

- 3) Staub — Bull. de l'Acad. Veter. de France 1940.
- 4) Bontscheff — Wiener Tierärztl. Monatshefte 1947.
- 5) Saxer — Schweizer Arch. f. Tierheilkunde 1947.
- 6) Traub — Monatshefte f. Veter. Med. 1947.
- 7) Trawiński — Medycyna Weter. 1947.
- 8) Flückiger — Schweizer Arch. f. Tierheilkunde 1948.
- 9) Janowski — Medycyna Weter. 1948.
- 10) Kobusiewicz — Medycyna Weter. 1948.
- 11) Trawińska — Annales Universitatis M.C.S. 1948.

Z Zakładu Bakteriologii Wydziału Matematyczno-Przyrodniczego Uniwersytetu Łódzkiego

Kierownik: z. Prof. dr BERNARD ZABŁOCKI

BERNARD ZABŁOCKI

Najnowsze postępy immunochemii

Recent advances in immunochemistry

Od czasu wiekopomnych odkryć Miecznikowa o roli fagocytów w zjawiskach odpornościowych upłynęło z górą 60 lat. W tym stosunkowo krótkim okresie nauka o odporności niezmiernie się rozrosła i stała się oddzielną dyscypliną naukową. Teorii fagocytozy Miecznikowa uczeni, przeważnie Niemcy (Buchner, Pfeiffer, Behring i inni), przeciwstawili teorię humoralną odporności. Wieloletni trwający spór pomiędzy zwolennikami tych teorii był korzystny dla rozwoju młodej nauki o odporności. Przeciwnie sobie obozy nagromadziły bowiem olbrzymią liczbę faktów, każdy w obronie (jednostronnej) swoich poglądów na istotę zjawisk odpornościowych. Wiemy obecnie, że żadna z tych teorii nie tłumaczy nam wszystkich zjawisk w dziedzinie odporności, że przeto żadna z nich nie może być uważana za ogólną teorię odporności.

Teoria komórkowa odporności pobudziła badaczy do poszukiwania i ustalania rodzaju komórek, biorących żywy udział w zjawiskach fagocytozy. Obok mikrofagów i makrofagów wolnych stwierdzono istnienie całego szeregu komórek stałych, obdarzonych własnościami żernymi (makrofagów) i rozrzuconych w wielu tkankach ustroju zwierzęcego. Jest to t.zw. układ siateczkowo-śródbłonkowy. Układ ten ma własności wychwytywania najrozmaitszych cząstek koloidalnych (pouvoir colloidopéxiqne). Poza tym układowi temu przypisują największą rolę w wytwarzaniu swoistych przeciwciał pod wpływem zetknięcia się z parenteralnie wprowadzonym wywoławczem. Na sprawność układu siateczkowo-śródbłonkowego możemy wpłynąć sztucznie, osłabiając, lub też potęgując własności żerne wchodzących w jego skład makrofagów. Zniesienie czynności tego układu („blokada“) przez zaczopowanie jego elementów osiąga się drogą parenteralnego wprowadzania całego szeregu ciał, znajdujących się w stanie rozproszenia koloidowego: koloidy o cząstkach elektroujemnych, jak kolargol, eletrargol, elektroferrol i inn., barwniki (błękit pyrolowy, błękit trypanowy, czerwień obojętna), tusz chiński. Szyb-

kość znikania ze krwi wprowadzonych cząstek pozwala nam wnosić o stopniu żerności elementów komórkowych, wchodzących w skład układu siateczkowo-śródbłonkowego.

Z drugiej strony możemy wpłynąć na zwiększenie sprawności układu siateczkowo-śródbłonkowego. Czynniki, potęgującymi czynność układu s. śródbł. są: promienie ultrafioletowe, ciepło, pozajelitowe wprowadzenie metali koloidowych, obcego białka, różnych szczepionek, upust krwi, podrażnienie nerwu współczulnego i inne.

