

P. 337.
TOWARZYSTWO NAUKOWE WARSZAWSKIE

SPRAWOZDANIA
Z POSIEDZEŃ WYDZIAŁU IV
NAUK BIOLOGICZNYCH

ROK XLIII

1950/51



WARSZAWA
NAKŁADEM TOWARZYSTWA NAUKOWEGO WARSZAWSKIEGO
Z ZASIŁKU MINISTERSTWA SZKOLNICTWA WYŻSZEGO
1953



SPRAWOZDANIA Z POSIEDZEŃ WYDZIAŁU IV

TOWARZYSTWO NAUKOWE WARSZAWSKIE

SPRAWOZDANIA
Z POSIEDZEŃ WYDZIAŁU IV
NAUK BIOLOGICZNYCH

ROK XLIII

1950/51



W A R S Z A W A
NAKŁADEM TOWARZYSTWA NAUKOWEGO WARSZAWSKIEGO
Z ZASIĘKU MINISTERSTWA SZKOLNICTWA WYŻSZEGO
1 9 5 3

Redaktor Naczelny wydawnictw T. N. W.

MIECZYŚLAW BRAHMER

*

Redaktor wydawnictw Wydziału IV

WINCENTY LESŁAW WIŚNIEWSKI

Nakład 900 egz. + 150. Papier sat. drukowy klasa V. gr. 70. 70 × 100
Ark. wyd. 6,85 druk, 7,25. Cena zł 9. Zam. 226 z dn. 4.IV.52. Druk uk. 18.VI.53.

Warszawska Drukarnia Naukowa, Warszawa, Śniadeckich 8. 4-B-51095

Posiedzenie

dnia 3 marca 1950 r.

Józef Szuleta

W sprawie centrosomów u *Caprifoliaceae*

Przedstawił czł. K. Bassalik

Sprawa centrosomów u roślin okrytonasiennych jest ciągle aktualna i wymaga dalszych badań. Prace Feng Yen-Ana (2, 3, 4), wskazujące na istnienie centrosomów u niektórych przedstawicieli *Caprifoliaceae* (*Lonicera*, *Viburnum*), wywołały żywą dyskusję, liczne zastrzeżenia i sprzeciwy ze strony Eichhorna (1) oraz Gavaudana i Yu Chih-Chena (5).

Nasze spostrzeżenia odnoszą się do mikrosporogenezy u *Sambucus racemosa* L. Rodzaj *Sambucus*, a specjalnie gatunek *Sambucus racemosa*, jest wyjątkowo dogodny, jeśli chodzi o badanie tych ciałek, które Feng Yen-An u *Lonicera* i *Viburnum* nazywa centrosomami. Komórki macierzyste pyłku u *Sambucus racemosa* są dość duże (ca 18 mikronów) i przeważnie czyste (bez specjalnych ziarnistości), a wspomniane ciałka, silnie barwiące się, kuliste lub lekko jajowate są łatwe do obserwacji.

Pomijając sprawę pochodzenia tych ciałek, ich liczbę i szczegóły odnoszące się do ich cyklu rozwojowego (zostanie to podane w specjalnej pracy), należy stwierdzić, że można je obserwować w cytoplazmie bez względu na płyn stosowany przy utrwalaniu materiału (Nawaschin, Bouin, Regaud, Helly i inni). Nie są to więc jakieś artefakty zależne od utrwalacza.

