11 ³⁰	4 ¹⁵	3 ¹⁵	Rozcieńczenie komplementu 1/20
	Czas inkubacji	5 ³⁰	2 ³⁰	1 ⁴⁵	
III	Czas całkowitej hemolizy .	—	11 ⁰⁰	5 ³⁰	Rozcieńczenie komplementu 1/40
	Czas inkubacji	—	5 ³⁰	2 ³⁰	
IV	Czas całkowitej hemolizy .	26 ⁰⁰	8 ³⁰	4 ¹⁵	Rozcieńczenie komplementu 1/40
	Czas inkubacji	12 ⁰⁰	4 ⁰⁰	2 ⁰⁰	

Wpływ stężenia krwinek.

Użyte zostały zawiesiny 3, 1 i 0,5‰.

T A B L I C A IX.

Temperatura 27° C. Czas podany jest w minutach i sekundach.

Stężenie krwi		3‰	1‰	1/2‰	
I	Czas całkowitej hemolizy .	13 ⁰⁰	9 ⁰⁰	9 ⁰⁰	
	Czas inkubacji	5 ⁰⁰	4 ⁰⁰	4 ⁰⁰	Rozcieńczenie komplementu 1/60
II	Czas całkowitej hemolizy .	5 ³⁰	3 ⁴⁵	3 ⁴⁵	Rozcieńczenie komplementu 1/10
	Czas inkubacji	2 ³⁰	1 ⁴⁵	2 ⁰⁰	
III	Czas całkowitej hemolizy .	10 ⁰⁰	6 ³⁰	6 ³⁰	Rozcieńczenie komplementu 1/60
	Czas inkubacji	4 ³⁰	3 ³⁰	3 ⁰⁰	

Szybkość hemolizy zmniejsza się w granicach 1 — 3‰, a w granicach 1 — 0,5‰ pozostaje bez zmiany. Większych stężeń krwinek nie można było użyć z powodu zbyt ciemnego pola w spektrofotometrze.

Wpływ objętości.

T A B E L A X.

Temperatura 27° C. Czas podany jest w minutach i sekundach.

Objętość w cm ³		2	6	10	14	
I	Czas całkowitej hemolizy .	6 ⁰⁰	10 ⁰⁰	20 ⁰⁰	—	
	Czas inkubacji	3 ⁰⁰	5 ⁰⁰	7 ⁰⁰	—	Rozcieńczenie komplementu 1/40
II	Czas całkowitej hemolizy .	6 ⁰⁰	11 ⁰⁰	20 ⁰⁰	—	Rozcieńczenie komplementu 1/60
	Czas inkubacji	3 ⁰⁰	5 ⁰⁰	9 ⁰⁰	—	
III	Czas całkowitej hemolizy .	2 ¹⁵	3 ⁰⁰	5 ¹⁵	8 ⁰⁰	Rozcieńczenie komplementu 1/10
	Czas inkubacji	1 ¹⁵	2 ⁰⁰	3 ⁰⁰	4 ⁰⁰	

Ta sama ilość komplementu w większej objętości reaguje z tą samą ilością krwinek wolniej, gdyż tem wolniej adsorbuje komplement im bardziej jest on rozcieńczony, również reakcja z amboceptorem idzie wolniej.

Wpływ mieszania.

Zbadałem wpływ mieszania na szybkość hemolizy. W naczynku absorpcyjnym zawierającym układ hemolityczny było umieszczone mieszadło w postaci drutu platynowego zwiniętego w spiralę i wtopionego w pręt szklany. Mieszadło było obracane motorkiem elektrycznym.

T A B L I C A X I.

Temperatura 27° C. Rozcieńczenie komplementu $\frac{1}{40}$.
Czas podany jest w minutach i sekundach.

Liczba obrotów na minutę .	0	750	1200
Czas hemolizy.	10 ⁰⁰	10 ⁰⁰	10 ⁰⁰

Mieszanie żadnego wpływu na hemolizę nie wywiera, podobnie jak to się dzieje w procesie chemicznym.

Rozważania ogólne.