Humoralna teoria odporności ze swej strony przyczyniła się do wykrycia całego szeregu swoistych przeciwciał, znajdujących się w krwi i płynach ustroju uodpornionego. Odkrycie przeciwciał z kolei doprowadziło do opracowania całego szeregu niezmiernie cennych metod diagnostyki serologicznej: odczyn Widala, Weil-Felixa, Bordet-Wassermanna, Wrighta, Müller-Oppenheim'a i inn. Opierając się ra podstawach humoralnej teorii odporności, wprowadzono do praktyki nowy dział lecznictwa i zapobiegania przez zastosowanie surowic i szczepionek.

Przedstawiłem w krótkich słowach klasyczne poglądy z dziedziny nauki o odporności, aby z kolei przystąpić do omawiania niektórych nowych odkryć biochemicznych w tej dziedzinie.

A. O substancjach, pochodzenia bakteryjnego, obdarzonych dodatnią chemotaksą.

Oddawna było wiadomym, że wprowadzenie zawiesiny żywych wzgl. zabitych drobnoustrojów, lub ich autolizatów, powoduje energiczne przyciąganie w miejscu wstrzyknięcia, białych ciałek krwi wielojądrzastych obojętnochłonnych (mikrofagów). Do niedawna przeważał pogląd, że substancją czynną jest proteina, lub nukleoproteina bakteryjna. Badania Boivina i współpracowników dowiodły, że najbardziej czynną substancją w zjawisku chemotaksy dodatniej jest wielocukier bakteryjny. Wielocukry znajdują się w komórkach bakteryjnych w niedużej ilości: od 2-ch do najwy-

zej 20% suchej wagi. Znajdując się w wierzchniej warstwie komórki bakteryjnej, wielocukry stanowią o swoistości serologicznej różnych gatunków i typów bakterii.

Wstrzyknięcie podskórne kilku setnych miligrama wielocukru gronkowca, powoduje taki sam odczyn zapalny (z dopływem białych ciałek krwi wielojądrazstych obojętnochłonnych) w miejscu wprowadzenia, jak wstrzyknięcie zawiesiny żywych, lub zabitych drobnoustrojów.

Mechanizm działania ciał czynnych na zjawisko przenikania (diapedesis) białych ciałek krwi przez ściany naczyń krwionośnych, pozostaje niewyjaśniony. Nieco światła na tę sprawę rzucają badania Pages (z pracowni Boivina), które wykazały, że metabolizm oddechowych białych ciałek krwi, badany metodą Warburga, ogromnie wzrasta pod wpływem dodania wielocukrów bakteryjnych.

B. O substancjach, pochodzenia bakteryjnego, ujemnie wpływających na zjawisko przenikania (diapedesis) białych ciałek krwi wielojądrazstych obojętnochłonnych.

Prace Boivina i współpracowników ustaliły ostatecznie podział chemiczny jądów bakteryjnych na egzotoksyny i endotoksyny. Pierwsze (np. jady błonicy, tężca i innych; leukocydyny, gronkowców, paciorkowców, pneumokoków) wytwarzane przez drobnoustroje i wyrzucane do środowiska ich wzrostu, są natury białkowej. Drugie (jady pał. duru brzuszego, czerwonki, cholery, okrężnicy i tp.) są ściśle związane z komórką bakteryjną i wyzwolone po jej rozpadzie, są natury gliko-lipoido - polipeptydu.

Endotoksyny są równoznaczne z antygenem somatycznym drobnoustrojów gramujemnych (postaci S).

Wiemy, że niektóre egzotoksyny, mianowicie leukocydyny mają własności zabójcze w stosunku do białych ciałek krwi wielojądrazstych (mikrofagów). Jakie działanie wywierają endotoksyny na zjawiska fagocytozy? Odpowiedź na to pytanie znajdujemy w ostatnich pracach Boivina. U zwierzęcia zatrutego subletalną dawką jakiegokolwiek endotoksyny (wprowadzonej dożylnie, lub dootrzewnowo) nie udaje się wywołać w skórze zjawiska przypływu białych ciałek krwi wielojądrazstych pod wpływem wstrzyknięcia substancji (zabite ciała bakteryjne, wielocukry bakteryjne), wzmagających dodatnią chemotaksę. To samo zjawisko daje się zauważyć u ludzi, dotkniętych ciężkim dżarem brzuszno (zatrutych endotoksyną pałeczki Ebertha) u których nie daje się wywołać ropnia fiksacyjnego w celach leczniczych.

