

BIOLOGJA LEKARSKA

Wydawana pod kierunkiem Dr. S. OTOLSKIEGO

Rok XIII. — Nr. 7

Grudzień 1934

ZNACZENIE DYNAMIKI KRWI I HEMOLIZY DLA TRANSFUZJI

podał

Doc. Dr. M. GEDROYĆ.

(Ciąg dalszy).

Przy transfuzji należy wziąć pod uwagę i ten fakt, że krew *in vitro* (elementy morfotyczne przede wszystkim) po kilku lub kilkunastu minutach traci częściowo, lub w całości, swoje ciała jadowite (wstrząsowe) i niebezpieczeństwo jej przetaczania zmniejsza się.

K u s a m a ¹⁾ (1913) podnosi przy odczynach aglutynacji, jako przyczynę wstrząsów i ewentualnych przypadków zejść śmiertelnych toksyczność trombow. Nie zatem blokada sama przez się byłaby przy przetaczaniu krwi przyczyną zaburzeń. L a t t e s ²⁾ przypuszcza, że zanim wystąpi aglutynacja i hemoliza, powstają ciała toksyczne. Nie wyjaśnia jednak bliżej, gdzie i w jaki sposób te ciała miałyby powstawać. W każdym razie nie można zapominać o tem, że procesy hemolityczne *in vivo*, przy częściowej hemolizie i częściowych wyładowaniach dynamicznych krwinek mogą być nieuchwytne, z drugiej zaś strony reagują ze sobą produkty rozpadowe elementów morfotycznych krwi krążących w plazmie krwi. Ważnym zresztą czynnikiem w przebiegających reakcjach jest ogólny stan farmakodynamiczny krwi zarówno dawcy, jak i biorcy.

Takie fakty jak te, że wstrzymanie hemolizy w kulturze mikrobów związane jest z ich powolnym rozpadem (*produits intermédiaires de la désagregation* — produkty te są ciepłotrwale

¹⁾ K u s a m a : Beitr. z. path. Anat. u. z. allg. Pathol. 55, 1913.

²⁾ L a t t e s : Die Individualität d. Blutes. Berlin, J. Springer 1925.

i należą do grupy aminokryształoidów), dalej, że w ciałach grupowych (Schiff³⁾) znaleziono grupę pyrolową i aminową świadczą o tem, że ciała grupowe związane z pyrolami i aminokwasami ulegają bardzo szybkiemu plasowaniu się w komórkach przede wszystkim układu krwionośnego. Ciała te zmieniając stan dynamiczny krwinek prowadzić mogą również do reakcyj odpornościowych i obronnych. Nic dziwnego, że głodzenie, środki przeczyszczające i pewne stany ustroju patologiczne (np. gorączka), zmieniają przebieg reakcyj dynamicznych krwi. Wiadomo bowiem, że przy takich stanach krew, a w szczególności jej elementy morfotyczne zostają z ciał czynnych wyjąłowane, tem samem zaś reakcje zachodzące przy transfuzji są zależne bardziej od stanu dynamicznego krwi dawcy.

Zobaczmy niżej, że zachodzące w ustroju przy transfuzji krwi reakcje grupowe można traktować do pewnego stopnia jako dziedziczne formy uczulenia anafilaktycznego z tem zastrzeżeniem, że sprawa aglutynacji jest objawem ubocznym i o znaczeniu podrzędnem, szczególnie w tym wypadku, kiedy bierzemy pod uwagę procesy aglutynacji mogące zachodzić in vivo. Aglutynacja jest zjawiskiem mniejszej wagi i czemś innym, aniżeli hemoliza. Świadczą o tem i takie fakty, że po reakcji aglutyninowej in vitro hemolizat z aglutynatu posiada inne własności, aniżeli poszczególne składniki wstrząsowe elementów krwi obydwu partnerów (G e d r o y ć). Inne będą również po transfuzji dawały objawy poszczególne składniki krwi i hemolizaty po wyjąłowaniu ich przez węgiel lub inne adsorbensy fizyczne.

Jeżeli bierzemy pod uwagę transfuzję krwi jako zabieg leczniczy praktykowany zresztą od wieków (od XVII w.), bez uwzględniania różnic grupowych (z powodu ich nieznamomości dawniej) i różnic między krwią zwierzęcą i ludzką, i jeżeli po poznaniu całej wagi transfuzji krwi z jej stanem i techniką dzisiejszą, zdarzają się mimo wszystko grube pomyłki w doborze odpowiedniej grupy, czy to przez pośpiech, czy co gorsza przez brak należytego opanowania techniki, to wielkie szczęście pa-

³⁾ Schiff: Ueber die gruppenspec. Substanzen d. menschl. Körpers. Jena, G. Fischer, 1931.

cjentów polegało i niestety polega (choć już coraz rzadziej) i dzisiaj na tem, że $\frac{2}{3}$ kombinacji grupowych krwi ludzkiej wyklucza ciężkie objawy wstrząsowe. W pozostałej $\frac{1}{3}$ istnieje znowu możliwość, że krew (czerwone ciała krwi dawcy) zostaną shemolizowane, w tych jednak wypadkach szczęście pacjentów polega na tem, że bądź hemolityczne własności surowicy biorcy są słabe, bądź też ciała wstrząsowe zawarte w elementach morfotycznych krwi dawcy są stosunkowo mało jadowite. W ostatnim wreszcie szczęśliwym wypadku mimo wystąpienia bardzo silnego wstrząsu anafilaktoidalnego, śmierć ustroju nie zawsze następuje i kończy się albo desensybilizacją ciał jadowitych przez wzajemną rozpuszczalność lipidów w elementach komórkowych, bądź wyzdrowieniem, po mniej lub więcej ciężkiem i długotrwałem zatruciu.

Podkreślimy jeszcze na innem miejscu, że jednak i krew dawcy tej samej grupy niezawsze jest zupełnie odpowiednia do transfuzji, suponując tymczasem tylko różną dynamikę krwi. Znane są dalej wypadki zejścia śmiertelnego po transfuzji krwi branej od uniwersalnego dawcy (grupy O).

Dzisiaj rozporządzamy szeregiem znakomitych kompendjów technicznych dla transfuzji krwi, nie będziemy się więc na tem miejscu nad techniką badań grupowych szczególnie zatrzymywali, a jeżeli w tej $\frac{1}{3}$ możliwych wypadków, które mogą prowadzić do zaburzeń zdarzają się niedopatrzienia, to winą już tylko czyniącego zabieg, który nie opanował prostej stosunkowo metodyki, zlekceważył ją, lub co też jest ważne, nie ocenił należyście stanu biorcy.

Na usprawiedliwienie jednak lekarza przeprowadzającego zabieg transfuzji musimy dodać, że niebezpieczeństwo fałszywego doboru grupy krwi do transfuzji bez winy lekarza polega i na tem, że świeżo pobrana surowica zawiera czasem lizyny hamujące odczyn aglutynacji. W temperaturze pokojowej hemoliza będzie na szkiełku przedmiotowem przebiegała bardzo powoli. Nie wystąpi zatem hemoliza, ani odczyn aglutynacji. Lekarz dojdzie do wniosku, że krew i grupa odpowiednio są dobrane — i niebezpieczeństwo wstrząsu gotowe.

Jeżeli zatem należy procesy hemolityczne przy transfuzji krwi uważać za rozstrzygające dla rozgrywających się proce-

sów we krwi biorcy, to trzeba na ten punkt metodyki zwrócić szczególną uwagę i badać przedewszystkiem lityczne własności krwinek dawcy przez nierozcieńczoną surowicę biorcy, przy czem, jako uzupełnienie kontroli dobrze jest wykonać dodatkowo i zabieg odwrotny, przez co uzyskuje się większą pewność oceny jakości grupy. Badanie krwi powinno być wykonywane w drobnych probówkach, a nie na szkiełkach przedmiotowych. Przy rozcieńczeniach prób krwi 1 : 4 : 5 występuje aglutynacja. Jeżeli nie wystąpi w probówkach, ani odczyn aglutynacji, ani hemolizy, krew jest odpowiednia. Biorca należy do grupy A B lub też krew należy do grupy O. Przy uczynionej także próbie z krwią dawcy ze względu na działanie jego surowicy na krwinki biorcy, to w wypadku, gdy nie wystąpi, ani hemoliza, ani aglutynacja, krew biorcy i dawcy należy do tej samej grupy. Jeżeli jednak obydwa odczyny, lub tylko jeden z nich wystąpi, partnerzy nie należą do tej samej grupy, mimo to krew jest do transfuzji dopuszczalna. Na wszelki jednak wypadek lepiej poszukać dawcy izogrupowego i tej samej grupy, szczególnie wtedy, gdy jak w omawianym wypadku, przy próbie ma miejsce hemoliza krwi.

Thomsen podaje następujące zestawienie synoptyczne, dopuszczalnych kombinacji grupowych:

Nr.	Surowica biorcy + krew dawcy		Surowica dawcy + krew biorcy	
	próbówka Nr. 1	próbówka Nr. 2	próbówka Nr. 1	próbówka Nr. 2
1.	+	(pod żadnym warunkiem niedopuszczalne)		
2.	—	+	+	
3.	—	+	—	+
4.	—	+	—	—
5.	—	—	+	
6.	—	—	—	+
7.	—	—	—	—

Znak + w próbówce Nr. 1 oznacza odczyn hemolizy

Znak + w próbówce Nr. 2 oznacza odczyn aglutynacji

Reakcja Nr. 1 pod żadnym warunkiem nie pozwala na transfuzję, gdyż grozi zejściem śmiertelnym.

Reakcje Nr. 2—3 dopuszczalne tylko przy najwyższym niebezpieczeństwie, w skrwawieniach i t. p., kiedy transfuzja krwi nie może być odłożona. Dawca Nr. 3 w każdym razie lepszy, gdyż jego surowica nie hemolizuje krwinek biorcy. Chodzi tu o typy A $\rightarrow$ B dawcy i biorcy.

Reakcja Nr. 4 dopuszczalna również tylko w najwyższym niebezpieczeństwie. Biorca jest O, A lub B, dawca A B.

Reakcje Nr. 5—6 używane, gdy niema dawcy tej samej grupy. Nr. 6 lepszy od Nr. 5. Biorcą jest AB, dawcą O, A lub B, względnie biorcą A, B, AB, dawcą zaś O.

Reakcja Nr. 7 uchodząca jako idealna, przy użyciu tej samej grupy. Kliniczne jednak obserwacje i doświadczenia dają jeszcze dalsze zastrzeżenia:

Zaburzenia wstrząsowe po transfuzji krwi różnych grup krwi

Najniebezpieczniejszy wypadek wstrząsu zachodzi, gdy krwinki dawcy zostają zhemolizowane przez surowicę biorcy. Wchodzą tu naturalnie w grę najrozmaitsze przyczyny, o których zresztą dość obszernie wspominaliśmy, najczęściej jednak zła ocena dawcy, źle poznaczone surowice, niewykonanie kontroli próbowkowej na krzyż, t. j. z krwią dawcy i biorcy i t. p.

Krew grupowo obca nawet w małych ilościach wprowadzona człowiekowi dożylnie powoduje silne zaburzenia, podobnie jak krew zwierzęca, jakkolwiek i jedna i druga może nie spowodować jeszcze śmierci biorcy nawet w stosunkowo dużych ilościach.

Stosowanie profilaktyczne małych ilości krwi 5—10 cm³, jako tak zwana próba biologiczna Oehleckera stosowana powinna być stale, oddając duże usługi. Zachowanie się pacjentów po wprowadzeniu dożylnem 5 — 10 cm³ krwi, jeżeli krew jest odpowiednia — jest normalne, jeżeli natomiast nie, to w przeciągu 1—2 minut występują mniej lub więcej silne zaburzenia, w zależności od ilości krwi, charakterystyczne i ogólnie znane dla wstrząsu hemolitycznego i anafilaktycznego.

U zwierząt (psów, królików, kotów...) te same objawy, a nawet i śmiertelne, można zaobserwować już po iniekcjach dożylnych 1—2 cm³ krwi. Objawami temi według Oehleckera są: pacjent w ciągu 1—2' wykazuje niepokój, głęboki oddech, stęka, skarży się na bóle w krzyżach lub okolicy żołądka, czasami występują wymioty, zmienione (osłabione) tętno, lub nawet jego zniknięcie, kollaps w cięższych przypadkach. Początkowe zaczerwienienie twarzy ustępuje miejsca bledości. U zwierząt rzucanie się, oddawanie kału i moczu i t. d.

Przy próbie O e h l e c k e r a ⁵⁾ trzeba uważać, by nie dać się zmylić uspokojeniu się pacjenta, gdyż objawy lekkiego wstrząsu szybko przechodzą. Jeżeli powtórzy się transfuzję z tą samą krwią, objawy wstrząsu powtórzą się dokładnie w 1—2 minut. A zatem nie występuje w tym wypadku czasowe uodpornienie, lecz działanie jest tu ilościowe i zabieg może się skończyć śmiercią pacjenta zazwyczaj w kilka minut do kilkunastu godzin, jakkolwiek na skutek hemolizy krwi występująca anuria może się przeciągnąć na tygodnie. W szczęśliwym wypadku może nastąpić poprawa i pacjent wyzdrowieć.