Metoda spektrofotometryczna badania szybkości hemolizy okazała się bardzo wygodną i dała w rezultacie interesujące wyniki. Dzięki zbadaniu krótkotrwałych procesów hemolitycznych pewne charakterystyczne cechy hemolitycznego procesu ujawniły się w całej pełni. Rozpatrzmy znaczenie okresu inkubacji w świetle naszych badań.

Określiliśmy okres inkubacji jako czas upływający od chwili dolania komplementu do zawiesiny krwinek uczulonych do chwili ukazania się pierwszych śladów hemoglobiny. Stwierdziliśmy następnie, że w tym czasie krwinka wiąże conajmniej taką ilość komplementu, która wystarczy do całego procesu hemolizy, gdyż

po tym czasie krwinka hemolizuje całkowicie nawet w warunkach niesprzyjających, jak np. w roztworze hipertonicznym. Hemoliza jest jedynie zwolniona w porównaniu z hemolizą w roztworze fizjologicznym. Do przyspieszenia hemolizy w środowisku soli fizjologicznej przyczynia się nadmiar czynnego komplementu, który w dalszym ciągu wiąże się z krwinką uczuloną.

Wobec tego, że efektem końcowym okresu inkubacyjnego (jak to zresztą wynika z definicji tego okresu) jest początek hemolizy¹⁾, należy uważać, że ilość komplementu, która się wiąże w tym okresie jest zawsze ta sama, niezależna od długości tego okresu a tem samem i od stężenia komplementu. Jak doświadczenie wskazuje, okres hemolizy właściwej trwa tak długo jak okres inkubacji. Wobec tego nadmiar komplementu wiążący się w tym okresie z krwinką również nie zależy od stężenia komplementu i osiąga dla krwinek o tem samem stopniu uczulenia zawsze tę samą wartość, oczywiście inną aniżeli w okresie inkubacji. A więc całkowita ilość komplementu wiążąca się w ciągu całego procesu hemolitycznego okazuje się wielkością stałą, zależną jednak, jak to literatura podaje, od stopnia uczulenia krwinek. Nasze rozumowanie prowadzi nas do wniosku, że z reguły wiąże się z krwinką uczuloną przy hemolizie komplementu więcej aniżeli potrzeba do wywołania całkowitej hemolizy, oraz że względne zwiększenie szybkości hemolizy właściwej wywołane wiązaniem się nadmiaru komplementu z krwinką w tym okresie, mierzone w stosunku do szybkości w roztworze hipertonicznym, jest stale jednako-
k o w e.

Ilość komplementu zaabsorbowanego przez krwinkę stanowi o szybkości hemolizy. Ale, jak wspominaliśmy, w okresie inkubacji wiąże się zawsze ta sama ilość komplementu. To też hemoliza, która potem następuje, winnaby zachodzić zawsze w tem samem tempie, oczywiście, o ile dalsze wiązanie komplementu zostaje uchylone, np. przez oziębienie układu hemolitycznego do 0° C. Doświadczenie uczy nas czego innego (patrz tablice).

¹⁾ Oraz, że w tym okresie wiąże się zawsze komplement w ilości wystarczającej do całkowitej hemolizy.

Szybkość hemolizy właściwej okazuje się zależną od długości okresu inkubacji a więc od szybkości wiązania się komplementu. Można stwierdzić tu pewną analogję z prawem fizycznym działania i przeciwdziałania. Zachowanie się ciała krwi to wyraz pewnej bezwładności, wynikającej z dążenia do zachowania określonej struktury komórkowej. Im gwałtowniej tę strukturę poruszyć (przez szybsze zaadsorbowanie komplementu), tem szybciej reaguje. Jednak odpowiedź komórki na natarcie komplementu jest jakby osłabiona przez jakoweś wewnętrzne hamowanie. (Szybkość hemolizy jest mniejsza, aniżeli szybkość wiązania z komplementem). Dopiero nadmiar komplementu wiążący się w toku hemolizy właściwej wyrównywa te szybkości.

Fakt wiązania w okresie inkubacji ilości komplementu wystarczającej do całkowitej hemolizy, a co za tem idzie pewnego nadmiaru komplementu jako rezultat całego procesu, potwierdza nasze przypuszczenie, że uczulona krwinka stawia pewien opór działaniu destrukcyjnemu komplementu. Opór krwinki zostaje pokonany dopiero w obecności większej ilości komplementu, a mianowicie, conajmniej takiej, która wystarczy do całkowitej hemolizy.