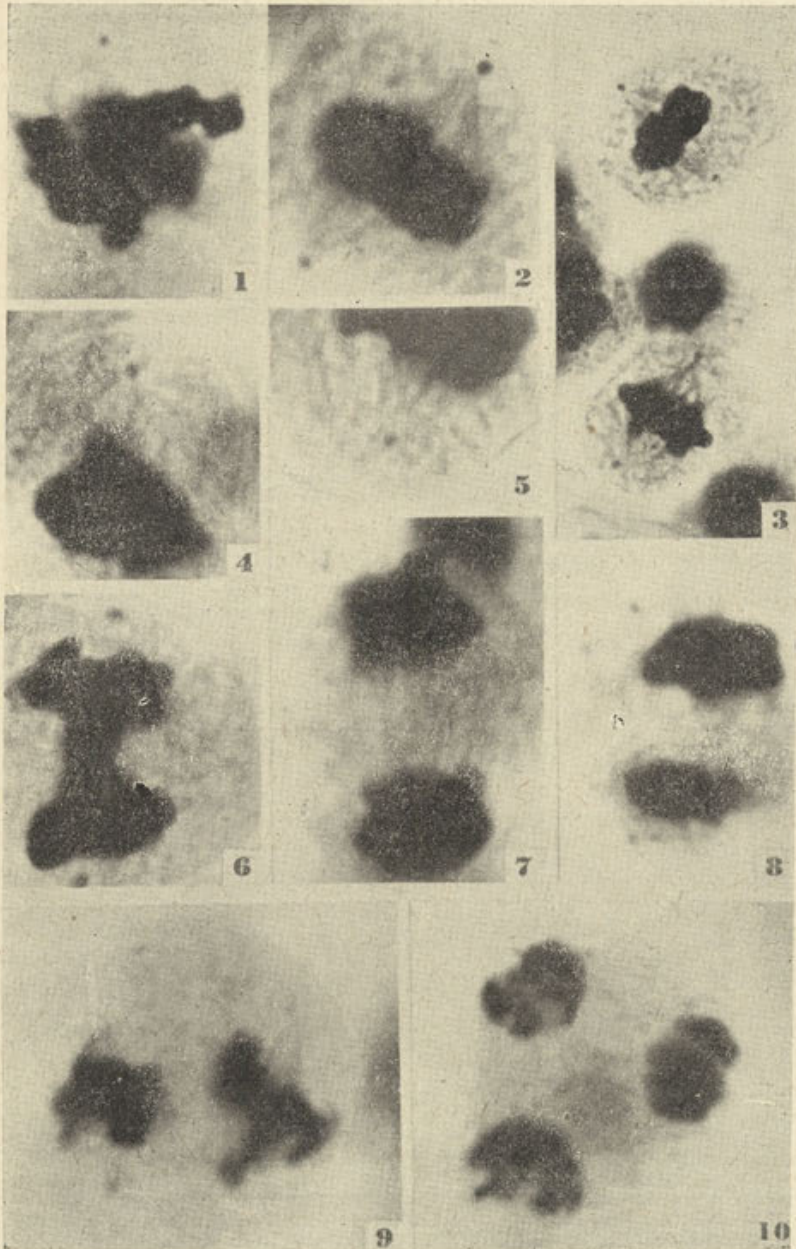
Barwią się za pomocą hematoksyliny żelazistej, genjany, fioletu krystalicznego i in. Ich chromofilność jest różna w różnych stadiach meiozy. Silnie barwią się przy końcu profazy hetero- i homotypowej, w metafazie i anafazie hetero- i homotypowej oraz w telofazie homotypowej i tetradach. W żadnym stadium meiozy nie dają reakcji *F e u l g e n a*.

Przy końcu profazy heterotypowej można łatwo zauważyć na terenie cytoplazmy przeważnie dwa silnie barwiące się ciała (Tabl. I, fig. 1), które w metafazie heterotypowej lokalizują się na dwóch przeciwległych biegunach wrzeczona kariokinezy (Tabl. I, fig. 2, 3), dając obraz typowej metafazy z centrosomami. Każde z ciałek jest zwykle otoczone małym polem słabiej barwiącej się, bezziańskiej plazmy. Bardzo często, ale nie zawsze, można dookoła tych ciałek zauważyć subtelne promienistości, przypominające astrosferę typowych centrosomów (Tabl. I, fig. 4, 5). Promienistości te można zauważyć zarówno w materiale utrwalonym płynem *N a w a s c h i n a* (Tabl. I, fig. 4), jak i *H e l l y*'ego (Tabl. I, fig. 5). Przy zastosowaniu utrwalacza *N a w a s c h i n a* są one wyraźniejsze, ale mniej subtelne.

We wczesnej telofazie heterotypowej wspomniane ciała barwią się nieco słabiej. W preparatach mniej odbarwionych (słabo zróżnicowanych) można stwierdzić dość często, ale nie zawsze (Tabl. I, fig. 6), występujące przesunięcie ciałek z biegunów w dowolne miejsce w pobliżu każdego z jąder pochodnych i podział tych ciałek (Tabl. I, fig. 7, 8). W późniejszej telofazie heterotypowej zwiększają one swą objętość (jakby pęczniają), a równocześnie barwią się coraz słabiej i kontury ich stają się coraz mniej wyraźne.