Nie będziemy się zajmowali wypadkami cięższymi wstrząsu hemolitycznego, jak również obrazem dynamicznym takiego wstrząsu, gdyż chodzi nam tylko o dane ogólne i zebranie pewnych ostrzeżeń zarówno korzystnych w praktyce ludzkiej, jak i w eksperymencie zwierzęcym. Przy długotrwałej anurji z powodu hemolitycznego wstrząsu, poza innymi Hesse i Filatow ⁶⁾ opierając się na eksperymencie zwierzęcym, zalecają możliwie natychmiastową transfuzję krwi grupowo odpowiedniej (?), co ma sprowadzać bardzo szybko stan polepszenia. W czym leży ta przyczyna polepszenia, trudno określić. Nie jest wykluczone, że chodzi o absorbcję ciał wstrząsowych przez nowo wprowadzone krwinki, jakkolwiek i krwinki autogenezytyczne właściwości te również posiadają. Prawdopodobniejsze

⁵⁾ Oehlecker: Med. Klin. 1928. Münchn. m. Wschr. 1919. Fortschr. Med. 1922. Z. ärztl. Fortb. 1930.

⁶⁾ Hesse i Filatow Z. exper. Med. 86, 1933. Doświadczenia z neutralizowaniem ciał wstrząsowych pochodzenia krwinkowego ogłosiłem drukiem w Pol. Gaz. Lek. Nr. 36, 1931 i Nr. 10, 1932, w C. R. d. l. Soc. de Biol. t. 107, 1931; t. 109, 1931 i in.

jest jednak zneutralizowanie ciał wstrząsowych przez krew obcą, podobnie jak my traktowaliśmy tę sprawę w eksperymencie zwierzęcym przy neutralizowaniu jądów wstrząsowych pochodzenia krwinkowego. Schiff wspomina o jednym tylko wypadku uleczenia wstrząsu krwinkowego przez infuzję krwi serologicznie odpowiedniej (?).

Jakkolwiek nie kwestjonuję tej możliwości, gdyż przebadłem ją na zwierzętach wcześniej, aniżeli Hesse i Filatow, jednakże pojedynczy wypadek, to trochę za mało, by ocenić możliwości takiej terapii. Nie bierzemy na razie już pod uwagę tego, że przy innej kombinacji grupowej, jak to wykazałem na zwierzętach, możemy doprowadzić do niebezpiecznego wyniku, używając nawet własnej krwi (więc najbardziej odpowiedniej grupowo!) do zneutralizowania wstrząsu. (zob. ustęp: Mechanizm hemolitycznego wstrząsu).

Skazy hemolityczne po transfuzji krwi grupy O, (t. zw. uniwersalnego dawcy), notuje także Halter⁷⁾. Początkowo przebiegła transfuzja pomyślnie, dopiero na drugi dzień pod wpływem hemoglobinurji wystąpiła oliguria i anuria. Nie można więc przy dawcy grupy O ze względu na wysokie miano izolityczne jego surowicy wykluczyć nigdy, że po użyciu większej ilości krwi do transfuzji nie wystąpią objawy wstrząsowe. Używani do transfuzji krwi dawcy grupy O nie powinni wykazywać wysokiego miana aglutynacyjnego (Coca⁸⁾). Zalecić można w takich wypadkach celem kontroli przed transfuzją zmieszanie krwi dawcy i biorcy *à partes*. Niebezpieczne są infuzje krwi grupy O przy upustach krwi, lub dużej stracie krwi u biorcy należącego do innej grupy, gdyż izolizyny i izoaglutyniny grupy O mogą wtedy przedewszystkiem spowodować niebezpieczne zaburzenia, jeżeli stosunek surowicy grupy O będzie za duży w stosunku do krwi biorcy.

Uniwersalny dawca nie nadaje się — szczególnie przy ciężkiej anemji, przy sepsis, pneumonji, przy hemolitycznej żółtaczce, przy hemoglobinurji, trypanosis, kile i raku. W wypadkach tych obserwowano większe lub mniejsze zaburzenia.

⁷⁾ Halter: Wien. Klin. Wschr. 236, 1930.

⁸⁾ Coca: J. of Immun. 20, 263, 1931.

Również przy ciężkiej aplastycznej anemji z czasową hemoglobinurją, jeżeli wystąpi z biegiem choroby spadek odporności krwinek. Krew dopuszczalna według wzoru wywołuje hemolizę — tak samo przy hemolitycznej żółtaczce (icterus) i przy niektórych innych.

Po transfuzji krwi grupy O notowano już zresztą kilkakrotnie wypadki śmiertelnego zejścia, nie mówiąc już o dość częstych objawach mniej lub więcej silnych wstrząsów.

Nawet przy użyciu tej samej grupy krwi do transfuzji występują objawy gorączkowe, dreszcze, wzrost temperatury, pochrzywka, bóle głowy i inne. Jednem słowem objawy, które można zaliczyć do grupy wstrząsów hemolitycznych (R ü d e l⁹⁾), jeszcze bardziej do typu wstrząsu histaminowego.

Najprawdopodobniej przy takich lekkich zaburzeniach odgrywa dużą rolę dynamika krwi dawcy i wyładowania nagłe w ustroju biorcy ciał czynnych dawcy. Wspominaliśmy wyżej, że używanie krwi z cytrynianem przyczynia się niezawodnie do częstszego występowania tych objawów wstrząsowych, ale nawet stosowanie transfuzji krwi bezpośrednie nie wyklucza objawów wstrząsowych i przy użyciu tej samej grupy krwi. I co dziwniejsze, objawów wstrząsu hemolitycznego. Pewien procent w tych zaburzeniach przypadnie na ciała odżywcze lub uczuleniowe znajdujące się w surowicy dawcy i związane z tem objawy alergiczne (idiosynkrazja do pewnych ciał, szczególnie natury odżywczej).

Ramirez¹⁰⁾ podaje wypadek napadu końskiej astmy u biorcy, który w dwa tygodnie po transfuzji zetknął się z końmi. Pacjent nigdy nie cierpiał na tego rodzaju dolegliwość, natomiast dawca był nadwrażliwy.

Niektórzy zalecają uprzednie stosowanie głodzenia dawcy (Brem, Zeiler i Hamack¹¹⁾), jednakże sądzimy w myśl tego co podkreślaliśmy wyżej, że krew przetaczana po-

⁹⁾ R ü d e l: Ztrbl. Chir. Nr. 43, 1932. Dtsch. Z. Chir. 236, 1, 1932.

¹⁰⁾ Ramirez: Journ. amer. med. Assoc. 73, 989, 1919.

¹¹⁾ Brem, Zeiler, Hamack: Amer. med. Soc. 175, 96, 1928.

winna jednak zawierać pewne ciała czynne, gdyż wyjąłowana przez głodzenie z ciał odżywczych, hormonalnych i innych nie spełni należycie swego ozdrowieńczego i zastępczego działania. Ustrój może być tak zżarty i wycieńczony postem i gorączką (przy gorączce, jak wiadomo, upośledzone jest wchłanianie), że wprowadzenie krwi pełnowartościowej powinno być korzystne, objawy zaś alergii pokarmowej są stosunkowo słabe. Zresztą ocena potrzeby i wartości dynamicznej krwi, poza jej grupowością, powinna być w każdym poszczególnym wypadku brana w rachubę. Naogół nawet post dawcy nie wyklucza zaburzeń, i znowu trzeba szukać innej przyczyny, by wyjaśnić istotę zjawisk wstrząsowych po transfuzji krwi.

Niestety jednak i co bardziej frapujące, że nawet przy użyciu tej samej grupy krwi do transfuzji notują niektórzy występowanie objawów hemolitycznych (R. Boller i W. Falta ¹²⁾). Objawy hemolizy wystąpiły w godzinę po transfuzji (wypadek po wycięciu śledziony). Nie jest jednak wykluczone, że i w tym wypadku, jak w wielu innych, z mniejszą dokładnością zaobserwowanych, mogła odegrać rolę również różna dynamika krwi dawcy i biorcy, jak nie mniej różnorodność ciał obronnych i odpornościowych obydwu partnerów.

Ciężkie objawy zaburzeń przy użyciu do transfuzji tej samej grupy krwi, notują Carrington i Lee ¹³⁾ podając, że u 75-letniego pacjenta z ciężką anemią w godzinę po transfuzji krwi nastąpił silny napad astmy, równocześnie oddanie moczu i kału jako typowe objawy wstrząsowe. Śmierć nastąpiła po 10-ciu godzinach. Podobny wypadek ataku astmy podaje i Wolf ¹⁴⁾ po transfuzji. Kilka wypadków śmierci zanotowano u ciężko chorych na serce (Biesenberger ¹⁵⁾) i na nerki (Boardley ¹⁶⁾) i inni. Szczególnie przy chorobach serca i nerek trzeba być ostrożnym w stosowaniu transfuzji krwi.

¹²⁾ Boller - Falta: Klin. Wschr. 13. Nr. 32, 1934.

¹³⁾ Carrington - Lee: Ann. Surg. 78, 1, 1923.

¹⁴⁾ Wolf: New York Med. J. 115, 1, 1922.

¹⁵⁾ Biesenberger: Wien. Klin. Wschr. 923, 1928.

¹⁶⁾ Boardley: Arch. int. Med. 47, 288, 1931.

Wielokrotne transfuzje krwi.

Jeżeli transfuzję krwi można wielokrotnie powtarzać, gdyż rezultat tego zabiegu nie jest trwałym, to jednak zdarzają się wypadki, że ta sama krew przy następnej transfuzji nie zawsze jest znoszona przez biorcę z jednakową wrażliwością. Najprawdopodobniej więc w ustroju biorcy powstają przeciwciała, choćby tylko gra miała zaistnieć wobec podgrupowych ciał M, N i P. Nie jest zaś wykluczone wytwarzanie się w ciele biorcy i innego rodzaju przeciwciał pod wpływem specyficznych ciał odpornościowych dawcy, choć mogą powstawać i przeciwciała anti M—i anti N.

Ciekawe, że to samo odnosi się i do grupy O. Surowica biorcy grupy O hemolizowała krwinki tej samej grupy po kilkunastu transfuzjach (B o w c o c k). Mogą być jednak i osoby szczególnie wrażliwe na transfuzję tej samej grupy przedsięwziętą nawet poraz pierwszy, a objawy wstrząsowe lekkie początkowo, przy następnych transfuzjach mogą się spotęgować. Naodwrot, notowane są wypadki wysycania się i unieczynnienia przeciwciał biorcy i wtedy transfuzje następne dają objawy łagodniejsze.

Zawsze jednak przy użyciu tego samego nawet dawcy i przy tej samej grupie krwi, kolejna próba krwi *in vitro* powinna być wykonana przed transfuzją.

Zanotować wypada również występującą po transfuzjach większej ilości krwi hipertonię, a zwłaszcza po infuzji krwi hipertoników. Zdaje się jednak, że raczej w tych tylko wypadkach, gdy krew ulega przynajmniej częściowej hemolizie lub oddaje specyficzne ciała hipertenzyjne, których obecność mieliśmy możliwość stwierdzić w elementach morfotycznych krwi.

W następnych ustępach przedstawimy szereg doświadczeń nad zmianą grupowego charakteru elementów krwi ujmując zagadnienie z punktu widzenia eksperymentalnego i patologicznego. Landsteiner w swych podstawowych pracach o grupach krwi ludzkiej, podkreślał wyraźnie, że odnoszą się tylko do krwi normalnej. Eksperyment jednak i stany patogeniczne wykazują, że właściwości elementów morfotycznych

krwi mogą się zmieniać w zależności od rozmaitych stanów chorobowych i rozmaitych czynników natury fizycznej i chemicznej, przyczem znikają właściwości normalne czerwonych elementów krwi i pojawiają się nowe. Będą tutaj należały takie objawy, jak panaglutynacji, autoaglutynacji, autohemolizy, zmienionego opadania krwinek w stanach chorobowych i in. Zmiana właściwości wstrząsowych, więc spotęgowanie toksycznych właściwości krwinek, jak również ich zmniejszenie lub unieczynnienie w eksperymencie i w stanach chorobowych.