Hamujący wpływ na diapedezę białych ciałek krwi wielojądrazstych trwa do chwili wy-

zbycia się ustroju z endotoksyn. Z tą chwilą wywędrowanie białych ciałek krwi wielojądrazstych poza naczynia krwionośne staje się znów możliwym. Na same białe ciała krwi endotoksyna nie wywiera żadnego wpływu szkodliwego nie zmieniając ani ich morfologii, ani ruchliwości, ani zdolności żernej, ani wreszcie ich metabolizmu oddechowego. Wytlómaczenia działania, znoszącego diapedezę białych ciałek krwi wielojądrazstych, jakie wywiera endotoksyna, prawdopodobnie należy szukać w samej ścianie naczyń krwionośnych. Dzięki ujemnemu wpływowi na diapedezę białych ciałek krwi wielojądrazstych endotoksyna wywiera pewne działanie, sprzyjające zakażeniu. Aktywność, ułatwiająca zakażenie, jakie okazuje endotoksyna, zaznacza się nie tylko w stosunku do drobnoustroju, z którego pochodzi endotoksyna, lecz w stosunku do różnych drobnoustrojów zarówno gramujemnych, jak i gramododatnich. I tak myszki, zatrute dawką subletalną np. endotoksyny pał. Aertrycke, padają na skutek zakażenia dawkami 100 do 1000 razy mniejszymi (w stosunku do myszy kontrolnych) żywych bakterij różnych gatunków (Salmonella, Pasteurella, paciorkowce, pneumokoki, wąglik). Zatrucia dawką subletalną endotoksyny może wywołać przejście zakażenia utajonego w zakażenie postępujące i prowadzące do śmierci. Myszki, które dostały małą dawkę pał. Aertrycke (500 bakterij szczepu, zabijającego w dawce 10.000), przechowują w śledzionie żywe pał. Aertrycke w przeciągu tygodni lub nawet miesięcy. Wstrzyknięcie tym myszkom subletalnej dawki endotoksyny pał. okrężnicy powoduje śmiertelne zakażenie dżarem mysim. Zahamowane zjawisko diapedez, spowodowane przez endotoksynę, przekształciło więc zakażenie, dotychczas utajone, w zakażenie postępujące i prowadzące do śmierci.

Wielocukry bakteryjne są potężnymi bodźcami, wywołującymi wędrowkę białych ciałek krwi wielojądrazstych w kierunku ogniska zakażenia. Bakterie gramododatnie (gronkowce, pneumokoki i inne zawierają wielocukry bakteryjne wolne. Natomiast w drobnoustrojach gramujemnych wielocukry bakteryjne stanowią część kompleksu: wielocukier + lipoid + polipeptyd. Połączenie wielocukru bakteryjnego z lipoidem i polipeptydem zmienia zasadniczo jego własności w zjawiskach fagocytozy: z potężnego bodźca chemotaktycznego staje się czynnikiem, znoszącym diapedezę białych ciałek krwi (agresyną w myśl teorii Bailla).

C. Istota przeciwciał i możliwości otrzymania ich in vitro.

Przeciwciała, powstające w ustroju w odpowiedzi na wprowadzony wywołujący, znane są głównie z ich działania w odczynach serologicznych. Co do ich istoty istniała rozbieżność poglądów. Niektórzy badacze nawet uważali, że

przeciwiała wogóle nie są ciałami chemicznymi lecz tylko wyrazem pewnych zmian koloidalnych w cieczach ustroju, wywołanych działaniem wywoływacza. Inni znów badacze (Buchner, Abderhalden) przypuszczali, że przeciwiała mają naturę enzymów. Najbardziej przyjęty był pogląd, że przeciwiała są to ciała koloidalne, rozpuszczone, lub zawieszane w płynnym środowisku, związane z globulinami, z którymi dają się ze surowicy wysolic siarczanem amonu. Na tej podstawie oparte są metody stężania przeciwiał i pozbycia się niepotrzebnego balastu albumin surowicy.