Ciała te ujawniają się w późnej profazie homotypowej, a w metafazie homotypowej można je zauważyć na czterech biegunach dzielących się równocześnie diad (Tabl. I, fig. 9). W pobliżu każdego z jąder telofazy homotypowej (Tabl. I, fig. 10), a później przy jądrze każdej z tetrad są one widoczne jako silnie barwiące się kuleczki.

Ponieważ ciała te barwią się intensywnie w czasie późnych profaz, w czasie metafaz, anafaz oraz wczesnych telofaz i w tych momentach są specjalnie skondensowane, można więc



Objaśnienie tablicy w tekście. Powiększenie: Fig. 3 ca 1250×
Fig. 1, 2, 4—10 ca 2500×
Fot. J. Szuleta

przypuszczać, że odgrywają jakąś ważną rolę przy odbywających się wtedy przemieszczeniach wewnątrzkomórkowych.

Często występująca dookoła tych ciałek aureola jaśniejszej plazmy i delikatna astrosfera, widoczne zwłaszcza w czasie metafazy heterotypowej, ujemna reakcja *F e u l g e n a* oraz charakterystyczne zachowanie się w różnych fazach podziału jądra skłaniają do przypuszczenia, że mamy tu do czynienia z centrosomami.

LITERATURA

1. *E i c h h o r n* A. 1933. Sur la prétendue existence de centrosomes et d'astres chez les végétaux supérieurs. C. R. Ac. des Sc., t. 196, p. 1239—1241. Paris.
2. *F e n g Y e n - A n*. 1932. Sur la présence de centrosomes et d'astres chez une Angiosperme, *Lonicera alpigena*. C. R. Ac. des Sc. t. 194, p. 2317—2319. Paris.
3. *F e n g Y e n - A n*. 1933. Observations sur la présence de centrosomes et d'astres présidant à la caryocinèse dans un genre de Caprifoliacées: *Lonicera*. Le Botaniste. Sér. XXIV, p. 335—352. Paris.
4. *F e n g Y e n - A n*. 1934. Recherches cytologiques sur la caryocinèse, la spermatogénèse et la fécondation chez les Caprifoliacées (en particulier sur la présence de centrosomes présidant à la caryocinèse dans les *Lonicera*). Le Botaniste. Sér. XXVI, p. 2—84. Paris.
5. *G a v a u d a n* Pierre et *Y u C h i h - C h e n*. 1936. Centrosomes et extrusions chromatiques chez les Angiospermes. Actualités Sc. et Industr., t. 319, p. 1—48. Paris.

P i o t r *S t r e b e y k o*

Energetyka fotosyntezy

Wstęp

Asymilacja dwutlenku węgla przez rośliny zielone należy do bardzo skomplikowanych przemian biochemicznych. Żadne chyba zagadnienie w fizjologii roślin nie było odkrywane z takim trudem i wśród tylu nieporozumień, jak fotosynteza.

Od czasu doświadczeń *P r i e s t l e y a* i *I n g e n - H o u s z a* upłynęło prawie 100 lat zanim się przekonano, że źródłem węgla dla roślin zielonych nie są związki organiczne, znajdujące się w glebie, lecz gazowy dwutlenek węgla wystę-

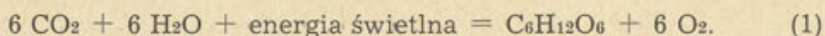
pujący w atmosferze Ziemi, i zanim wyjaśniono, że powstawa-
nie skrobi w chloroplastach jest wynikiem asymilacji dwutlen-
ku węgla przez rośliny zielone.

Mechanizm procesu fotosyntezy pozostał jednak nadal nie-
znany i znowu upłynęło blisko 70 lat, zanim stwierdzono, że asy-
milacja dwutlenku węgla opiera się na fotochemicznym roz-
kładzie wody.