IV. ZMIANA GRUPOWEGO CHARAKTERU CZERWONYCH CIAŁEK KRWI.

Wobec magazynowania się w elementach morfotycznych krwi lub na ich powierzchni ciał o charakterze odżywczym (kwasów aminowych), hormonów, leków, frakcji odpornościowych, jak aglutynin, hemolizyn, toksyn i ciał wstrząsowych istniejących w czerwonych ciałkach krwi *implicite*, jako ich cecha dziedziczna, dalej, chwytników grupowych (aglutynogenów), odczynybrane dotychczas w rachubę w doświadczeniach serologicznych niekoniecznie muszą zachodzić tylko między surowicą krwi a krwinkami, mogą bowiem równie dobrze powstawać między elementami morfotycznymi krwi, a hemolizatami zawierającymi, bądź z natury, bądź wskutek absorpcji pewne ciała czynne. Przyjmując, że już w stanach prawidłowych mogą być zawarte w krwinkach aglutyniny, o czym świadczyłby stwierdzony przez nas fakt, iż hemolizaty z czerwonych ciałek krwi niektórych gatunków zwierzęcych aglutynują względnie hemolizują krwinki innego gatunku zwierzęcia, lub nawet swoje własne (koty), odczyny aglutynacji i hemolizy mogą zachodzić również pomiędzy krwinkami zmienionymi grupowo przez działanie substancji tak nieorganicznych, jak i organicznych, na skutek rozpuszczalności wzajemnej lipidów w czerwonych ciałkach krwi. Odczyn aglutynacji może zachodzić również między krwinkami zmienionymi grupowo przez impregnację hemolizatami z krwinek zwierząt grupowo obcych a hemolizatem, względnie surowicą własną (autogeniczną). Odczyny takie mogą zachodzić również między hemoli-

zatomami z krwinek impregnowanych i przez to zmienionych grupowo, a krwinkami normalnymi autogenicznymi.

Już na tem miejscu możemy zauważyć, że zmiany zachodzące w krwinkach wskutek impregnacji hemolizatami moglibyśmy odnieść albo do zmian zachodzących wskutek impregnacji obcymi grupowo aglutyninami, a zawartymi w krwinkach innego gatunku zwierzęcia, albo wskutek absorbcji chwytników grupowo obcych. Ta ostatnia możliwość powinna by odpasć wobec twierdzenia większości badaczy, że cechy grupowe są dziedziczne i związane z charakterem danego gatunku krwinek, dalej, że cechy te nie zmieniają się przez czas życia osobniczego. Z drugiej zaś strony wobec faktu impregnowania się krwinek, względnie reagowania z obcymi aglutyninami i hemolizyntami, dalej wobec pewnych właściwości twórczych czerwonych elementów krwi, nie jest wykluczone powstawanie nowych ciał grupowych, jakkolwiek po pewnym czasie ciała te, jako niezupełnie dostosowane do specyficznych właściwości dziedzicznych komórkowych, mogą być z tych elementów eliminowane, jak to się dzieje stale z absorbowaniem i eliminowaniem ciał odżywczych hormonalnych i innych.

Na podstawie jednak praw absorbcyjnych i adsorbcyjnych właściwych czerwonym elementom krwi, dalej na podstawie praw rozpuszczalności ciał białkowych i lipidów w lipidach krwinek sądzimy, że to plasowanie się ciał obronnych i odpornościowych, związanych z tego typu ciałami w krwinkach, jest zupełnie naturalne.

To samo potrafimy wykazać również dla ciał wstrząsowych, jako najważniejszego momentu występującego przy transfuzjach krwi. Będziemy się starali również rozstrzygnąć pytanie, czy we wszystkich grupach krwinek mamy do czynienia z jednym typem ciał wstrząsowych i czy podział krwinek izogrupowy jest niezależnym zupełnie systemem od ciał wstrząsowych, czy też ciała wstrząsowe w każdej grupie krwi są inne.

Gdybyśmy chcieli brać porównania z innej grupy zjawisk odpornościowych zachodzących w ustroju, więc np. anafilaksji i uodpornienia, stwierdzimy, że uodporniający i uczulający antygen tworząc teoretyczny amboceptor, który plasuje się nie tylko w surowicy, z której po pewnym czasie może nawet

zniknąć zupełnie, ale przedewszystkiem w tkankach i komórkach, gdzie nie przestaje być amboceptorem mimo, iż od dłuższego już czasu nie możemy wykazać jego istnienia w płynach humoralnych, względnie surowicy (D o e r r). Dowody na to mamy we wrażliwości narządów izolowanych na antygen, który nam posłużył do uczulania zwierzęcia. Zatem ciało odpornościowe impregnując komórki i tkanki nie przestaje być amboceptorem. Czy jednakże taki charakter dwuchwytnikowy musimy przypisać aglutyninom, trudno rozstrzygnąć.

Schiff i inni otrzymują z krwinek aglutynogeny (ciała grupowe), jako specyficzne ciała związane, zdaje się, z lipidami, albo z białkami, jak chcą inni. Nie jest więc wykluczone, że ciała grupowe byłyby specyficznymi jadami na podobieństwo innych jądów zwierzęcych. Ich (cech grupowych) związek z lipidami, względnie rozpuszczalność w lipidach tłumaczyłaby przenikanie ciał grupowych do obcych krwinek i w ten sposób zmianę grupowego charakteru. Z drugiej strony wyniki otrzymane przez nas wskazują na to, że impregnując np. krwinki autogeniczne hemolizatem z krwinek grupowo obcych, nie tylko wprowadzamy do krwinek autogenicznych obce receptory i przez to zmieniamy ich charakter grupowy, ale wprowadzamy również aglutyniny (lub też aglutyniny powstają w krwinkach), gdyż hemolizat z takich krwinek autogenicznych impregnowanych obcym hemolizatem aglutynuje krwinki autogeniczne normalne. Surowica własna (autogeniczna) posiada również zdolność aglutynowania krwinek własnych grupowo zmienionych. I w tym więc wypadku moglibyśmy odnieść ten odczyn do zmiany grupowego charakteru krwinek wskutek impregnowania się ich obcymi grupowo receptorami.

W stanach patologicznych występują najprawdopodobniej zmiany odpornościowe i chwytnikowe przejawiające się w autoaglutynacji i autohemolizie krwinek.

Autoaglutynacja występuje przy hemolitycznej żółtaczce, cirrhosis hep., anemji, chronicznej leukemji, trypanosomiasis, pneumonji, przy chorobie Raynaud'a. Objawy tej aglutynacji występują nawet przy stosunkowo wysokiej temperaturze 20—25°C i liczenie ciałek prawie jest niemożliwe. Teoretycznie ważne dla nas jest, że potwierdza nasze przypuszczenia, iż

w wypadkach, gdy nawet własne krwinki ulegają hemolizie, lub w stanach patologicznych, grupowość krwi przejściowo zmienia się i elementy komórkowe ulegają autoaglutynacji. To samo wystąpi, gdy ciała obce i jady zmieniają grupowość krwinek lub charakter aglutynin i hemolizyn (trypanosomiasis). (Od D-ra Görtza z Kliniki chorób wewnętrznych we Lwowie otrzymałem krew, której krwinki, bezpośrednio po wytoczeniu z żyły, zbiły się w jeden skrzep, niemożliwy nawet przy silnym bardzo wstrząsaniu z płynem fizjologicznym do rozbicia).

Autohemolizę przy paroxymalnej hemoglobinurji możnaby również sprowadzić do zmian w hemolizynach, ewentualnie do zmian chwytników grupowych. Sądzymy, że zmiany te idą równolegle ze względu na mechanikę obronną ustroju. Co ciekawsze, że te autoaglutyniny po odszczepieniu ich od krwinek działają i na krew innych osób i zwierząt. Te „niespecyficzne“ aglutyniny działają w rozmaitym stopniu na rozmaite izogrupy. Jedne z nich na A i AB, inne na krwinki grupy O i B, inne jeszcze na czynnik P (Landsteiner, Witt, Levine), stąd sądzymy pochodzi i niebezpieczeństwo przetaczania krwi nawet grupy O. Lloyd i Chambre obserwują, że bardzo wybitnie anemiczna pacjentka, posiadająca cechy grupowe A i B, posiadała również w surowicy aglutyniny anti A i anti B, a więc zupełnie przeciwne regule Landsteinera i raczej przypominające stosunki znalezione przez Liedberga u noworodka przy heterogenetycznej ciąży.

A gdy różnice nie są tak wyraźne, gdy dawca w słabym tylko stopniu posiada jeszcze zmieniające stan dynamiczny i odpornościowy krwi schorzenia, możliwość mniejszych lub większych zaburzeń nie jest nigdy wykluczona. A pewne stany patologiczne pacjenta, jak wspominaliśmy, wogóle wykluczają możliwość transfuzji krwi.

W doświadczeniach naszych przyjęto jako drugi wskaźnik zmiany grupowego charakteru krwinek, oprócz zmiany odczynów hemolizy i aglutynacji in vitro, wpływ wstrząsowy zmienionych przez impregnację krwinek na ustrój zwierzęcy, przy wprowadzeniu dożylnem.

Co ciekawsze okazało się, że filtry z bakterij powodują także panaglutynację, a zmienione (chyba tylko naskutek ab-

sorbcji chwytników bakteryjnych) krwinki przy dodaniu komplementu zostają zhemolizowane. (Schiff — Friedenreich).

W pewnych wypadkach krwinki ludzkie są aglutynowane przez wszystkie surowice ludzkie. Thomsenowi¹⁷⁾ udaje się przez zmieszanie normalnych krwinek z takimi zmienionymi „zakazić” krwinki zdrowe. Bezpośrednio po odkryciu Thomsen'a, Friedenreich¹⁸⁾ wykrywa, że przyczyną zmiany charakteru krwinek jest zanieczyszczenie krwinek przez bakterje (apatogeniczne). Według Thomsen'a i Friedenreich'a wskutek działania tych bakteryj zostaje wolny szczególny receptor, który jest przyczyną zmienionego charakteru krwinek. Zmienione przez te bakterje krwinki są aglutynowane również przez swoje własne surowice i naturalnie surowicę grupy AB. W wypadkach więc, gdy chodziłoby nam o stwierdzenie, czy przebywająca przez dłuższy czas zawieszona krwinek w temperaturze pokojowej nie jest przypadkiem zakażona, należałoby czerwone ciała krwi poddać działaniu bądź surowicy własnej, bądź surowicy grupy AB. Należy uważać na zanieczyszczenie krwinek tembardziej, że większość odczynów aglutynacyjnych przeprowadzamy w temperaturze pokojowej, która dla rozwoju tych żółtych bakteryj stanowi optimum warunków rozwojowych. Bakterje te rozwijają się w temperaturze 0°C., jak również w temperaturze 37°C., w tym ostatnim jednak wypadku nie posiadają zdolności zmieniania charakteru krwinek. Później znaleziono inne jeszcze bakterje i krętki zmieniające charakter „grupowy” krwinek.

Prawdopodobnie w wypadkach opisywanej przez Schiffa, Halberstädtera, Hübnera i innych panaglutynacji, mamy także do czynienia z zanieczyszczeniem krwinek przez infekcję. Friedenreich znajduje ostatnio (nieogłoszone, cyt. według Thomsen'a) gramnegatywny drobny lasecznik, który sam bez surowicy wywołuje bardzo silną aglutynację, bez względu na grupę i jakość krwi. Lasecznik ten rozwija się bardzo dobrze w surowicy i w temperaturze niższej.

¹⁸⁾ Friedenreich. — Loccit.

¹⁷⁾ Thomsen: Kolle - Wassermann. T. II. 1929.

Gdybyśmy chcieli ocenić panaglutynację oświetlając ją wnioskami z wykonanych przez nas eksperymentów, to i w tym wypadku byłibyśmy zmuszeni, że, nie jak chce *Thomson*, na skutek działania bakteryj, jakiś nowy lub szczególny receptor zostaje wolny i wskutek tego krwinki ulegają aglutynacji (panaglutynacji), lecz że wskutek przemiany materji i lizy bakteryj, uwolnione z nich receptory plasują się w lipoidach krwinek zmieniając ich charakter grupowy. W ten sposób krwinki takie ulegają aglutynacji przez surowice nawet autogenetyczne. To samo można odnieść do reakcyj hemolitycznych.

Jeżeli mowa o aglutyninach i hemolizynach, które znajdujemy u roślin, bakteryj i zwierząt, poczynając od najniższych do najwyższych, to należy pokrótce chociażby wspomnieć o charakterze tych ciał, przynajmniej u zwierząt ssących i u ludzi.

Pfeiffer znajduje aglutyniny w moczu człowieka, *Delezenne* w soku kiszkiowym.

Według *Römera* w soczewce wielu ssaków znajdują się aglutyniny. *Landsteiner* w złośliwych guzach u ludzi i u zwierząt znajduje również aglutyniny. *Landsteiner*, *Klein*, *Robertson* i *Raus*¹⁹⁾ znajdują w wyciągach z wysuszonych krwinek niektórych zwierząt również aglutyniny. Co ciekawsze jednak, że we wszystkich przypadkach aglutyniny otrzymane z wymienionych narządów i komórek nie są identyczne z aglutyninami znajdującymi się w surowicy. W naszych doświadczeniach nad zmianą grupowego charakteru krwinek, o których niżej pomówimy obszerniej udało nam się wykazać, że w krwinkach wielu zwierząt ssących znajdują się w gotowym stanie aglutyniny i hemolizyny, a hemolizaty z takich krwinek posiadają wysokie miano aglutynacyjne, zachowując się w zupełności tak jak aglutyniny surowicowe.