Jest godne zanotowania, że jakkolwiek mniejsze ilości zaadsorbowanego komplementu po pewnym czasie również wywołują hemolizę (coprawda częściową), to fakt ten nie przeszkadza, by w okresie inkubacji a więc w okresie, w którym się hemoliza jeszcze nie rozpoczęła, związała się z krwinką wystarczająca dla całkowitej hemolizy ilość komplementu. Szybkość hemolizy częściowej spowodowana mniejszymi ilościami komplementu jest tego rzędu, że okres inkubacji może mieć miejsce, wnosimy stąd, że szybkość hemolizy zależy nie tylko od ilości zaadsorbowanego komplementu ale również od odporności krwinek uczulonych, której miarą jest okres inkubacji.

Należy przypuszczać, że krew organizmu chorego stawia mniejszy opór działaniu komplementu i że w wypadku ciężkiego schorzenia opór ten gwałtownie maleje. Hemoliza takiej krwi zachodzi więc łatwiej i prędzej. W granicznym przypadku czas całkowitej hemolizy pokrywałby się z czasem wiązania minimum komplementu, potrzebnego do całkowitej hemolizy. Dopiero doświadczenie wskaże w każdym poszczególnym przypadku, czy różnice

w czasie są dość znaczne, by mogły służyć jako wskaźnik osłabienia odporności krwi.

Wydaje się jednak prawdopodobniejsze, że obserwacja długości okresu inkubacji bardziej temu celowi odpowiada.

Długość okresu inkubacji winna się skrócić. Wobec mniejszej odporności krwinki prawdopodobnie zaczną hemolizować wcześniej, aniżeli krew normalna, to znaczy już mniejsze ilości komplementu, aniżeli potrzebne do całkowitej hemolizy wywołają początek hemolizy. W tym wypadku okres inkubacji straci swój typowy charakter. Krwinki zawieszone w końcu tego okresu w roztworze hipertonicznym soli ulegną w dalszym ciągu jedynie częściowej hemolizie, dla tej prostej przyczyny, że jeszcze nie zaadsorbowały komplementu w ilości wystarczającej dla całkowitej hemolizy. Stopień tej hemolizy i stopień zmniejszenia szybkości w porównaniu z szybkością w roztworze fizjologicznym stanowiłyby kryteria odporności krwi. Większej odporności krwi odpowiadałby większy stopień hemolizy oraz większa szybkość tego procesu. Ilość komplementu zaadsorbowanego w okresie inkubacji można by znaleźć przez zmiareczkowanie układu hemolitycznego, po odwirowaniu krwinek, przy końcu okresu inkubacji. Rozumowanie powyższe byłoby bez zarzutu jedynie w tym wypadku, gdyby minimum komplementu potrzebne do całkowitego zhemolizowania krwinek było niezależne od odporności krwinek. W wypadku przeciwnym stosunki możeby inaczej się ułożyły. Rozstrzygnięcie tego zagadnienia zostawiamy przyszłym badaniom.

Zestawienie.

Hemoliza krwi uczulonej, zachodząca przy działaniu komplementu ujawnia szczególny mechanizm wskazujący na istnienie wewnątrz ciała krwi specyficznego stanu równowagi fizycznej między poszczególnymi jej składnikami. Działanie komplementu polega na naruszeniu tej równowagi. Im gwałtowniej komplement tę równowagę narusza, (przez szybsze związanie się z ciałkiem krwi), tem szybciej następuje reakcja komórki w postaci wydzielania się hemoglobiny. Prawa rządzące mechanizmem działania hemolizującego komplementu na uczuloną krwinkę przypominają

prawo fizyczne działania i oddziaływania. Dążność komórki do zachowania struktury pierwotnej znajduje wyraz w oporze jaką okazuje podczas hemolizy. Opór ten jest analogiczny z bezwładnością jaką ciała fizyczne okazują, gdy usiłujemy zmienić ich początkowe położenie.

Dokładniejsza analiza procesu hemolitycznego przy pomocy spektrofotometru ujawnia w tym procesie dwa wyraźne etapy.