Nowe osiągnięcia, dotyczące się istoty i powstania przeciwiał zestawiam w następujących punktach:

1) Na podstawie najnowszych prac wynika, że przeciwiała powstają w tkance limfatycznej, wytwarzanie przeciwiał i ich wyzwolenie są kontrolowane mechanizmem hormonalnym, gdzie główny udział biorą: nadnercze i przedni płat przysadki mózgowej (White, Dougherty i Chose, Harris, Ehrlich, Grimm i Mertens, cytowane z publikacji Boivina).

2) W pewnej sprzeczności z punktem 1-ym stoją wręcz rewelacyjne prace badaczy Paulinga i Campbell'a, którzy dowiedli możliwości otrzymania przeciwiał *in vitro*, a więc niezależnie od udziału komórek żywych. Poddają oni normalną γ -globulinę oszczędnej denaturacji w obecności haptenu np. swoistego wielocukru pneumokoka.

Wytworzenie przeciwiała jest wynikiem oddziaływania cząsteczek γ globuliny normalnej na „model“ dostarczony przez cząstkę wywoływacza. Globulina traci swoją oryginalną strukturę „wtórną“ i nabywa nową, będącą funkcją użytego wywoływacza.

Swoistość przeciwiał będzie zależała od swoistości wielocukru bakteryjnego dla drobnoustrojów gramododatnich, lub od swoistości kompleksu wielocukier + lipid + polipeptyd dla drobnoustrojów gramujemnych.

D. O substancjach chemicznych, obdarzonych własnościami wpływania na swoistość serologiczną drobnoustrojów

Griffith wykazał możliwości mutacji dowolnej w obrębie typów pneumokokowych. Przeprowadzenie tej mutacji udaje się zarówno *in vitro*, jak i *in vivo*. Jeśli np. weźmiemy 2 typy pneumokoka a i b, to będziemy mieli następujące 4 możliwości: Smooth a, Smooth b, Rough a i Rough b. (S a, S b, R a i R b). Postacie Rough nie posiadają ty-

powych wielocukrów. Jeśli zwierzęciu wstrzyknięmy jednocześnie żywe drobnoustroje R a i zabite S b lub też wyciąg chemiczny drobnoustrojów S b, to możemy z ustroju zwierzęcia wyhodować drobnoustroje S b. To samo udaje się osiągnąć, jeśli będziemy hodowali na pożywkach sztucznych postać R a w obecności zabitych drobnoustrojów S b lub też ich wyciągu. Z tych doświadczeń można wywnioskować że pewna substancja chemiczna, znajdująca się w drobnoustrojach postaci S b, ma własności wywołania mutacji postaci R a w S b. Ostatnio Avery Mc. Carty i MacLeod wyosobnili tę substancję i oznaczyli jej skład chemiczny. Jest to kwas desoxyribonukleinowy w stanie wysokiej polimeryzacji.

Boivin i Vendrely na przykładzie 2 typów (C₂ i C₃ pał. okrężnicy wykazali, że dodatek kwasu desoxyribonukleinowego może spowodować prócz przemiany typu drobnoustrojów badanych, modyfikację ich wyposażenia enzymatycznego. Autorzy badali 2 szczepy pał. okrężnicy, wyosobnionych z kału ludzi zdrowych (typy C₁ i C₂). Typ C₁ zawierał wielocukier, dający dodatni odczyn na kwasy ironowe, typ C₂ zawierał wielocukier bez kwasu uronowego i pozbawiony wogóle swoistości serologicznej. Hodowanie kilkudniowe drobnoustrojów typu C₂ Rough w przesączu hodowli bulionowej typu C₁ Smooth doprowadziło do wyosobnienia drobnoustrojów typu C₁ Smooth. C₁ Smooth, pochodzący z C₂ Rough wykazywał te same własności antygenowe, co C₁ Smooth naturalny. Jednocześnie C₁ Smooth, pochodzący z C₂ Rough stracił własności fermentowania sacharozы, którą energicznie rozkładał szczep C₂ Rough. W poszukiwaniu ciała czynnego, powodującego dowolną przemianę jednego typu bakterij w drugi Boivin i Vendrely przy pomocy dość skomplikowanej techniki, wyosobnili z mieszaniny kwasów nukleinowych pał. C₁ Smooth kwas desoxyribonukleinowy. Kwas ten, występujący w komórce bakteryjnej w stanie wysokiej polimeryzacji, dodawany do hodowli C₂ Rough powodował jej przemianę w C₁ Smooth. Na potwierdzenie, że właśnie ten kwas jest czynny autorzy poddawali go depolymeryzacyjnemu działaniu ribo-polynukleotydu. Produkt otrzymany nie miał własności wpływania na przemianę C₂ Rough w C₁ Smooth.