I

Zmiana poglądu na mechanizm fotosyntezy

Chociaż M. Berthelot (1864) i G. Bredig (1914) już dawno przypuszczali, że w procesie fotosyntezy roz-
kładowi ulega woda, to jednak bardziej rozpowszechniony był
pogląd, że pod wpływem energii świetlnej pochłanianej przez
chlorofil rozkładowi ulega cząsteczka dwutlenku węgla lub
kwasu węglowego; przy tym węgiel łączy się z wodą, tworząc
cukier prosty (heksozę), a tlen zostaje wydalony przez roślinę.
Wyrażano to znanym równaniem:



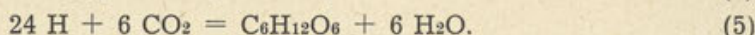
Wydalany tlen miał więc pochodzić z rozkładu dwu-
tlenku węgla. Na temat pierwszych produktów fotosyntezy po-
wstało wiele hipotez, z których najbardziej znana była hipoteza
A. B a e y e r a (1870) o wytwarzaniu przez rośliny
aldehydu mrówkowego.

Badania C. B. N i e l a (1931), K. H i l l a
i R. S c a r i s b r i c k a (1940), S. R u b e n a i jego
współpracowników (23) (1941), A. P. V i n o g r a d o w a i R.
V. T e i s a (1941) wywołały zasadniczą zmianę naszych po-
głądów na proces fotosyntezy. Okazało się bowiem, że wydala-
ny przez rośliny tlen pochodzi nie z dwutlenku węgla, lecz
z wody, co zostało stwierdzone za pomocą ciężkiego izotopu
tlenu O_{18} .

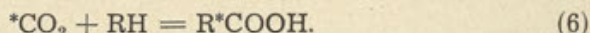
W reakcji fotochemicznej, towarzyszącej procesowi asy-
milacji dwutlenku węgla, rozkładowi ulega nie dwutlenek wę-
gla, lecz woda i dopiero uwolniony z niej wodór redukuje dwu-
tlenek węgla, ściślej, redukuje kwasy karbonowe do wę-
glowodanów. Redukcja wodorem nie jest reakcją fotochemicz-

ną, lecz zwykłą reakcją bezświatlną, zapewne enzymatyczną. Tego rodzaju procesy są w organizmach roślinnych bardzo rozpowszechnione.

Asymilację dwutlenku węgla można przedstawić schematycznie w czterech następujących równaniach:

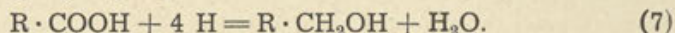


Z tych czterech reakcji tylko pierwsza jest reakcją fotochemiczną. Pozostałe trzy są reakcjami bezświatlnymi i egzotermicznymi. W związku z podanym schematem zaznaczyć należy, że redukcja dwutlenku węgla nie jest tak prostym procesem, jakby wynikało z tych wzorów. S. R u b e n i współautorzy (1939) wykazali za pomocą promieniotwórczego izotopu węgla, podanego chlorelli w dwutlenku węgla, że bez udziału światła został on związany w postaci grupy karboksylowej w myśl równania:



Jest to reakcja odwracalna, odbywająca się w ciemności. Światło nie jest potrzebne do związania dwutlenku węgla w grupę karboksylową kwasu tłuszczowego. Jest to proces rozpowszechniony nie tylko w komórkach roślinnych, ale również w zwierzęcych i nie ma nic wspólnego z reakcjami fotochemicznymi.

Również bezświatlny jest proces redukcji dwutlenku węgla, a właściwie grupy karboksylowej za pomocą wodoru. Reakcję tę moglibyśmy wyrazić równaniem:

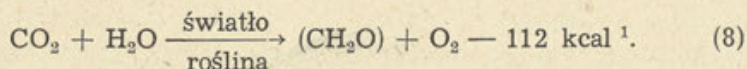


Ponieważ ani wiązanie dwutlenku węgla, ani jego redukcja nie wymaga energii świetlnej i odbywa się w zwykłych enzymatycznych reakcjach bezświatlnych, a więc nasuwa się pytanie, czy właściwe jest nazywanie asymilacji dwutlenku węgla procesem fotosyntezy? Fotochemiczny jest tylko rozkład wody, dostarczający wodoru do procesów redukcyjnych. Wodór jest niezbędny do asymilacji dwutlenku węgla, lecz poza tym może on służyć do wielu innych procesów redukcyjnych w komórce.