Pierwszy — nazwaliśmy go „okresem inkubacyjnym” — to czas upływający od chwili dolania komplementu do zawiesiny krwinek uczulonych do chwili ukazania się pierwszych śladów hemoglobiny. Drugi etap — „właściwą hemolizę” — liczymy od chwili ukazania się hemoglobiny do końca procesu. Okres inkubacji to stadium wstępne, przygotowawcze, poprzedzające zawsze hemolizę właściwą. W ciągu tego okresu krwinki wiążą ilość komplementu, która wystarczy nie tylko do wywołania hemolizy ale nawet do całkowitego jej przeprowadzenia. Toteż krwinki, które odbyły ten okres, hemolizują całkowicie również w temp. 0° C. lub w roztworze hipertonicznym, a nawet — odwirowane — w roztworze soli fizjologicznej bez dodatku komplementu. Jedynie szybkość hemolizy jest mniejsza w tych warunkach, mniej więcej 2—3 razy.

A więc nadmiar czynnego komplementu przyspiesza bieg hemolizy, a to wskutek dalszego wiązania komplementu w toku hemolizy właściwej. Związanie komplementu z krwinkami w ilości mniejszej aniżeli w okresie inkubacyjnym powoduje częściową hemolizę w bardzo zwolnionem tempie.

Ilość komplementu wiążąca się z daną krwinką w okresie inkubacji jest zawsze ta sama, niezależna od długości okresu inkubacyjnego (oczywiście przy tem samem uczuleniu). Ilość komplementu wiążąca się z ciałkiem krwi w okresie hemolizy właściwej jest również stałą, a tem samem stałą całkowita ilość komplementu która się w procesie hemolizy wiąże, przy czem jest ona z reguły w nadmiarze. Względne zwiększenie szybkości hemolizy właściwej wywołane wiązaniem się nadmiaru komplementu z krwinką w tym okresie, mierzone w stosunku do szybkości w roztworze hipertonicznym, jest stale jednakowe.

Czasy trwania okresu inkubacyjnego i hemolizy właściwej (przyspieszanej przez nadmiar komplementu czynnego) okazały się

równe sobie i pozostawały nadal równe sobie mimo zmiany warunków doświadczenia, a tem samem zmiany w długości tych okresów. Stąd wnioskujemy, że mechanizmy tych okresów są rządzone przez te same prawa. Zwłaszcza stwierdziło się to w pomiarach trwających do 10 — 12 minut. W dłuższych pomiarach mamy odstępstwa od tej reguły, tłumaczące się zjawieniem jakichś ubocznych, bliżej nieokreślonych czynników hamujących. Podobne odstępstwa mamy również w układach hemolitycznych z dodatkiem odpowiednich dawek surowicy syfilitycznej oraz w temp. 47° C. Widzimy tu analogję w działaniu wyższej temperatury i surowicy syfilitycznej. Czasem odstępstwa zdarzają się i w krótszych pomiarach. Przyczyny tego rodzaju odchyłeń nie są wyjaśnione, wskazują w każdym razie na obecność hamujących czynników. Może to się okazać bardzo cenne w odczynach serologicznych, zwłaszcza w odczynie Wassermanna, przy którym staramy się wszelkie czynniki hamujące jaknajdokładniej usunąć. Pomiar szybkości procesu hemolitycznego z uwzględnieniem okresu inkubacyjnego może się stać cennym środkiem stwierdzającym nieobecność hamujących wpływów, a tem samem sprawdzianem przydatności danego układu do odczynu Wassermanna.

Szybkość hemolizy właściwej zależy między innemi od 1) ilości zaadsorbowanego komplementu, 2) odporności krwinek, 3) szybkości z jaką komplement wiąże się z krwinką. Wpływ objętości, stężenia komplementu, temperatury i t. p. w procesie zupełnej hemolizy na szybkość hemolizy właściwej jest znaczny z tego powodu, że szybkość wiązania tych samych ilości komplementu w okresie inkubacji jest od tych czynników ściśle uzależniona.

Mieszanie tak jak w procesie chemicznym na szybkość hemolizy nie ma żadnego wpływu.