Nie od rzeczy więc będzie wspomnieć narazie pobieżnie już na tem miejscu że metody, które chcieliby niektórzy badacze przenieść do określania grup krwi i ich wyciągów muszą brać w rachubę i aglutyniny zawarte w czerwonych ciałkach krwi. Dopóki zaś nie określiliśmy stosunków i rodzaju aglutynin zawartych w krwinkach do surowic, nie możemy tych metod sto-

¹⁹⁾ Cyt. według *Thomsona*.

sować bez prawdopodobieństwa popełnienia niebezpiecznych omyłek ²⁰⁾. T h o m s e n podciąga zjawisko przyspieszonego opadania krwinek pod zjawiska pokrewne objawom aglutynacji, zresztą niesłusznie. Szybsze opadanie krwinek z partii żyłnej, która była przez pewien czas zamknięta i odcięta od reszty obiegu, najprawdopodobniej nie będzie miała ze zjawiskiem opadania i pseudo-aglutynacji nic wspólnego ponadto, że odcięcie krwiobiegu wytwarza w takim narządzie izolowanym pewne ciała czynne, które wskutek absorbcji przez czerwone ciała krwi zmieniają ich równowagę zawieszeniową i viscositas surowicy. Do tych ciał należałyby w pierwszym rzędzie ciała podobne do histaminy, które w narządach czasowo izolowanych wytwarzają się w większych ilościach (zob. w tej sprawie F e l d b e r g i S c h i f f).

Krew infekcyjnych, ciężarnych, przy menstruacji i rakowatych opada szybciej, aniżeli normalnych, co znalazło zastosowanie jako kryterjum rozpoznawcze na klinikach (S h a t t o c k, W i l t s c h i r e i wielu in.). Szybkość opadania zależy od surowicy, a właściwą przyczyną to pseudoaglutynacja naskutek zmian fizyko-chemicznych. Krwinki nie opadają oddzielnie, lecz zbijają się w grupy i stosownie do większego promienia według prawideł S t o k e s a opadają szybciej. Z właściwą aglutynacją objaw ten niema nic wspólnego. Jeżeli zaś weźmiemy pod uwagę, że dodatek lecytyny, kaolinu znosi objawy tej pseudoaglutynacji, to trzeba wziąć pod uwagę i to, że nie tylko stan surowicy odgrywa rolę, ale zdolności absorbcyjne elementów komórkowych i ich wyjaławianie z ciał czynnych przez kaolin, węgiel i t. p.

V. ISTOTA CHEMICZNA SUBSTANCJI GRUPOWEJ.

S c h i f f i L a n d s t e i n e r ²¹⁾ stwierdzili, że substancje grupowe przechodzą do alkoholu. Istnienie ich można stwierdzić za-

²⁰⁾ Wspomnieć również wypada, że ostatnio znaleziono w kale i ślinie fermenty niszczące ciała grupowe, co ciekawsze jednak, że znaleziono te fermenty i u „bezgrupowej” formy krwinek, więc w grupie O. (S c h i f f - A k u n e: Münch. med. Wschr. 657, 1931; Schiff-Weiler: Biochem. Z. 235, 454, 239, 489. 1931; Eisler, Stimpel, Witebsky u. Saloh: Klin. Wschr. 13, 801. 1934.

²¹⁾ Cytowani wyżej.

pomocą odpowiednich surowic odpornościowych. Dotychczas odczyny te stosują dla grupy A. Ciała te posiadają małe drobiny przechodzące przez błony dializujące. Są ciepłotrwale i bezbiałkowe (?) Nie ulegają działaniu fermentów. Schiff uważa, że cechy grupowe są związane z lipoidami. Po dodaniu ługu ulegają lipoidy zmydleniu, a rozpuszczone cechy grupowe zostają eliminowane z organizmu. Sira i, Jamakanu (cytow. według Hirszfelda), Landsteiner i Levine (f. of. Imm, 12, 1926) wykazują, że własności grupowe płynów dadzą się wykryć zapomocą zahamowania izoaglutynacji. To samo udało mi się stwierdzić dla heteroaglutynacji i co ciekawsze, nie surowicowej, lecz przy użyciu hemolizatów.

Metoda wspomnianych autorów polega na tem, że jeżeli dodamy do surowicy anti - A, względnie anti - B płynu zawierającego czynnik grupowy A, względnie B, następuje połącznie się izoaglutynogenu z odpowiednią izoaglutyniną i zahamowanie odczynu aglutynacji dodanych później krwinek grupy A, względnie B.

Druga metoda polega na odchyleniu dopełniacza surowic odpornościowych jedynie z wyciągami alkoholowymi zawierającymi cechę A. Metodę tę jednakże możemy stosować tylko odnośnie grupy II i IV, jako zawierających cechę A.

Metoda inna polega na absorbcji izoaglutynin przez komórki narządowe (Kritschewskij i Schwarzmann, *Klin. Wschr.* 1927, 1928).

Najczulsza może z metod polega na określeniu grup w cieczach (Schiff). Ten ostatni stwierdził, że surowice odpornościowe anti - A zwykle hemolizują krwinki barana, dalej, że niektóre surowice skierowane przeciwko krwinkom barana aglutynują swoiście krwinki wszystkich osobników należących do grupy II i IV. Dalej wykazał, że grupa A w niezwykle czuły sposób hamuje działanie dwóchwytnika baraniego. Jednem słowem, chodzi tutaj o coś w rodzaju odchylenia przeciwna hemolizujących. Metodę Schiffa potwierdza Sachs i Hirszfeld, przyczem ten ostatni stwierdza, że zahamowanie hemolizy jest wielokrotnie czulsze, aniżeli zahamowanie izoaglutynacji.

Hirszfeld i Amzelówna (*Med. dośw. i społ.* t. XIII, 1931) stwierdzili przy pomocy metody zahamowania hemolizy,

że bielizna i ubranie jest przesycane substancjami grupowymi osoby, do której te przedmioty należą. W ten sposób można w pewnych przypadkach określić przynależność grupową właściciela badanych rzeczy.

O metodzie tej jednak, której ogromną wartość rozpoznawczą dla medycyny sądowej zdaje się H i r s z f e l d przypisywać, wyraża się jednakże sam H i r s z f e l d w tym samym ustępie bardzo sceptycznie w następujących słowach: „Badania dalsze będą musiały wyświecić, czy w pewnych przypadkach w tkankach zwierząt i roślin użytych do sporządzania ubrania, bielizny i t. p. nie znajdują się również elementy grupowe, czy też w przypadkach nieswoistych (a takie reakcje niestety mają miejsce) takich jak przez nas cytowane (Hirszfeld i Amzelówna) nie mamy do czynienia z cechą grupową zależną od nasycenia przedmiotu płynami ustrojowymi innego człowieka, których ślady nawet po wypraniu nie dadzą się usunąć”²²⁾.

Oprócz zastrzeżeń H i r s z f e l d a i A m z e l ó w n y moglibyśmy dodać, że nie tylko cechy grupowe mogą być związane z pochodzeniem materiału, z którego jest zrobiona bielizna i ubranie, widzieliśmy bowiem wyżej, że wiele roślin zawiera aglutyniny, działające na krwinki zwierzęce, że wreszcie ubrania, w których znajdują się nitki wełniane mogą dawać cechę grupową właśnie baranią A, mylnie brana za cechę człowieka. Wspólne pralnie będą nam przesycali bieliznę i ubrania cechami grupowymi, których „wszelkie” pranie znowu nie jest w stanie usunąć. Metodę tę z badań sądowych raczej należałoby usunąć.

W związku z podaną przez S c h i f f a metodą, chciałem zwrócić uwagę, że w doświadczeniach naszych nad komplementarnymi właściwościami hemolizatów z krwinek świnki morskiej na odczyn hemolityczny dla krwinek barana, zauważyliśmy, iż dodanie do odczynu hemolitycznego dla krwinek barana hemolizatu z przemitych krwinek świnki morskiej wstrzymuje w porównaniu z komplementem surowicowym hemolizę, nie wstrzymuje natomiast odczynu aglutynacji.

Przechodzimy z kolei do przedstawienia zmiany grupowego charakteru elementów trwi, jak ją w eksperymencie na zwierzę-

²²⁾ Okazało się jednakże, że tak jest.

tach ujęliśmy. Doświadczenia te zostały ogłoszone w *Pol. Gaz. Lek.* Nr. 36, 1931. *Kosmos* t. LVI. z 3, 1931 i *C. R. d. l. Soc, d. Biol.* t. 107, 871, 1931.

VI. NIEKTÓRE DANE DOŚWIADCZALNE ODNOSZĄCE SIĘ DO ZMIANY CHARAKTERU CZERWONYCH CIAŁEK KRWI.

Aglutynacja i hemoliza czerwonych ciałek krwi po impregnacji hemolizatami z krwinek grupowo różnych.

Metodyka. Celem zmiany charakteru czerwonych ciałek krwi autogenicznych (tego samego osobnika) impregnowano je w cieplecie 37° C, lub w cieplecie pokojowej od 1—2 godzin, hemolizatami z dokładnie przemytych czerwonych ciałek krwi grupowo obcych. Celem usunięcia śladów surowicy, czerwone ciała krwi przemywano uprzednio wielokrotnie płynem fizjologicznym.

W wypadkach, kiedy zdolności absorbcyjne czerwonych ciałek krwi były słabe i niewyraźne (jak np. grupy „0”), ułatwiano wówczas absorbcję obcych aglutynin przez impregnację mieszaniną hemolizatu z własnych ciałek i hemolizatu obcego, względnie dodawano adrenaliny jako czynnika wprowadzającego.

Najczęściej odwirowywano hemolizaty służące do impregnacji krwinek od zrzębu, jakkolwiek zaznaczyć wypada, że aglutyniny wiążą się ze zrzębem bardzo silnie.

Aglutynację badano bądź metodą próbowkową, poddając odczyn lekkiemu odwirowaniu (przez 2 min. przy 2000 obrotów), względnie pozostawiając próbki w spokoju. Oprócz metody próbowkowej stosowano metodę „szkiełka przedmiotowego” Moos-Lee-Vincenta.

Stosunek ilości krwinek impregnowanych do hemolizowanych przedstawiał się jak 1 : 2 i 1 : 3.

Krwinki hemolizowano wodą przekroploną, a potem izotoniowano. Używano zawsze do doświadczeń krwi świeżej, by uniknąć zakażenia materiału bakterjami.

Grupy heterogenetyczne.

I. Kot i świnka domowa. Czerwone ciała krwi kota zostają impregnowane po kilkakrotnem przemyciu celem usunięcia śladów surowicy, odwirowanym hemolizatem z przemitych czerwonych ciałek krwi świnki domowej. Impregnacja odbywała się w ciepłocie 37° C przez jedną godzinę. Po dokładnem przemyciu czerwonych ciałek krwi kota z hemolizatu świnki część czerwonych ciałek krwi zhemolizowano, zaś hemolizat zizotonizowano.

Przy zestawieniu rozmaitych kombinacyj otrzymano następujące wyniki:

1) Hemolizat normalny z czerwonych ciałek krwi świnki nie aglutynuje ani czerwonych ciałek krwi kota, ani swoich własnych.

2) Hemolizat z czerwonych ciałek krwi kota impregnowanych hemolizatem z ciałek krwi świnki domowej *aglutynuje bardzo szybko i silnie czerwone ciała krwi kota.*

3) Tenże (2) hemolizat *aglutynuje również czerwone ciała krwi świnki.* Aglutynacja w tym wypadku odbywa się jednak powolniej.

II. Królik i świnka morska. 1) Hemolizat z czerwonych ciałek krwi królika, impregnowanych hemolizatem świnki morskiej, *aglutynuje ciała królika.*

2) Tenże hemolizat *aglutynuje czerwone ciała krwi świnki morskiej* w tempie jednak zwolnionem i cokolwiek słabej.

III. 1) Hemolizat normalny (z ciałek nieimpregnowanych) świnki morskiej w wypadku braku aglutynin *hemolizuje* w przeciągu 24 godzin *czerwone ciała krwi królika.*

2) Hemolizat z czerwonych ciałek krwi królika impregnowanych hemolizatem świnki morskiej *hemolizuje* po 24 godzinach *czerwone ciała krwi królika.*

3) Tenże hemolizat (2), *nie hemolizuje czerwonych ciałek krwi świnki morskiej.*

IV. 1) Brak hemolitycznej i aglutyninowej reakcji występującej przy kombinacji krwi świnki morskiej i królika jest związany prawdopodobnie z tożsamością grupy.

V. Użyto do doświadczeń krwi królika, świnki morskiej

i 24-godzinnego hemolizatu z czerwonych ciałek krwi świni domowej.

1) Surowica normalna świnki morskiej hemolizuje czerwone ciała krwi królika i naodwrot surowica normalna królika hemolizuje ciała krwi świnki morskiej.