Na podstawie najnowszych prac Robinow dowiedzieliśmy się, że komórka bakteryjna zawiera jądra, zawierające w swym składzie kwas desoxyribonukleinowy, podczas gdy kwas ribonukleinowy zawarty jest w zarodki komórki. Czynniki desoxyribonukleinowy, pochodzący z pał. C₁, wpływa na pał. C₂, nadając jej nową swoistość, opartą na obecności wielocukru i nowe własności biochemiczne (brak sacharazy). Nasuwa się hipoteza, czy to czynne ciało nie pochodzi z rozpuszczenia się apa-

*) W każdej cząsteczce białkowej należy odróżnić: 1) strukturę „pierwotną“, wynikającą z natury składających się na nią kw. aminowych, formuły ich łączenia się, długości łańcucha polipeptycznego, 2) strukturę „wtórną“, zależną od sposobu związania się tego łańcucha polipeptycznego.

ratu chromozomowego C₁. Jeśli hipoteza ta odpowiada rzeczywistości, otwierają się przed nami nowe horyzonty w biochemii dziedziczności.

E. O istocie czynnika dyfuzyjnego Duran-Reynals'a.

Czynnik dyfuzyjny został wykryty w r. 1928 przez Duran-Reynals'a. Autor ten zauważył, że jednoczesne wprowadzenie królikowi neurowaksyny i wyciągu z jąder normalnych zwierząt, powoduje wzmoczone rozprzestrzenienie się materiału zakaźnego w miejscu wstrzyknięcia. Czynniki ten został wykryty w hodowlach niektórych bakterij. W szczególności dużo tego czynnika wykazał Mc Clean w hodowlach laseczek Fraenkla. Robertson, Ropes i Bauer wykazali, że bakterie: coli, subtilis, proteus, prodigiosus, pyocyaneus, tetanus, botulinus, gonococcus i inne nie zawierają tego czynnika. Natomiast, jeśli przyjąć aktywność tego czynnika za 100 dla laseczki perfringens, to dla następujących bakterij dają się ustalić następujące cyfry: Streptococcus bovis 30, Pneumococcus Typ VIII 15, Typ XIII 12, Bac. oedematiens 2, Streptococcus viridans 25, Streptococcus haemolyticus grupy A-15.

Morgan i Mc Clean wykazali, że dodatek wyciągu jądrowego do płynu synowialnego powoduje wybitne obniżenie lepkości tego płynu. Dawka 0,5 cm³, otrzymanego przez autorów wyciągu dodana do 5 cm³ płynu synowialnego obniża lepkość tego płynu w ciągu 1/2 godziny w ciepłocie 37°C do 1/300 wartości wyjściowej, zbliżając tym samym otrzymaną lepkość do lepkości wody. Poza obniżeniem lepkości daje się stwierdzić zjawienie się w płynie substancyj redukujących: N-acetylglukozamina i kw. glukuronowy.