II

Z a g a d n i e n i e e n e r g e t y c z n e

W ostatnim dziesiątku lat zmieniły się zasadniczo nasze poglądy na mechanizm asymilacji dwutlenku węgla. To nasuwa myśl, że nasze poglądy na energetykę tego procesu również powinny ulec rewizji. E. J. R a b i n o w i t c h (1945) w monografii poświęconej fotosyntezie przedstawia ten proces w sposób następujący:



Ponieważ utlenienie 1 mola glukozy wydziela 674 kcal, więc przez analogię przyjęto, że asymilacja dwutlenku węgla pochłania 674 kcal na każdy mol wytworzonej glukozy lub po 112 kcal na każdy mol zasymilowanego CO_2 .

Do nowego schematu ten sposób ujęcia zagadnienia energetycznego nie jest dostosowany. Wprawdzie zgodnie z prawem H e s s a sposób, w jaki się odbywa reakcja, nie wpływa na ilość pochłoniętej energii, lecz musimy zwrócić uwagę na to, że rozkład wody jest procesem fotochemicznym i pochłania energię świetlną, natomiast wszystkie inne reakcje w procesie asymilacji dwutlenku węgla są procesami bezświecnymi i wydzielają energię cieplną. Tych dwóch form energii nie możemy bilansować i dlatego nie jest sprawą obojętną, w jaki sposób przebiega proces asymilacji dwutlenku węgla w roślinach. Według nowego schematu zapotrzebowanie energii świetlnej musi być znacznie większe od 674 kcal na gramocząsteczkę glukozy.

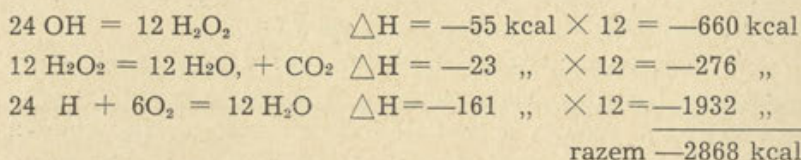
Ciepło rozkładu wody w stanie pary przy 291°K (18°C) pod stałym ciśnieniem wynosi według L. P a u l i n g a (1945) 220,3 kcal na 1 mol H_2O . Średnio przypada po 110 kcal na jedno wiązanie tlenu z wodorem, lecz A. S y r k i n i i M. D i a t k i n a (1946) podają, że odłączenie pierwszego atomu wodoru od atomu tlenu wymaga 119,5 kcal, natomiast odłączenie drugiego atomu wodoru wymaga tylko 99,5 kcal.

¹ W bardziej ścisłych badaniach fizycznych energię cieplną mierzy się w ergach, lecz wśród biologów ta miara jeszcze się nie przyjęła, wobec tego posługuję się nadal kalorią jako jednostką energii cieplnej.

Syrkin i Diatkina nie podają temperatury, do której się odnoszą te dane, ale z ogólnej sumy 119 kcal należy sądzić, że dotyczą one temperatury zbliżonej do 18°C, jak u Paulinga.

Podobne zjawiska zachodzą w metanie, gdzie również oderwanie pierwszego atomu wodoru od atomu węgla wymaga większej energii niż oderwanie któregoś z pozostałych atomów wodoru.

Jak podawałem w moim referacie, ogłoszonym na posiedzeniu Polskiego Towarzystwa Botanicznego w Warszawie w dniu 24. XI. 1949, rozkład 24 moli wody na atomy wodoru i rodniki OH wymagałby wkładu 2868 kcal ($24 \times 119,5 \text{ kcal} = 2868 \text{ kcal}$). Energię tę odnajdujemy w sumie energii trzech następujących reakcji egzotermicznych:



Jeżeli rozkład wody jest reakcją fotochemiczną, to energia odpowiadająca 2868 kcal musi być dostarczona w formie energii świetlnej i chociaż w następnych bezświetlnych reakcjach energia ta zostaje w przeważającej ilości wydzielona w postaci ciepła, to jednak nie może ona służyć powtórnie do następnej reakcji rozkładu wody, gdyż znowu potrzebna do tego jest energia świetlna.