W pracy niniejszej zostało podkreślone znaczenie oporu, jaki stawia krwinka uczulona hemolizie. Objawem tego oporu jest okres inkubacji który kończy się dopiero gdy komplement został związany w ilości wystarczającej do całkowitej hemolizy. Wynikiem tego oporu jest to, że krwinka wiąże pewien nadmiar komplementu, zanim ulegnie całkowitej hemolizie. Miarą tego oporu jest ilość komplementu, która się w okresie inkubacji z krwinką związała.

W związku z sprecyzowaniem pojęcia oporu krwinki uczulonej została wysunięta i omówiona myśl badania odporności krwi chorych dla celów dajagnostycznych. Podana metoda opiera się na określeniu stopnia hemolizy jaką osiąga krwinka, po zakończeniu okresu inkubacji, przeniesiona do środowiska hipertonicznego, przyczem okazało się celowem zbadanie minimum komplementu potrzebnego do zhemolizowania krwinek rozmaitej odporności.

Niech mi wolno będzie na tem miejscu złożyć wyrazy serdecznego podziękowania p. prof. dr. *K. Jabłczyńskiemu*, kierownikowi Zakładu Chemji Nieorganicznej Uniwersytetu Warszawskiego za umożliwienie mi wykonania pracy niniejszej na aparaturze Zakładu.

STUDIEN AUS DEM GEBIET DU HÄMOLYSE.

V o n

Dr. J. GUTMAN.

ZUSAMMENFASSUNG.

Die Hämolysé des sensibilisierten Blutes unter dem Einflusse des Komplementes beruht auf einem spezifischen physikalischen Gleichgewicht im Innern der Blutkörperchen. Die Wirkung des Komplementes stört dieses Gleichgewicht.

Je heftiger das Gleichgewicht zerstört wird (durch schnellere Bindung des Komplementes mit den Blutkörperchen), desto schneller erfolgt die Reaktion der Zelle, die sich im Heraustreten des Hämoglobins äussert.

Die Gesetze, die den Mechanismus der hämolytischen Wirkung des Komplementes auf die sensibilisierten Blutkörperchen regieren, erinnern an das physikalische Gesetz der Wirkung und Gegenwirkung. Die Tendenz der Zelle zur Beibehaltung der ursprünglichen Struktur findet Ihren Ausdruck in dem Widerstand, den die Zelle bei der Hämolysé erzeugt. Der Widerstand ist identisch mit

der Trägheit die physische Körper bei der Probe der Änderung ihrer ursprünglichen Lage aufweisen. Bei einer näheren Analyse des hämolytischen Prozesses mittels des Spektrophotometers lassen sich zwei deutliche Perioden unterscheiden. Die I—wir haben sie die Inkubationsperiode genannt—ist der Zeitraum vom Zusatz des Komplementes bis zum Anfang des Austretens des Hämoglobins. Die II — die eigentliche Hämolyse — vom Moment des Anfangs der Hämolyse bis zum Schluss des Prozesses. Die Inkubationsperiode—ist die Vorstufe; die der eigentlichen Hämolyse vorausgeht. Während dieser Periode binden die Blutkörperchen das Komplement in solcher Menge, die nicht nur den Anfang der Hämolyse hervorruft, sondern auch zu ihrer vollkommenen Durchführung genügt. Darum hämolysieren die Blutkörperchen nach Beendigung dieser Periode vollständig auch bei 0° C. oder in einer hypertонischen Salzlösung ebenso wie abzentrifugiert und in einer reinen Salzlösung, ohne Komplement suspendiert. Nur die Geschwindigkeit der Hämolyse ist unter diesen Umständen ungefähr 2—3 mal geringer.

Wie wir sehen, beschleunigt der Überschuss des aktiven Komplementes den Verlauf der Hämolyse, dies erfolgt bei weiterer Bindung des Komplementes während der eigentlichen Hämolyse. Die Bindung kleinerer Mengen von Komplement ruft eine teilweise Hämolyse in einem sehr verlangsamten Tempo hervor.

Die Menge des Komplementes, die sich in der Inkubationszeit mit dem Blut bindet, bleibt immer dieselbe, unabhängig von der Dauer der Inkubationszeit (natürlich bei demselben Grad der Sensibilisierung).