Chain i Duthie wnioskuje na tej podstawie, że czynnik dyfuzyjny jest rodzajem enzymu, a mianowicie z grupy mucynaz. Meyer, Smith i Dawson oznaczają wielocukier śluzowy, znajdujący się w płynie synowialnym, a składający się z cząsteczki N-acetylglukozaminy i cząsteczki kw. glukuronowego, jako kwas hyaluronowy. Enzym hyaluronidaza, otrzymany z hodowli niektórych drobnoustrojów, posiadających czynnik dyfuzyjny oraz enzym, otrzymany z wyciągu jąder, okazały się identyczne. Stąd należy wnioskować, że czynnik dyfuzyjny jest hyaluronidazą, enzymem zdolnym do rozpuszczania (upłynienia) substancji podstawowej tkanki łącznej, pochodzenia mezodermalnego, zawierającej pewne substancje wielocukrowe, przez co umożliwia zarazkom chorobotwórczym głębsze wniknięcie i rozsiewalność. Fakt wykrycia i wyosobnienia czynnika dyfuzyjnego będzie miał duże znaczenie dla leczenia spraw zakaźnych. Należałoby dołączyć do obecnie stosowanych surowic leczniczych czynnik przeciwdyfuzyjny, któryby zobojętniał działanie czynnika dyfuzyjnego Duran-Reynals'a.

F. Postępy z dziedziny seroterapii.

Choroby, wywołane przez zarazki przesycające, nie poddają się leczeniu ani sulfonamidami, ani antybiotykami (za wyjątkiem lymphogranulomatosis). Leki te bowiem nie docierają do zarazka, który ma wybitnie zaznaczoną cytotropowość. W tej dziedzinie są pewne postępy w seroterapii. Kon (Harward) wytwarza skoncentrowaną 30-krotnie surowicę ludzką, zawierającą 25% roztwór γ -globulin. Surowicę tę z powodzeniem stosowano w profilaktyce odry i w leczeniu, odry w I-ych dniach choroby. Jak wykazał Stokes stężony roztwór γ -globulin daje dość dobre wyniki w leczeniu choroby Heine - Medine.

Celem mego referatu było zaznajomienie czytelnika z niektórymi nowymi zdobyczami w dziedzinie (punkty A-F) immunochemii na podstawie piśmiennictwa obcego ostatnich kilku lat.

BERNARD ZABŁOCKI

RECENT ADVANCES IN IMMUNOCHEMISTRY

Summary

The author gives in his article a review of recent papers on immunochemistry, describes substances of organic origin with positive chemolaxis. Next discusses substances having a negative influence on the phenomenon of the leukocytes diapedesis, writes about the character of antibodies and the possibility of obtaining them in vitro. There is also a description of chemical substances which have the power to influence the bacteria serological specificity and a discussion on the character of the Duran-Reynals' diffusion factor.

Piśmiennictwo

1. Boivin i Delaunoy: Annales de l'Institut Pasteur, Tom 71, str. 168, 1945.
2. Boivin: Journal Suisse de Médecine, 1946.
3. Boivin, Delanay i Pagés: Bull de l'Acad. de Med. 1944, Nr 18, str. 305.
4. Boivin i Delanay: Bull de l'Acad. de Med. 1944, Nr 21, str. 357.
5. Boivin i Venderly: Helvetica Chimica Acta, Vol. XXIX, fasc. V, 1946.
6. Venderly i Lehault: C. R. de Séances de l'Acad. des Sciences, t. 222 str. 1357-1359, 1946.
7. Boivin, Delanay, Venderly, Lehonet: C. R. de Séances de l'Acad. des Sciences t. 221, str. 718-719, 1945.
8. Avery, MacLeod i McCarty: J. Exp. Med. 1944.
9. Pauling i Campbell: Science, 95, 1942.
10. Pauling i Campbell: J. Exp. Med. 1942.
11. Robinow: J. Hyg. 43, str. 413, 1944.
12. Schmidt: Erg. der Hyg. Bakt. Imm. Forsch. und Exper. Therapie 24, str. 365, 1941.
13. Duran-Reynals: C. R. Soc. Biol. 99, 1928.
14. Duran-Reynals: Ann. Inst. Pasteur 57, 1936.
15. Sołowiow: Zurnal Mikr. Epid. i Imm. 1, 1945.