Wprawdzie istnieje możliwość wykorzystywania energii cieplnej w tym procesie poprzez enzymatyczny rozkład wody na rodniki H i OH związane z odpowiednimi akceptorami. W ten sposób muszą pracować mikroorganizmy bezchlorofilowe. Natomiast u roślin zawierających chlorofil możemy się spodziewać raczej procesu fotochemicznego.

Fotochemiczny rozkład wody przy udziale barwników uczulających jest powszechnie znany, a w procesie fotosyntezy jest on nie mniej prawdopodobny, niż rozkład enzymatyczny.

Chlorofil należy do barwników łatwo oddających atomy wodoru (np. przy 7-mym, 8-mym i 10-tym atomie węgla), potem jednak musi on regenerować utracony wodór, nasuwa się

więc pytanie, dlaczego sam chlorofil nie mógłby powodować fotochemicznego rozkładu wody na rodniki H i OH?

Jeżeli zaś przyjmimy, że rośliny, zawierające chlorofil, rozkładają wodę tylko za pomocą energii świetlnej, to musimy się zgodzić z tym, że każda rozłożona gramocząsteczka wody pochłania co najmniej 119,5 kcal w formie energii świetlnej.

Ponieważ redukcja 1 mola CO_2 wymaga 4 gramoatomów wodoru, więc zużyje ona co najmniej 478 kcal, a redukcja 6 moli CO_2 przy syntezie 1 gramocząsteczki glukozy wymaga 2868 kcal. Liczba 674 kcal na mol glukozy tak się już przyjęła jako miernik zapotrzebowania energii w procesie asymilacji dwutlenku węgla, że często zapomina się o jej raczej symbolicznym znaczeniu i operujemy nią jako rzeczywistą ilością energii, niezbędną do wytworzenia mola glukozy z sześciu moli dwutlenku węgla.

Jeżeli 674 kcal podzielimy przez 6, to otrzymamy domniemaną ilość energii (112 kcal) potrzebnej do redukcji 1 mola CO_2 . Takie obliczenie jest jednak źródłem wielu nieporozumień, bo sugeruje, że wystarczy wnieść 112 kcal w kwantach energii świetlnej, aby zredukować 1 mol dwutlenku węgla. Tymczasem uwolnienie z wody 1 gramoatomu wodoru wymaga już 119,5 kcal, a do redukcji mola dwutlenku węgla potrzebne są 4 gramoatomy wodoru. Według tego obliczenia redukcja 1 mola CO_2 wymaga co najmniej 478 kcal, co stanowi przeszło cztery razy więcej energii w porównaniu z liczbą 112 kcal.

Wydaje się, że obecny stan wiedzy naszej o asymilacji dwutlenku węgla upoważnia do pewnej rewizji dotychczasowych naszych poglądów na energetykę tego procesu.

III

Wydajność kwantowa fotosyntezy

W roku 1922 O. Warburg wspólnie z E. Negelein podjął po raz pierwszy próbę oznaczenia wydajności kwantowej w procesie fotosyntezy. Na podstawie swoich wyników Warburg podał, że wydajność kwantowa tego procesu wynosi 0,25, tzn. że do redukcji 1 cząsteczki CO_2 potrzebne są 4 kwanty energii świetlnej.

Kwant energii (e) może być, jak wiadomo, różnej wielkości i wyraża się iloczynem częstotliwości fali (ν) przez stałą Plancka (h)¹:

$$e = h \cdot \nu. \quad (10)$$

Im większa jest częstość drgań fali, tym większy jest kwant energii świetlnej. Większość kwantu można również wyrazić długością fali, gdyż pomiędzy częstotliwością a długością fali zachodzi zależność odwrotnie proporcjonalna, mianowicie:

$$\nu = \frac{c}{\lambda}, \quad (11)$$

gdzie c oznacza szybkość światła², a λ — długość fali. Im krótsza jest fala świetlna, tym większy jest kwant energii.

W reakcjach fotochemicznych biorą udział tylko całkowite ilości kwantów i reakcje te są zasadniczo jednokwantowe. Kwant musi być dostatecznie duży, aby mógł wywołać reakcję. Przy zbyt małych kwantach reakcja fotochemiczna nie może się odbyć i energia świetlna zostaje zamieniona w ciepłą.