Die Menge des Komplementes, die sich mit den Blutkörperchen bei der eigentlichen Hämolyse verbindet, ist auch konstant, und somit ist auch die totale Menge des gebundenen Komplementes konstant, dabei ist sie in der Regel im Überschuss. Die relative Beschleunigung der Geschwindigkeit der eigentlichen Hämolyse, beim Überschusse des Komplementes ist im Verhältnis zur Geschwindigkeit der Hämolyse in hypertонischer Lösung immer gleich.

Die Dauer der Inkubationsperiode und der Periode der eigentlichen Hämolyse (durch den Überschuss des aktiven Kom-

plementes beschleunigt) erwiesen sich gleich, und blieben weiter gleich, trotz der Änderung der Experimentbedingungen und somit auch der Änderung der Zeitdauer dieser Perioden. Daraus schließen wir, dass die Mechanismen dieser Perioden denselben Gesetzen unterliegen. Besonders kam es in den 10 — 12 Minuten dauernden Prozessen zum Vorschein. Bei länger dauernden Prozessen haben wir Abweichungen von dieser Regel gefunden, die sich durch das Auftreten einiger näher noch unbekannten hemmenden Faktoren erklären liessen. Ähnliche Abweichungen finden wir in hämolytischen Systemen bei Zusatz von gewissen Dosen von Syphilisseren, und auch bei 47° C. Wir sehen hier eine Analogie in der Wirkung höherer Temperatur und syphilitischer Sera. Man findet manchmal Abweichungen auch bei kurz dauernden Prozessen. Die Ursache dieser Abweichungen ist nicht aufgeklärt, sie weisen jedenfalls auf die Anwesenheit hemmender Agentien hin. Dies kann sich sehr nützlich für serologische Reaktionen erweisen, besonders für die Wassermannsche Reaktion, wo wir alle hemmenden Agentien wie am genauesten auszuschalten versuchen.

Die Messung der Geschwindigkeit des hämolytischen Prozesses bei Berücksichtigung der Inkubationsdauer kann sich als wichtiges Mittel zur Feststellung der Abwesenheit hemmender Agentien erweisen, und somit kann diese Messung auch für die Verwendbarkeit des hämolytischen Systems für die Wassermannsche Reaktion ausgenutzt werden. Die Geschwindigkeit der eigentlichen Hämolyse ist unter anderen auch von folgenden Umständen abhängig: 1) der Menge des adsorbierten Komplementes, 2) dem Widerstande des Blutes, 3) der Geschwindigkeit mit welcher sich das Komplement mit dem Blute verbindet. Der Einfluss der Menge und der Konzentration des Komplementes, der Temperatur u. s. w. ist im Prozesse der vollständigen Hämolyse auf die Geschwindigkeit der eigentlichen Hämolyse deshalb so bedeutend, weil die Geschwindigkeit der Bindung derselben Mengen des Komplementes in der Inkubationsperiode genau von diesen Agentien abhängt.

Das Mischen hat auf die Geschwindigkeit der Hämolyse ebenso wie auf die chemischen Prozesse keinen Einfluss. In dieser Arbeit wurde die Bedeutung des Widerstandes, den das sensibi-

lisierte Blut der Hämolyse stellt, unterstrichen. Als Folge dieser Widerstandskraft kann die Inkubationsperiode gelten, die nur dann endet, wenn das Komplement in einer zur vollkommenem Hämolyse genügenden Menge gebunden wird.

Als Ausdruck dieses Widerstandes ist die Inkubationszeit, die erst dann abschließt wenn das Blut den Überschuss des Komplementes bindet, was erst die Hämolyse bewirkt.

Als Folge dieses Widerstandes kann die Tatsache aufgefasst werden dass die Blutkörperchen in der Inkubationsperiode das Komplement in Überschuss aufnehmen müssen bevor es zur Hämolyse kommt. Als Mass dieses Widerstandes kann die Menge des Komplementes die während der Inkubationszeit gebunden wird, aufgefasst werden. Im Zusammenhang mit der Präzisierung des Begriffes des Widerstandes der sensibilisierten Blutkörperchen tauchte der Gedanke auf den Widerstand der Blutkörperchen bei verschiedenen Krankheiten zu diagnostischen Zwecken zu untersuchen. Die angegebene Methode besteht in der Bestimmung des Grades der Hämolyse, die das Blut nach der Beendigung der Inkubationsperiode in hypertonischer Salzlösung, erreicht hat. Dabei erwies sich die Bestimmung der minimalen Dosen des Komplementes, die zur Hämolyse des Blutes von verschiedener Widerstandskraft nötig ist als zweckmässig.