2) Hemolizat z czerwonych ciałek krwi świnki morskiej, impregnowanych przez 1 godzinę w cieplecie 37° C odwirowanym od zrzębu hemolizatem z czerwonych ciałek krwi świni domowej, *hemolizuje krwinki świnki morskiej w cieplecie pokojowej.*

3) Hemolizat z czerwonych ciałek krwi świnki morskiej impregnowanych hemolizatem z czerwonych ciałek krwi świni domowej, *hemolizuje autogeniczne ciała krwi świnki morskiej wielokrotnie przemyte.*

4) Hemolizat z impregnowanych ciałek krwi świnki morskiej hemolizatem królika, *hemolizuje ciała krwi świnki morskiej (autogeniczne) tak przemyte jak i we krwi odwłóknionej.*

5) Tenże hemolizat *hemolizuje czerwone ciała krwi królika.*

6) Hemolizat z czerwonych ciałek krwi królika, impregnowany hemolizatem z czerwonych ciałek krwi świni domowej, *aglutynuje i hemolizuje czerwone ciała krwi królika (autogeniczne).*

VI. *Królik i kot.* Czerwone ciała krwi królika impregnowane przez 2 godziny odwirowanym hemolizatem z czerwonych ciałek krwi kota w cieplecie 37° C.

1) Hemolizat z impregnowanych czerwonych ciałek krwi królika po dodaniu przemytych czerwonych ciałek krwi kota — nie daje odczynu.

2) Hemolizat z impregnowanych czerwonych ciałek krwi królika po dodaniu przemytych czerwonych ciałek krwi królika, daje *odczyn aglutynacji po kilku minutach.*

3) Hemolizat z impregnowanych czerwonych ciałek krwi królika po dodaniu krwi odwłóknionej kota jest bez odczynu.

4) Hemolizat z impregnowanych czerwonych ciałek krwi królika po dodaniu krwi odwłóknionej królika daje aglutynację po kilku minutach.

5) Hemolizat z normalnych czerwonych ciałek krwi kota aglutynuje silnie i szybko czerwone ciała krwi królika i świnki morskiej.

6) Mieszanina hemolizatów odwirowanych krwinek kota i królika nie daje strątw.

7) Mieszanina hemolizatów odwirowanych krwinek kota i królika aglutynuje wybitniej i szybciej krew królika, aniżeli kota.

8) Surowica normalna kota i zwierząt użytych do powyższych doświadczeń aglutynowała w przeciągu 3—4 godzin czerwone ciała krwi królika i świnki morskiej. Surowica normalna królika aglutynowała czerwone ciała krwi kota.

VII. Koń - świnią domową. 1) Czerwone ciała krwi konia impregnowano przez 60' w ciepłocie pokojowej hemolizatem autogenicznym ((z własnych czerwonych ciałek krwi) i hemolizatem z czerwonych ciałek krwi świni domowej.

W czasie pierwszego odwirowania zlepiają się czerwone ciała krwi w jedną masę, która po dodaniu płynu fizjologicznego, przy wstrząsaniu, z trudem rozбивa się na fragmenty.

2) Te same ciała krwi (1) po rozbiciu przez wstrząsanie i po przemyciu ulegają aglutynacji przez autogeniczną surowicę w przeciągu kilkunastu minut (zarówno metodą próbowkową bez odwirowania, jak również na szkiełku przedmiotowym metodą M o s s - L e e - V i n c e n t'a).

VIII. Pies - świnią domową. 1) Czerwone ciała krwi świni impregnowane przez 1 godzinę w ciepłocie 37° C w stosunku 1 : 3, hemolizatem z czerwonych ciałek krwi psa,

W przeciągu kilkunastu minut powstaje wybitna i szybka aglutynacja próbowkowa bez odwirowania.

2) Czerwone ciała krwi psa impregnowano przez 1 godzinę w ciepłocie 37° C hemolizatem z czerwonych ciałek krwi świni domowej w stosunku 1 : 3. Aglutynacja, która powstaje, jest nieco słabsza, aniżeli w wypadku (1).

3) Surowica świni domowej aglutynuje autogeniczne ciała krwi po impregnacji hemolizatem z czerwonych ciałek psa, mimo, że surowica psa nie aglutynowała czerwonych ciałek krwi świni domowej.

W tym wypadku czerwone ciała krwi psa oddają cechę grupową podobnie jak grupa „O” ludzi (patrz niżej), — mimo że zdawałoby się napczór, że ciał czynnych w tym wypadku w krwinkach niema.

Serologiczne własności grupy O.

Jak wiadomo krwinki grupy O nie ulegają aglutynacji przez przeciwciała (aglutyniny) innych grup ludzkich. Prace uodporniające przy pomocy krwinek grupy O nie dały rezultatu pozytywnego. Schiff notuje raczej występowanie aglutynin anti-O dla normalnych surowic. Landsteiner i Levine znaleźli przy nietypowych izoreakcjach szereg surowic działających na czerwone ciała krwi grupy O.

Przeprowadzone przeze mnie badania nad zmianą grupowego charakteru krwinek (*Pol. Gaz. Lek.* Nr. 36, 1931) wykazały, że i krwinki grupy O posiadają pewne cechy grupowe, względnie, że właściwości krwinek grupy O mogą być przez impregnację hemolizatami z innych krwinek zmienione lub uwydatnione.

Izoaglutyniny grup ludzkich „O” i „B”.

1) Czerwone ciała krwi grupy „B” impregnowano przez 90 minut w cieplecie pokojowej hemolizatem z czerwonych ciałek krwi grupy „O” w stosunku 1 : 3 i hemolizatem autogenicznym w stosunku 1 : 1.

Badanie odczynu metodą probówkową daje wynik dodatni.

2) Surowica izogrupy „B” po impregnacji hemolizatem grupy „O” aglutynuje swoje własne (autogeniczne) czerwone ciała krwi.

3) Czerwone ciała krwi grupy „O” były impregnowane przez 90 minut w cieplecie pokojowej (25° C) hemolizatem autogenicznym i hemolizatem z krwinek świni domowej. Hemolizaty w całej serii poniższych doświadczeń były odwirowane od zrzębu. Do mieszanki dodano adrenaliny 1 : 15000 w ilości 15 cm³.

Po lekkim odwirowaniu mieszanki (przez 2 minuty i 2000 obrotów) następuje aglutynacja.

4) Po rozbiciu opisanego aglutynatu (3) przez wstrząsanie z płynem fizjologicznym, zawiesina krwinek została aglutynowana przez autogeniczną surowicę, te same wyniki otrzymuje się po impregnacji w 37° C, zarówno metodą probówkową, jak i na szkiełku przedmiotowym, w przeciągu kilkunastu minut.

5) Te same krwinki grupy „O” uległy aglutynacji na szkiełku przedmiotowym w przeciągu 10—15 minut pod wpływem surowicy grupy „B”.

6) Czerwone ciała krwi grupy „B” impregnowano hemolizatem własnym i hemolizatem z krwinek grupy „O” z dodatkiem adrenaliny. Po lekkim odwirowaniu ulegają krwinki tej grupy aglutynacji.

7) Tak przygotowane krwinki grupy „B” ulegają również aglutynacji przez autogeniczną surowicę w przeciągu 10—15 minut.

Z powyższych doświadczeń możnaby wysnuć następujące wnioski:

1) W czerwonych ciałkach krwi prawidłowych są zawarte aglutyniny i hemolizyny.

2) Hemolizatami z czerwonych ciałek krwi można impregnować czerwone ciała krwi innego gatunku zwierząt, względnie grup.

3) Hemolizaty niektórych gatunków czerwonych ciałek krwi posiadają zdolność aglutynacji i hemolizy, podobnie jak surowice heterogenetyczne, względnie obce grupowo.

4) Hemolizaty z impregnowanych czerwonych ciałek krwi aglutynują najsilniej i najszybciej prawidłowe czerwone ciała krwi autogeniczne (tego samego osobnika), słabiej natomiast, względnie w zupełności nie dają odczynu z temi właśnie ciałkami krwi, których hemolizatów użyto do impregnacji.

5) Surowice autogeniczne aglutynują swoje własne czerwone ciała krwi zmienione grupowo przez impregnację.

6) Odczyny są bardziej wyraźne po impregnacji czerwonych ciałek krwi oprócz hemolizatem obcym grupowo, jeszcze hemolizatem autogenicznym, przyczem hemolizat autogeniczny (względnie zawarta w krwinkach adrenalina i inne ciała czynne), zdaje się być czynnikiem ułatwiającym penetrację aglutynin obcych grupowo do czerwonych ciałek krwi.

Iniekcje hemolizatów czy to ze zmienionych przez impregnację innemi hemolizatami krwinek, czy też mieszaniny różnych hemolizatów zachowują swoje właściwości pokrywające się naogół z doświadczeniami *in vitro*.

Wstrzykiwanie mieszaniny hemolizatów z czerwonych ciałek krwi homologicznych i heterologicznych.

Nr. 5. Pies, wagi 3200 g, uśpiony chloralożą, otrzymuje dożylnie 3,5 cm³ mieszaniny czerwonych ciałek krwi psa i królika. Czerwone ciała krwi wzięto z krwi zwierząt najedzonych. Krew przed wstrzyknięciem zhemolizowano wodą przekroploną i zizotonizowano.

Ciśnienie krwi ze 106 mmHg podnosi się na początku wstrzyknięcia na przeciąg kilkunastu sekund do wysokości 146 mmHg, następnie bardzo szybko opada do 24 mmHg, po kilkudziesięciu minutach przekracza nawet normę (106 mm Hg), osiągając wysokość 160 mm Hg.²³⁾

Nr. 1. Pies, wagi 6,5 kg, w chloralozie, otrzymuje dożylnie 6 cm³ mieszaniny przemytych i zhemolizowanych czerwonych ciałek krwi królika i psa w stosunku 1 : 1. Hemolizat przed wstrzyknięciem został poddany działaniu aktywnego węgla zwierzęcego przez 15 minut. Krew biano od zwierząt niegłodzonych.

Ciśnienie krwi z 196 mm Hg w czasie wstrzyknięcia podnosi się na 206 mm Hg poczem opada na 82 mm Hg.

Krzepliwość krwi przed wstrzyknięciem wynosi 11', po wstrzyknięciu 4—8'.

Nr. 8. Pies, wagi 5,5 kg, w chloralozie, otrzymuje dożylnie 5 cm³ mieszaniny przemytych i zhemolizowanych czerwonych ciałek krwi królika i psa w stosunku 1 : 1. Zwierzęta, od których pobrano czerwone ciała krwi, były przez 6 dni głodzone.

Ciśnienie krwi ze 186 mm Hg spada na 56 mm Hg. Spadek jest bardziej krótkotrwały, aniżeli w doświadczeniach poprzednich.

Krzepliwość krwi prawie prawidłowa.

Nr. 9. Królik, wagi 1800 g, otrzymuje dożylnie 2 cm³ mieszaniny czerwonych ciałek krwi psa i królika przemytych i zhemolizowanych.

²³⁾ Krzywe ciśnienia krwi są przedstawione w oryginalnej pracy cytowanej wyżej.

Ciśnienie krwi podnosi się początkowo ze 162 mm Hg na 180 mm Hg, opada szybko do 142 mm Hg przy zaburzeniach oddechowych i akcji serca, wreszcie podnosi się do 178 mm Hg.

Surowica jest silnie zabarwiona na czerwono.

Nr. 11. Kot, wagi 3800 g, w chloralozie, otrzymuje dożylnie 3.5 cm^3 zhemolizowanych i przemytych czerwonych ciałek krwi świni domowej. Hemolizat po zizotonizowaniu był odwirowany od zrzębu (od flokulatów).

Ciśnienie krwi z 90 mm Hg w czasie wstrzyknięcia opada na 78 mm Hg, bezpośrednio po wstrzyknięciu podnosi się do 144 mm Hg. Podniesienie ciśnienia trwa około 3-ch minut.

Zhemolizowane czerwone ciała krwi świni domowej w stosunku 1 cm^3 na 5 cm^3 wody przekroplonej działają silnie rozszerzająco na źrenicę izolowanego oka żaby.

Nr. 13. Kot, wagi 3450 g, w chloralozie, otrzymuje dożylnie mieszaninę zhemolizowanych czerwonych ciałek krwi kota i świni domowej w stosunku 1 : 1, w ilości 4 cm^3 czerwonych ciałek krwi. Hemolizat stał w lodowni przez 18 godzin. Hemolizat przed wstrzyknięciem odwirowano, celem usunięcia flokulatów (zrzębu).

Ciśnienie krwi ze 176 mm Hg opada nagle już w czasie wstrzykiwania i w przeciągu 2 minut zwierzę ginie wśród objawów wstrząsu anafilaktycznego. (Oddawanie kału i moczu, wreszcie porażenie oddechania, przy trwającej jeszcze przez pewien czas akcji serca.

Wnioski: 1) Impregnacja autogenicznych, względnie homologicznych czerwonych ciałek krwi hemolizatami z krwinek obcych grupowo zwierząt, bądź impregnacja wyciągami z tkanek zwierzęcych, może przy wprowadzeniu dożylnem hemolizatów ze zmienionych w ten sposób krwinek, wywołać śmiertelny wstrząs.

2) Odwirowanie materiału wprowadzonego nie ma wpływu na odczynny ustroju, gdyż wprowadzone ciała czynne wywierają swój efekt działania na naczynia krwionośne. Przebieg wstrząsu jest łagodniejszy.

Objawy wstrząsowe występujące po przetaczaniu krwi grupowo zmienionej wskutek impregnacji czerwonych ciałek krwi hemolizatami z krwinek grupowo obcych lub wyciągami z tkanek.

Zmianę grupowego charakteru czerwonych ciałek krwi po impregnacji, oprócz doświadczeń przeprowadzonych z odczynami aglutynacji i hemolizy in vitro, potwierdzają objawy wstrząsowe, występujące po iniekcjach śródżylnych czerwonych ciałek krwi impregnowanych hemolizatami z krwinek zwierząt grupowo obcych, względnie wyciągami z tkanek.

Doświadczenia takie możnaby przeprowadzić również z krwinkami zmienionymi przez absorpcję aglutynin bakteryjnych, roślinnych, względnie innych ciał, działających bądź aglutynująco, bądź hemolitycznie. Doświadczenia takie niezawodnie przyczyniłyby się do dokładniejszego poznania zmian zachodzących w krwinkach przy tego rodzaju zabiegach, jak również w stanach patologicznych, przy zakażeniu ustroju bakteriami, zatruciach, anemji robakowej i innych.

Materiał do iniekcji śródżylnych przygotowywano podobnie jak do doświadczeń in vitro. Poza tem wprowadzano śródżylnie jeszcze mieszaniny hemolizatów grupowo różnych, uwzględniając również czynnik głodzenia zwierząt, od których materiał do doświadczeń był pobierany.

Hemolizat z krwinek autogenicznych i homologicznych w ilości 1 cm³ krwinek na jeden kilogram wagi zwierzęcia ssącego (psy, króliki, świnia domowa, świnka morska i in), nie wywołuje żadnych zmian w ciśnieniu krwi. Hemolizaty z krwinek heterogenetycznych, wprowadzone śródżylnie, spowodzić mogą spadek ciśnienia krwi. Zwykle jednak spadek ten jest mały i krótkotrwały (trwający zaledwie kilkanaście sekund). Krzepliwość krwi jest raczej przyśpieszona, tak po hemolizatach homo, jak heterogenetycznych.

Jeżeli natomiast wprowadzamy śródżylnie hemolizaty z krwinek homologicznych, względnie autogenetycznych, jednak uprzednio impregnowanych hemolizatami obcych ciałek, względnie wyciągami z tkanek, dalej mieszaniny hemolizatów, jak

wyżej, otrzymujemy wybitny i długotrwały spadek ciśnienia krwi i jej zwiększoną niekrzepliwość. Objawy wstrząsowe są niejednokrotnie tak silne, że kończą się śmiercią zwierzęcia.

Podkreślić wypada, że siła działania czerwonych ciałek krwi, zarówno impregnowanych, jak i służących do impregnacji, zależy w wysokiej mierze od stopnia głodzenia ustroju, z którego krew do doświadczeń pobieramy.

Wstrzykiwanie czerwonych ciałek krwi homologicznych, impregnowanych hemolizatem z czerwonych ciałek krwi innego gatunku.

Metodyka zastosowana w tej grupie doświadczeń nie różniła się od metodyki, jakiej używano przy zmianie charakteru grupowego krwinek w badaniach *in vitro*.

Nr. 6. Pies, wagi 7,5 kg, uśpiony chloralozą, otrzymuje dożylnie 4 cm³ czerwonych ciałek krwi własnego gatunku, impregnowanych przedtem hemolizatem z czerwonych ciałek krwi królika, głodzonego przez 5 dni. Czerwone ciała krwi psa impregnowano przez 40 minut w cieplecie 37° C. Po dokładnem przemyciu hemolizowano je wodą przekroploną.

Po zastrzyku krzepliwość krwi zostaje przyśpieszona. Ciśnienie krwi ze 196 mm Hg spada do 104 mm Hg.²⁴⁾

Nr. 7. Pies, wagi 5,6 kg, uśpiony chloralozą, otrzymuje dożylnie 5 cm³ czerwonych ciałek krwi, homologicznych, impregnowanych przez 1 godzinę hemolizatem z czerwonych ciałek krwi królika w stosunku 1 : 1, w cieplecie 37° C.

Zwierzęta, od których pobierano krew były głodzone przez 6 dni.

Ciśnienie krwi z 220 mm Hg spada na 182 mm Hg.

Nr. 61. Królik, wagi 1930 g, otrzymuje dożylnie 1,5 cm³ czerwonych ciałek krwi, impregnowanych hemolizatem z czerwonych ciałek krwi własnego gatunku, które były przedtem impregnowane wyciągiem z płuc królika dojrzałego.

²⁴⁾ Krzywe ciśnienia podano w *Pol. Gaz. Lek.* Nr. 36, 1931.

Ciśnienie krwi w czasie zastrzyku podnosi się, ze 140 mm Hg na 146 mm Hg, po 2 minutach 40 sekundach opada do 136 mm Hg, po dalszych 30 sekundach, przy zwiększonej akcji serca i zwolnionym oddechu podnosi się do 156 mm Hg, po kilku zaś następnych minutach osiąga poziom 178 mm Hg.

Po kilkudziesięciu minutach ciśnienie krwi szybko opada do zera, zwierzę ginie wśród objawów wstrząsu.

Wnioski: 1) Impregnacja homologicznych czerwonych ciałek krwi hemolizatem z czerwonych ciałek krwi innego gatunku zwierzęcia prowadzi do silnego spadku ciśnienia krwi, który może się skończyć śmiercią zwierzęcia.

2) Krew i tkanki zwierząt głodzonych zawierają po dłuższym głodzeniu mniej ciał czynnych, stąd niektóre odczyny biologiczne, otrzymane przy pomocy czerwonych ciałek krwi zwierząt głodzonych, są słabsze.

(Ciąg dalszy nastąpi).

BUDOWA KWASU ASKORBINOWEGO — WITAMINY C.

Zgłosił

A. ZŁOTNIK.

(Referat wygłoszony na posiedzeniu Polskiego Towarzystwa Chemicznego, dn. 8-go listopada 1934 r.)

Kwas l-askorbinowy, produkt niewątpliwie identyczny z witaminą C, był w ostatnich latach przedmiotem licznych badań, które doprowadziły do prawie całkowitego wyjaśnienia jego budowy chemicznej. Początek tych badań datuje się już oddawna. Było wiadomo, że świeżo wyciśnięty sok z komórki zwierzęcej posiada własności redukcyjne. W roku 1928 Szent-Györgyi¹⁾ wyodrębnił z nadnercza wołowego ową redukującą substancję, otrzymał ją w postaci krystalicznej i częściowo zanalizował. Okazało się, że substancja ma własności kwasu, wzór sumaryczny $C_6H_8O_6$, p. t. 185—6° C; skręca płaszczyznę światła spolaryzowanego na prawo, w roztworze wodnym $\alpha_D = 23—31^\circ$, redukuje na zimno płyn Fehlinga i zakwaszone roztwory jodu i azotanu srebra. Opierając się na wzorze sumarycznym, Szent-Györgyi uważał otrzymany związek za lakton kwasu heksuronowego.

Było wiadomo ze starszych prac, że choroba gnilec-skorbut jest awitaminozą C. Witamina C znajduje się w świecie roślinnym; przez spożywanie owoców, liści, dostaje się do organizmów zwierzęcych. Jest ona bardzo czuła na działanie tlenu powietrza, dłuższe zetknięcie z powietrzem niweczy jej działanie przeciwnieciowe. Holstein i Fröhlich, karmiąc świnkę

¹⁾ Biochemical I. 22, 1387 (1928).

morską pokarmem pozbawionym witaminy C, wywołali u niej typowy gnilec. Dzięki temu doświadczeniu, zakładając, że dawka zapobiegająca zapadnięciu na gnilec świnki morskiej, określonej wagi, jest wielkością stałą, zdobyto biologiczną metodę ilościowego oznaczenia zawartości witaminy C w jej roztworach. Jako reakcje jakościowe służyły zdolność redukowania roztworu kwasu fosforomolibdenowego i odbarwiania roztworów pochodnych indofenolu.

W 1932 r. Tillmanns²⁾ drogą systematycznych oznaczeń wykazał, że istnieje ścisła proporcjonalność między ilością witaminy C w wyciągach roślinnych, oznaczoną na drodze biologicznej, a zdolnością redukowania jodu, azotanu srebra w roztworach kwaśnych, oraz, co okazało się bardzo cenne, dwuchlorofenolindofenolu. Wkrótce po tem wykazał Szent-Györgyi³⁾, że wyodrębniona przez niego z nadnercza substancja, oceniona jako lakton kwasu heksuronowego jest identyczna zarówno pod względem zdolności redukcyjnej, jak i działania przeciwnieciowego w organizmie zwierzęcym z witaminą C i nazwał tę substancję kwasem askorbinowym.

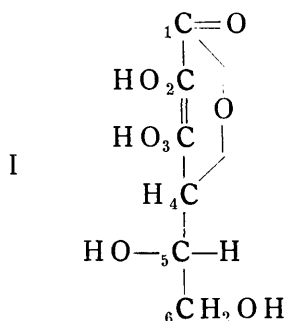
Natychmiast rozpoczęto szereg prac nad otrzymaniem wolnego kwasu askorbinowego z pierwszego jego źródła — z roślin. Ostatecznie udało się Svirbely'owi i Szent-Györgyi'owi⁴⁾ otrzymać kwas askorbinowy z dobrą wydajnością (około 0,5‰) z owoców papryki (*Capsicum annum*, rodzina *Solanaceae*). To przyczyniło się do szybkiego postępu badań nad kwasem askorbinowym.

Już Szent-Györgyi, analizując kwas askorbinowy, otrzymany po raz pierwszy z nadnercza, stwierdził, że 1 mol kwasu zużywa wobec fenoloftaleiny 1 równoważnik NaOH i redukuje 2 równoważniki jodu w roztworze kwaśnym. Hirst⁵⁾ i Karrer⁶⁾ otrzymali produkty kondensacji kwasu askorbinowego z fenylohydrazyną i jej pochodniami. Stwierdzili, że z jednym molem kwasu kondensują dwa mole fenylohydrazyny i wywnioskowali, że w cząsteczce kwasu askorbinowego istnieją dwie grupy

²⁾ Biochem. Zschr. 250, 312 (1932).

³⁾ Nature, 576 (1932). ⁴⁾ Biochemical J. 27, 279 (1933). ⁵⁾ Nature, 888 (1932). ⁶⁾ Vierteljahrschr. nat. Ges. Zurich, 78, 9 (1933).

karbonylowe. Ci sami badacze wykonali też cały szereg prób utleniania i estryfikacji, ułożono także mnóstwo wzorów, których główną zasadą było, że obok dwóch grup CO istniała w cząsteczce kwasu askorbinowego grupa kwasowa COOH — karboksylowa. Po żywej dyskusji wszystkie te wzory upadły i ostatecznie przyjęto zaproponowany przez Hirsta i uzasadniony przez Hawthorth'a i Mich'eel'a⁷⁾ wzór:



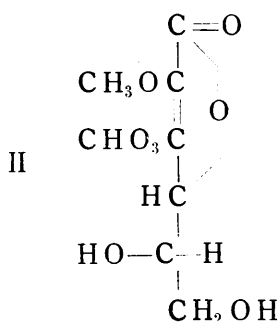
Charakterystyczna jest obecność dwóch enolowych grup hydroksylowych przy wiązaniu etylenowym, które jest złączone z grupą laktonową. Taki pierścień jest trwały i bardzo odporny na działanie alkaliów, jeden zaś z enolowych hydroksylów jest oznaczalny ługiem wobec fenoloftaleiny. Jako dowód służy dwumetyloaskorbinowy kwas, (wzór II) produkt metylowania kwasu askorbinowego dwuazometanem. Dwumetyloaskorbinowy kwas nie posiada ani kwaśnych, ani redukcyjnych własności witaminy i jest przeciwniecznie nieczynny. Po zmydleniu dwumetyloaskorbinowego kwasu przez energiczne i długie działanie ługu sodowego, otrzymuje się sól sodową⁸⁾ o zawartości dwóch grup metoksyliowych w cząsteczce. Jestto dowód, że grupa kwasowa jest związana laktonowo, nie zaś zestryfikowana alkoholem metylowym.

Podobnie jak dwumetyloaskorbinowy kwas kondensuje kwas askorbinowy z acetonem na związek izopropylidenu⁹⁾ Izopropylidenoaskorbinowy kwas (wzór IV) posiada te same własności kwaśne i redukcyjne, co witamina, natomiast nie ujawnia

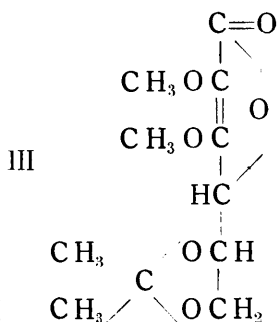
⁷⁾ Zschr. phys. Chemie, 218, 280 (1933); 222, 235 (1933).