P I Ś M I E N N I C T W O.

1) Bordet, Ann. de l'Inst. Pasteur 12,688. 1898 i 14,257, 1900. 2) Ehrlich i Morgenroth, Berliner Klin. Wochenschrift, 1899, Nr. 1. 3) Morgenroth, Wiener Klin. Wochenschrift, 1903, Nr. 43. 4) Morgenroth i Sachs, Berlin. Klin. Wochenschrift, 1902, Nr. 35. 5) Neisser i Wechsberg, Münch. med. Wochenschrift, 1901. 6) Arrhenius, Immunochemie, str. 151, Leipzig, 1907. 7) Liefmann i Cohn, Z. für Immunitätsfrschg, 1911, VIII, 58. 8) Dick, J. Infect. Dis., 1913, XII, 111. 9) Olsen i Goette, Biochem. Zeitschr., 1920, CXII, 188. 10) Hill i Parker G., J. Path. and Bact., 1925, XXVIII, 1. 11) Eagle, J. of general Physiology, 1929, 12, str. 825. 12) K a u p, Zur Kritik der Methodik der Wassermannschen Reaktion, str. 120. 1917. Verlag von R. Oldenburg. München und Berlin. 13) Liebermann i Fenyvessy, Z. für Immunitätsfrschg, 12, 417, 1912.

E R R A T A.

Tom XVIII. Zeszyt 1-2. Artykuł Dr. Juljusza Juera.

<i>Strona</i>	<i>Wiersz</i>	<i>Jest</i>	<i>Powinno być</i>
89	Tablica V	„A. obl. j. NaCl”	„Cl obl. j. NaCl”
89	14 od dołu	„królika II,”	„królika II z 4 V,”
89	7 od dołu	„obl. z NaCl”	„obl. j. NaCl”
89	7 od dołu	„14.6 — 15.8 mgr $\%$ potasu”	„14.6—15.8 mgr $\%$ wap- nia 14.4 — 17.0 mgr $\%$ potasu”
90	9 od góry	„przyczynia”	„przyczyni”

Treść zeszytu 3-4. Sommaire.

<i>Jerzy Kaulbersz</i> <i>Emil Wischnowitzer</i> . Oporność krwinek w sztucznie obniżonym ciśnieniu. — La résistance des erythrocytes dans l'air artificiellement rarefié	167
<i>Franciszek Goebel</i> . Wpływ wyciągów mięśniowych na poziom cukru we krwi. — Influence des extraits musculaires sur la teneur en sucre dans le sang.	17 ^a
<i>H. Meisel</i> i <i>E. Miķulaszek</i> . O zmienności pałeczek odmieńca swoistego. — Sur la variabilité de proteus spécifique.	189
<i>M. Landesman</i> . Studja nad intensywnością i charakterem ruchu <i>B. prodigiosum</i> w zależności od stężenia i zmian regulacyjnych jonów H podłoża. Étude sur l'intensité et le caractère de la mobilité du bacterium prodigiosum sous l'influence de la concentration et du changement régulateur des ions dans le milieu	206
<i>A. Ławrynowicz</i> i <i>M. Stankowska</i> . Ścięte białko jaja kurzego, jako podłoże do badania zdolności barwikotwórczej drobnoustrojów. — L'application de l'albumen d'oeuf coagulé pour l'examen du pouvoir chromogène des microbes	229
<i>R. Lurje</i> . Działanie wyciągu witaminowego (B) na niektóre własności drobnoustrojów. — L'action de l'extrait vitaminique (B) sur certaines propriétés des microbes	232
<i>Marja Landau</i> . Wpływ glikokolu na amylolityczny proces zcukrzania skrobi. L'influence du glycolle sur le processus amylolytique de saccharification de l'amidon	238
<i>Adam Finkel</i> . Obraz cytologiczny krwi u ludzi karmiących wszy. — L'image cytologique du sang chez les sujets nourrissant les poux.	257
<i>J. Gutman</i> . Studja z dziedziny hemolizy. — Etude sur l'hémolyse	275

Redaktorzy i wydawcy: **L. Hirszfeld, M. Kacprzak i Z. Szymanowski.**

PAŃSTWOWY ZAKŁAD HIGJENY

DZIAŁ SUROWIC I SZCZEPIONEK

WARSZAWA, ul. Chocimska 24.