⁸⁾ H i r s t. Z. 1933, I, 3733. ⁹⁾ M i c h e e l. Naturwiss, 21, 63 (1933); Zschr. phys. Chem. 216, 234 (1933).

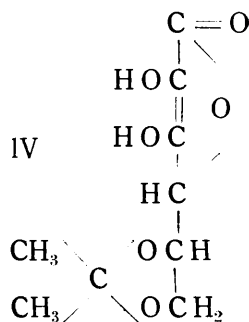
żadnego działania przeciwnilcowego w organizmie zwierzęcym. O ile natomiast rozszczepimy kwas izopropylidenoaskorbinowy¹⁰⁾ i zregenerujemy kwas askorbinowy, to otrzymamy produkt o tem samym fizjologicznem działaniu przeciwnilcowem, co witamina. Fakty powyższe okazały się wysokiej wagi. Dały one rozstrzygającą odpowiedź na dotychczasową wątpliwość: czy kwas askorbinowy, jest naprawdę identyczny z witaminą C, czy może działanie przeciwnilcowe należy przypisać drobnej domieszce witaminy? Powiększały tę wątpliwość wyniki badań biologicznych, które wykazały, że dawka zapobiegająca awitaminozie C jest od 100—1.000 razy większa od dawek zapobiegawczych innych witamin. Regeneracja czynnego przeciwnilcowo kwasu askorbinowego z nieczynnego związku izopropylidenowego, wielokrotnie oczyszczonego, potwierdziła, że kwas askorbinowy jest identyczny z witaminą C. To samo później dobitniej potwierdziły syntezы. Kwas izopropylidenoaskorbinowy, posiadający te same własności kwaśne i redukcyjne, co witamina, dostarcza pozatem dowodu, że grupy metylowe w izopropylidenodwumetyloaskorbinowym kwasie (wzór III) stoją na miejscu wodorów w enolowych grupach hydroksylowych, oprócz tego znajdują się w cząsteczce dwie grupy hydroksylowe, zdolne do kondensacji z acetonem¹¹⁾. Z tych jedna jest pierwszorzędna, gdyż tylko jedna kondensuje z trójfenylochlorometanem.



Kwas
dwumetyloaskorbinowy.



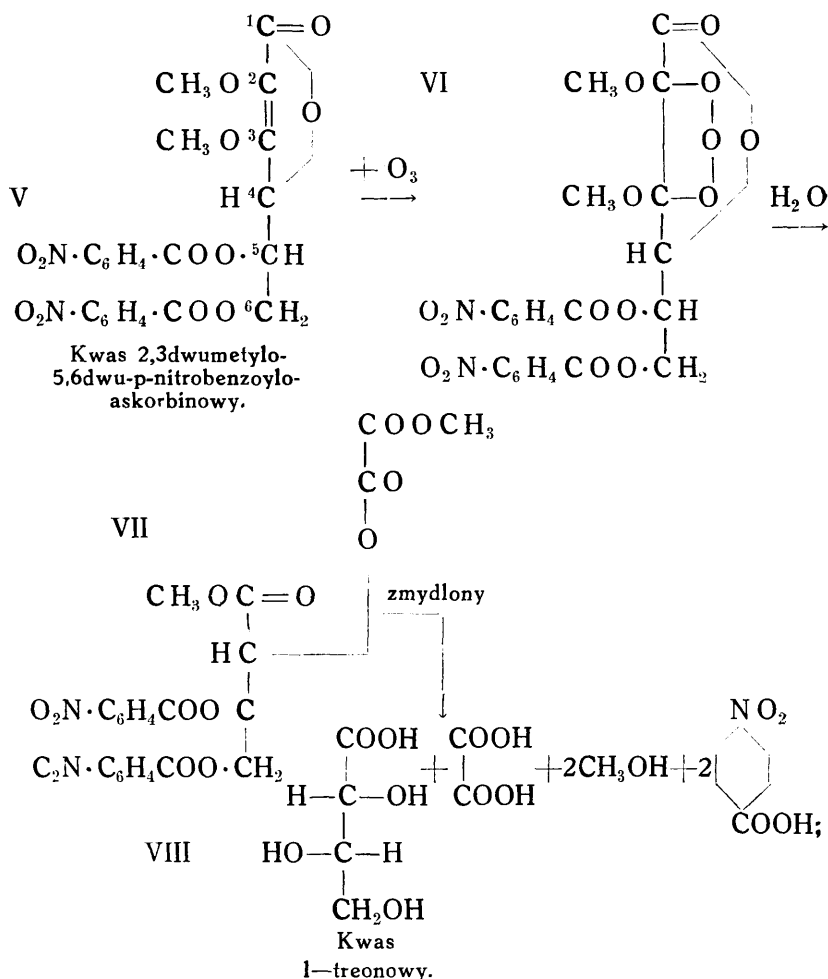
Kwas izopropylideno-
dwumetyloaskorbinowy.



Kwas
izopropylideno-
askorbinowy

¹⁰⁾ K a r r e r. Biochem. Zschr. 258, 4 (1933); M i c h e e l. Zschr. phys. Chemie 216, 233 (1933). ¹¹⁾ K a r r e r. Helv. Chim. Acta 16, 302 (1933).

Ostatecznem wyjaśnieniem ułożenia atomów w cząsteczce kwasu askorbinowego, dowodem istnienia trwałego wiązania laktonowego, wiązania etylenowego między węglami 2 i 3, oraz prostego łańcucha węglowego jest zbadanie produktów rozpadu ¹²⁾ kwasu askorbinowego pod działaniem ozonu. Do reakcji użyto 2,3 dwumetylo—5, 6 dwu-p-nitrobenzoyloaskorbinowego kwasu (wzór V), którego dwie grupy p-nitrobenzoesowe estryfikują te hydroksyle, z którymi związana jest reszta acetonowa w izopropylidenodwumetyloaskorbinowym kwasie.



¹²⁾ M i c h e e l. Zschr. phys. Chemie, 215, 215 (1933); 222, 235 (1933).

Rozpad ozonowy prowadzi do estru metylowego kwasu l-treonowego (wzór VII), którego dwa hydroksyle są estrowo związane z grupą p-nitrobenzoesową, trzeci zaś z grupą metyloszczawianową. Rozpad cząsteczki na dwie części wskutek trwałości pierścienia nie nastąpił. Po zmydleniu otrzymanego związku otrzymujemy alkohol metylowy, kwas szczawiowy i obok dwóch cząsteczek kwasu p-nitrobenzoesowego kwas l-treonowy, zidentyfikowany jako fenylohydrazyd. Podobne doświadczenie było wykonane na czterometyloaskorbinowym kwasie¹³⁾ i otrzymano kwas dwumetylo-l-treonowy. Identyfikacja kwasu l-treonowego dostarcza dowodu, że witamina C, czyli kwas askorbinowy należy do l-szeregu monoz, podczas gdy heksozy, o ile znajdują się w przyrodzie należą do szeregu d. Wreszcie jasne staje się także proste związanie węgla w cząsteczce kwasu askorbinowego, bez rozgałęzień¹⁴⁾.

Tą drogą została stwierdzona rola tlenu w cząsteczce, obecność dwuenolowego wiązania podwójnego, pozostało zbadanie, czy jestto pierścień furoidowy, czy pyroidowy.

Według Criegee'go przez utlenienie α -glikoli z jedną przynajmniej pierwszorzędną grupą alkoholową czteroocianem ołowiu otrzymuje się zawsze formaldehyd. Cukry, w których, w sąsiedztwie α z węglem, posiadającym pierwszorzędną grupę alkoholową, znajduje się węgiel związany z hydroksylem, utlenione według Criegee'go¹⁵⁾ dają w produktach utlenienia formaldehyd. O ile witaminie przypiszemy pierścień furcidowy, to utleniona według Criegee'go powinna dać formaldehyd, o ile zaś pyroidowy obecność formaldehydu nie powinna być stwierdzona (najwyżej w małej ilości). Karrer¹⁶⁾ wykonał badanie na kwasie askorbinowym i formaldehydu nie otrzymał. Michell¹⁷⁾, uważając, że tak łatwo utlenialny związek, jak kwas askorbinowy, może ulec w czasie utleniania

¹³⁾ H a w o r t h i H i r s t. J. chem. Soc. 32, 1270, 1933.

¹⁴⁾ Angewan. Ch. 550, 1934.

¹⁵⁾ A. 495, 218, 1932.

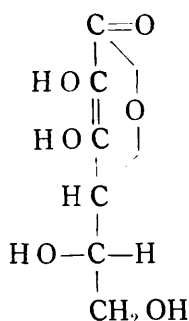
¹⁶⁾ Helv. Chim. Acta, 16, 303, 1933.

¹⁷⁾ Zschr. phys. Ch. 222, 242, 1933.

innej nienormalnej odbudowie, wykonał utlenienie według Criegee'go na dwumetylcaskorbinowym kwasie i otrzymał 70% teorji aldehydu mrówkowego.

Jako ostateczny dowód istnienia pierścienia furoidowego w cząsteczce kwasu askorbinowego służy zbadanie produktów kontaktowej redukcji ¹⁸⁾ kwasu askorbinowego wodorem, w warunkach łagodnych. W wyniku redukcji pierścienia furoidowego otrzymanoby γ -laktony kwasów heksonowych, pyroidowego — δ -laktony. Wiadomo, że czas ustalenia się równowagi między γ -laktonem, a kwasem jest długi i trwa wiele dni, podczas gdy δ -laktonów jest krótki i trwa kilka godzin. Pozatem laktony odznaczają się wielokrotnie większą skręcalnością, aniżeli kwasy, tak że zmiana skręcalności świadczy o stopniu przejścia laktonu w kwas. Otrzymana w wyniku redukcji mieszanina laktonów w przeciągu 24-ch pierwszych godzin po reakcji nie wykazywała żadnej zmiany skręcalności ¹⁹⁾. Jest to dowód, że otrzymano γ -laktony, czyli, że pierścień w kwasie askorbinowym jest furoidowy. Były spodziewane w wyniku redukcji kwasu askorbinowego laktony kwasów l-talonowego, l-galaktonowego, l-gulonowego i l-idonowego. Kwas l-idonowy udało się zidentyfikować w postaci fenylhydrazidu.

Na tych zasadach pozostaje do przyjęcia dla kwasu askorbinowego wzór (I):

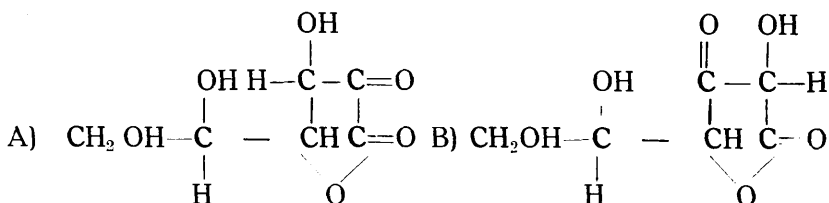


Niezbadana jednak nadal pozostaje kwestja, czy kwas askor-

¹⁸⁾ J. Chem. Soc. 32, 1270, 1933.

¹⁹⁾ M i c h e e l. Zschr. phys. Chemie, 222, 242, 1933.

binowy pozostaje stale w formie enolowej, czy przechodzi w formę ketonową A lub B:



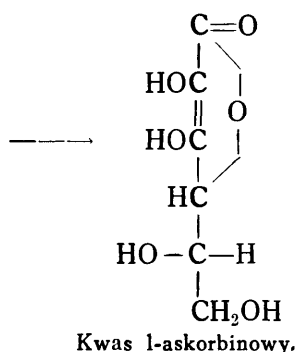
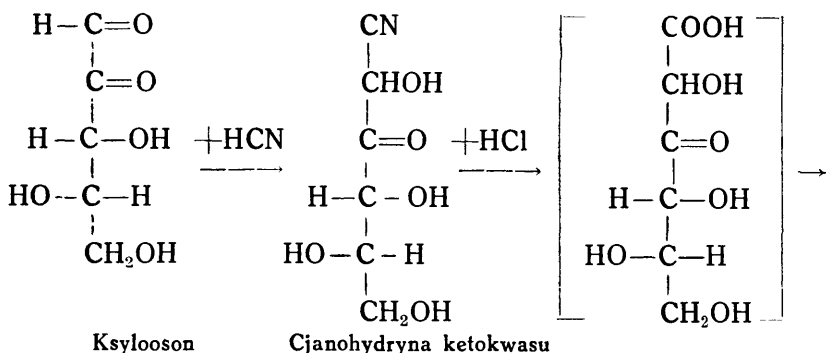
oraz, jakie są warunki przejścia i w rezultacie warunki równowagi.