Adres telegr.: „Centrepid - Warszawa“. Konto P. K. O. 30.062

WYRABIA I SPRZEDAJE:

1. WSZELKIE SUROWICE I SZCZEPIONKI

do celów leczniczych i zapobiegawczych u ludzi.

2. PREPARATY DIAGNOSTYCZNE, jak:

surowice aglutynujące,
„ precypitujące,
„ hemolityczne,
antygeny do odczynów na kiłę,
zawiesiny bakteryjne,
izoaglutyniny,
tuberkulinę (A. T.),
toksyny do odczynów skórnych (Schick, Dick),
pożywki bakteryjne.

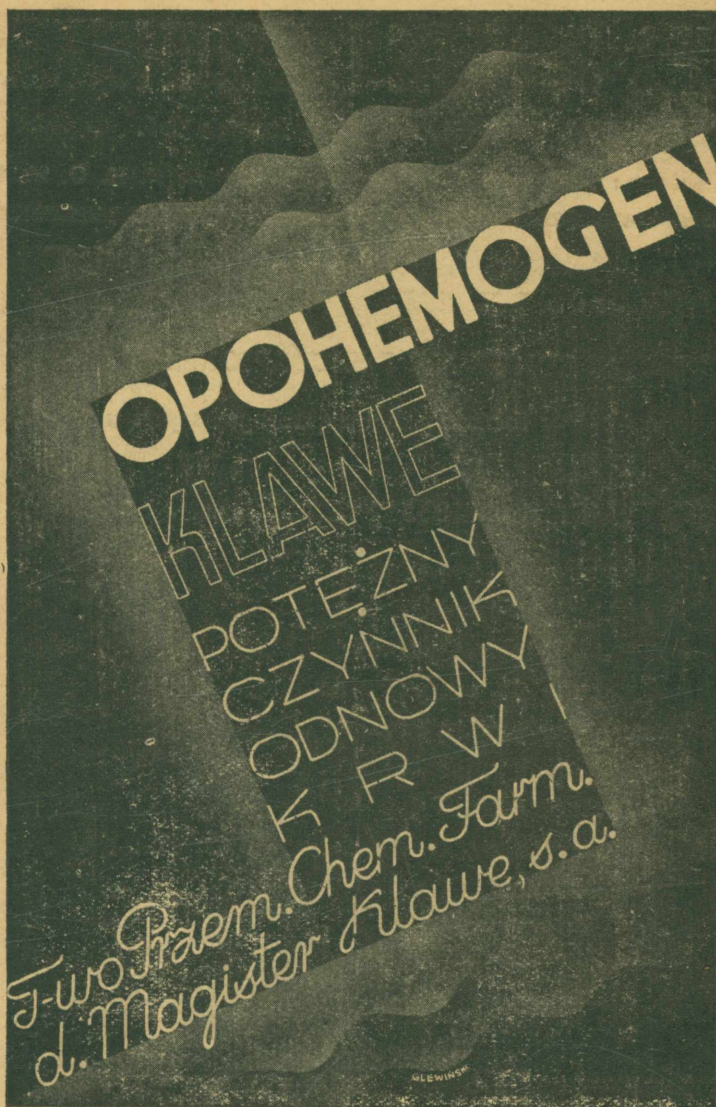
3. ORGANOPREPARATY, a mianowicie:

Insulinę „PZH”,
Pituitrol „PZH” (wyciąg z tylnego płata przysadki
mózgowej).

Cenniki i wszelkie informacje wysyła się na żądanie.

A.048

BIBLIOTEKA



Druk. Koop. Prac. Druk. Zielna 47. Tel. 619-57