W czasie badań nad budową kwasu askorbinowego zostały wykonane liczne syntezy kwasu askorbinowego. Cechą wszystkich syntez, które stosują jako produkt wyjściowy cukry naturalne, jest przekształcenie ich z d-formy w l-formę. Pierwsza synteza została prawie równocześnie wykonana przez Reichsteina²⁰⁾ i Hawortha²¹⁾. Jako wzorzec dla syntez kwasu askorbinowego posłużyły prace Ohlęg²²⁾ nad ketokwasami szeregu cukrowego. Działanie krótkotrwałe alkaliów, lub dłuższe działanie kwasów powoduje przemianę ketokwasu w związki o silnie rozwiniętych własnościach redukcyjnych. Przyglądając się formom ketonowym kwasu askorbinowego, staje się jasne, że jako produkt wyjściowy może służyć bądź 2, bądź 3 ketokwas. Pierwsza synteza była wykonana na 3-ketokwasie. Jej autorzy, Reichstein i Haworth wyszli z l-ksyloosonu, który z HCN daje nityryl kwasu ketoheksanowego, ten, zmydlony kwasem solnym, daje kwas (β lub) 3-ketoheksanowy, który po zlaktonizowaniu przechodzi w l-askorbinowy kwas, o identycznych własnościach zarówno chemicznych i fizycznych, jak i fizjologicznych, co witamina C, otrzymana bądź z nadnercza, bądź z roślin. Tą drogą otrzymano także antypod optyczny witaminy C, kwas d-askorbinowy.

²⁰⁾ Helv. Chim. Acta, 16, 1020, 1933.

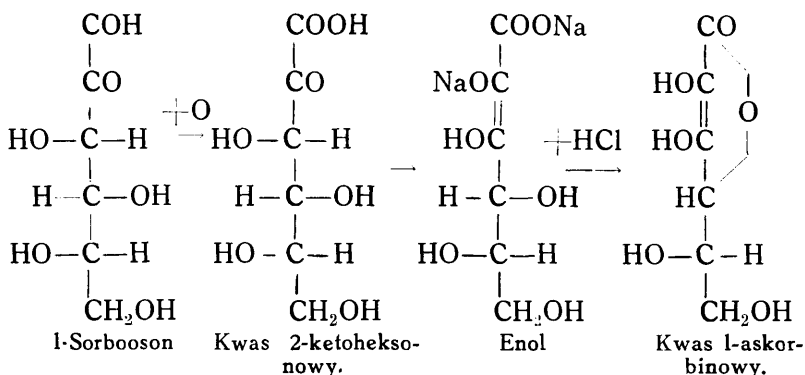
²¹⁾ J. Chem. Soc. 32, 1270, 1933.

²²⁾ B. 67, 324, 1933.



Otrzymanie l-ksyloosonu następuje dużo trudności, albowiem należy wyjść z kwasu d-galakturnowego, który zredukowany daje kwas l-galaktonowy, ten zaś odbudowany do l-liksczy, epimerycznej z l-ksylozą, daje osazon, który rozszczepiony benzaldehydem daje l-ksylooson. Wobec tego *M i c h e e l*²³⁾ obrał drogę przez 2-ketohexosowy kwas; mianowicie l-sorbozę, ketozę, którą łatwo otrzymać przez utlenienie sorbitu przy pomocy *Bacterium xylinum*, przeprowadził w l-sorbozon; ten utleniony daje kwas 2-ketohexosowy. Kwas ten pod działaniem alkaliów enolizuje się, po zakwaszeniu zaś laktonizuje, dając kwas l-askorbinowy:

²³⁾ Naturwiss. 22, 206, 1934. Zschr. phys. Chemie, 218, 280, 1934.



Podczas enolizacji możliwym jest powstanie dwóch izomerów cis i trans, przyczem podczas działania kwasem tylko izomer cis ulega laktonizacji, zaś izomer trans przechodzi w produkt wyjściowy. Do tego samego doszedł Reichstein, który omijając stadjum enolizacji alkajami, ogrzewał 2-keto-1-gulonowy kwas z rozcieńczonym kwasem mineralnym i otrzymał kwas l-askorbinowy. Jeszcze lepszą wydajność dwuenolu otrzymuje się, postępując według sposobu Ohle'go i Maurera²⁴⁾. Hydrolizując ester kwasu 2-ketohexsonowego alkoholanem sodowym w roztworze bezwodnego alkoholu tworzy się gładko dwuenol, który przez zakwaszenie laktonizuje się i daje izomer witaminy. Otrzymali oni z 2-keto-d-glukonowego kwasu izomer witaminy, zaś Reichstein²⁵⁾ według tej metody z estru kwasu 2-keto-1-gulonowego otrzymał kwas l-askorbinowy. Kwas 2-keto-1-gulonowy otrzymuje się z l-sorbozy, przez acetonozwiązek, który utleniony przechodzi w acetonopochodną kwasu 2-keto-1-kulonowego; wydajność kwasu l-askorbinowego wynosi około 15%, licząc na wyjściowy sorbit. To też synteza ta może mieć znaczenie techniczne. Oprócz tego Haworth i jego szkoła otrzymali cały szereg izomerów kwasu askorbinowego, których działanie przeciwnilcowe jeszcze nie zostało zbadane. Z pośród otrzymanych i zbadanych izomerów kwasu askorbinowego jego antypod optyczny kwas d-askorbinowy i izomer

²⁴⁾ B. 63, 155, 852, 1930; B. 66, 1054, 1933; B. 67, 1239, 1934.

²⁵⁾ Helv. Chim. Acta, 17, 311, 1934.

Ohlęgo i Maurera wykazują słabe działanie przeciwnilcowe.

O ile na zasadzie powyższego jesteśmy w stanie dać uzasadnioną odpowiedź, czym jest kwas askorbinowy, to całkowicie nieznana jest jego rola zarówno w organizmie roślinnym, jak i zwierzęcym oraz, jaki związek zachodzi między własnościami fizjologicznymi, a budową chemiczną kwasu askorbinowego.

Jak wykazują liczne badania, kwas askorbinowy jest bardzo rozpowszechniony w świecie roślinnym. Za źródło technicznego otrzymywania kwasu w obecnej chwili może służyć papryka²⁶⁾, lub głóg, z którego Tillmanns²⁷⁾ otrzymał witaminę C. Organizmom zwierzęcym jest witamina C niezbędna, dawka dzienna, zapobiegająca awitaminozie, wynosi dla człowieka 30—60 mg²⁸⁾. Zapotrzebowanie na witaminę C pokrywa człowiek głównie ze spożywanych świeżych owoców i jarzyn. Przez stykanie się witaminy C z powietrzem następuje jej utlenienie, przyczem traci ona swe własności fizjologiczne. Temperatura, np. gotowanie przyspiesza proces utlenienia. Nie jest także obojętne P_H ²⁹⁾ środowiska, w którym witamina się znajduje. W środowisku kwaśnym jest ona najtrwalsza. Już p^H między 6—7 szybkość utleniania jest znaczna, zaś w roztworach alkalicznych jest zupełnie nietrwała. Utleniona witamina pod działaniem HJ i podobno częściowo pod działaniem H_2S ³⁰⁾ redukuje się i zpowrotem otrzymuje swe działanie fizjologiczne; wodór utlenionej witaminy nie redukuje.

Opierając się na silnie redukcyjnych własnościach kwasu askorbinowego, jest wysuwana luźna hipoteza o roli kwasu askorbinowego w organizmach zwierzęcych; ma on działać jako bufor, hamujący działanie oksydaz³¹⁾. Można wysunąć zażut, dlaczego izopropylidenoaskorbinowy kwas lub inne izomery kwasu askorbinowego, które mają te same własności redukcyjne, co witamina, działania przeciwnilcowego nie posia-

²⁶⁾ Vide 4).

²⁷⁾ Zschr. Untersuch. Lebensmittel, 65, 145, 1933.

²⁸⁾ Dalmar i Moll: Zschr. phys. Chemie, 222, 116, 1933.

²⁹⁾ Cultrera: Ind. ital. C. Alim. 9, 918, 1934.

³⁰⁾ Johnson: Biochemical J. 27, 1287, 1933.

³¹⁾ Szent-Györgyi: Angew. Ch. 3313, 1933.

dają. K a r r e r ³²⁾ wykrył, że kwas l-askorbinowy aktywuje fermenty, rozszczepiające białko, z czego wniosków o roli kwasu askorbinowego w organizmie zwierzęcym nie wyciąga.

Należy nadmienić, że nie wszystkie zwierzęta w braku witaminy C w spożywanych przez nie pokarmach zapadają na gnilec. Kury, szczury, myszy nigdy chorobie tej nie ulegają. Nasuwa to luźne przypuszczenie, że zwierzęta te są w stanie syntetyzować kwas askorbinowy i, że w ich ustroju kwas askorbinowy gra rolę hormonu. I tu napotykamy nowy problem: z czego byłby kwas askorbinowy syntetyzowany? Nie wiemy nic o genetycznym związku między kwasem l-askorbinowym, a cukrami znajdującymi się w przyrodzie. M i c h e e l ³³⁾ dziwi, się, że kwas askorbinowy, który posiada w prostym łańcuchu 6 węgli wogóle nie stoi w żadnym pokrewieństwie z heksozami, które, o ile występują w przyrodzie, są konfiguracji d; zaś kwas askorbinowy — witamina C należy niewątpliwie do szeregu l.

Reguła, jakoby występujące w przyrodzie heksozy były tylko konfiguracji d, niecałkowicie się sprawdza, otóż istnieje wyjątek, niepodany przez M i c h e e l a, l-galaktoza. l-Galaktozę obok antypodu d znaleźli w japońskim Nori Oshima i Tollens ³⁴⁾ oraz w Chagnalgunmie — Winterstein ³⁵⁾. Ostatnio znalazł A n d e r s o n ³⁶⁾ w szlamie nasion lnianych 11% l-galaktozy obok kwasu d-galakturowego, l-arabinozy i d-ksylozy.

Jest godne omówienia, że dotychczas nikt nie zwrócił uwagi na pewne sąsiedztwo kwasu askorbinowego w organizmach roślinnych, mianowicie związki pektynowe. Związki pektynowe są bardzo rozpowszechnione w świecie roślinnym i stanowią lepiszcze, spajające komórki roślinne. Z badań nad związkami pektynowymi S u a r e z a ³⁷⁾, S m o l e Ń s k i e g o i W ł o s t o w s k i e j ³⁸⁾ oraz E h r l i c h a ³⁹⁾ wynika, że podstawową sub-

³²⁾ Helv. Chim. Acta, 16, 702, 1933.

³³⁾ Angew. Ch. 550, 1934.

³⁴⁾ B. 34, 1424.

³⁵⁾ B. 31, 1572.

³⁶⁾ J. Biol. Ch. 100, 249, 1933.

³⁷⁾ Ch. Zg. 41, 87, 1917.

³⁸⁾ Roczniki Ch. 6, 743, 1926; 7, 636, 1927.

³⁹⁾ B. 62, 1974, 1933.

galakturonowego zostało wykonane przez Ohle'go, zaś od kwasu d-galakturonowego do l-galaktonowego przez Hawthorth'a⁴⁰⁾ oraz Smoleńskiego i Złotnika⁴¹⁾. Opierając się na tłumaczeniu genezy l-galaktozy kolejnym działaniem oksydaz i redukaz na d-galaktozę, można wyjaśnić genezę kwasu l-askorbinowego działaniem tych samych fermentów. Przez utlenienie kwasu l-galaktonowego miałby powstać kwas 2-keto-l-galaktonowy, a ten łatwo się laktonizuje i przechodzi w kwas l-askorbinowy.

Inna jest jeszcze możliwość wytłumaczenia genetycznego związku między kwasem d-galakturonowym, a l-askorbinowym. Kwas d-galakturonowy już pod wpływem powiększenia p^H środowiska łatwo izomeryzuje i przechodzi w kwas keto-l-galaktonowy. Ehrlich otrzymał tą drogą izomer kwasu l-askorbinowego, który ma te same własności chemiczne, co witamina, nie posiada zaś jej własności fizjologicznych, co jest uwarunkowane różnym, aniżeli w witaminie, położeniem grupy ketonowej.

Reasumując powyższe należy przypuścić, że kwas l-askorbinowy wywodzi się od d-galaktozy, która stanowi produkt wyjściowy w powstawaniu kwasu l-askorbinowego w organizmach roślinnych. Czy zwierzęta, które w braku witaminy C w spożywanych przez nie pokarmach na gnilec nie zapadają, także wytwarzają kwas l-askorbinowy z d-galaktozy niewiadomo i kwestja ta pozostaje jako temat badań dla fizjologów.

⁴⁰⁾ J. Ch. Soc. 32, 1270, 1933.

⁴¹⁾ Pr. Dyp. Polít. Warsz. 1932 r.; Roczniki Ch. 1934 r.

REDAKTOR Dr. S. OTOLSKI

Wydawca: Przemysłowo-Handlowe Zakłady Chemiczne Ludwik Spiess i Syn, Sp. Akc. — Warszawa

Zakł. Druk. F. Wyszyński i S-ka, Warszawa

Biblioteka Główna WUM

A.0229



300000001643



www.dlibra.wum.edu.pl