Każda reakcja fotochemiczna wymaga pewnego minimum energii kwantowej i może się odbywać tylko w świetle o dostatecznie dużej częstotliwości, której odpowiada określona długość fali. Każda reakcja fotochemiczna posiada więc swoje minimum ilości drgań w ciągu sekundy, czyli maximum długości fali, przy której się rozpoczyna.

W reakcjach chemicznych praktyczną jednostką masy jest mol. Tak samo zamiast pojedynczych kwantów możemy używać pojęcia mola kwantów, czyli $6,023 \cdot 10^{23}$ $h \cdot \nu$, co oznaczamy literą E w odróżnieniu od energii pojedynczego kwantu (e).

Jeżeli częstotliwość fali zastąpimy jej długością (11), ergi zamienimy w kalorie, a szybkość światła i długość fali wyrazimy w mikronach, to wzorowi P l a n c k a (10) możemy nadać formę bardzo dogodną dla naszych obliczeń. Energia 1 mola kwantów światła monochromatycznego:

¹ $h = 6,622 \cdot 10^{-27}$ erg. sek. = $1,583 \cdot 10^{-37}$ kcal. sek.

² Szybkość światła według E. Bergstranda (3) (1950) wynosi $299\,792,7$ km/sek $\pm 0,25$ km/sek.

$$E = \frac{28,56}{\lambda} \text{ kcal.} \quad (12)$$

Wstawiając do równania (12) długość fali wyrażoną w mikronach, znajdujemy bez trudu energię mola kwantów wyrażoną w kilokaloriach; np. przy długości fali 0,36 μ , co odpowiada dolnej granicy światła fioletowego, $E = 79,2$ kcal, a przy długości fali 0,78 μ , co odpowiada górnej granicy światła czerwonego, $E = 36,6$ kcal. W granicach światła widzialnego mol kwantów posiada wartość energetyczną od 36 do 80 kcal, zależnie od długości, czyli barwy światła.

Gdybyśmy znali największą długość fali świetlnej, od której rozpoczyna się asymilacja dwutlenku węgla, moglibyśmy obliczyć minimum energii kwantowej niezbędnej do tego procesu.

W końcu ubiegłego stulecia, kiedy nie znano jeszcze teorii kwantowej światła, poszukiwano optimum długości fali świetlnej dla procesu asymilacji dwutlenku węgla, a przy tym notowano również najkrótsze i najdłuższe fale, w granicach których można było zaobserwować fotosyntezę.

Jako największą długość fali T. W. E n g e l m a n n (1882) podawał 0,718 μ , a J. R e i n k e (1884) wywoływał fotosyntezę tylko falami nie dłuższymi niż 0,7 μ , jeżeli używał światła monochromatycznego we właściwym tego słowa znaczeniu. Natomiast przy szerokiej szczelinie wlotowej spektrografu, kiedy do widma światła czerwonego dostają się również fale krótsze, pozorna granica długości fali sięgała w doświadczeniach R e i n k e g o 0,74 μ , był to jednak błąd metodyczny.

A. U r s p r u n g (1917) poszukiwał również optymalnej długości fali dla fotosyntezy i podawał, że proces ten odbywa się w granicach od 0,330 μ do 0,760 μ , lecz z jego „spektrogramów“ widać, że właściwa granica sięgała w świetle czerwonym tylko do 0,718 μ ; przy tym należy zaznaczyć, że szczelina wlotowa spektrografu w doświadczeniach U r s p r u n g a była również dosyć szeroka (do 1 mm), podobnie jak w doświadczeniach R e i n k e g o, więc wyniki nie są dokładne.

W roku 1949 spróbowałem oznaczyć minimum energii kwantowej w procesie fotosyntezy, używając liści nasturcji zamiast kliszy w nowoczesnym spektrografie. Doświadczenia

były wykonane w Zakładzie Fizyki Doświadczalnej Uniwersytetu Warszawskiego. Liść był wystawiony na działanie widma żarówki punktowej, a wytworzoną skrobię wykrywałem jodem, podobnie jak to robił K. A. Timiriaziew (1890).

Rozżarzone włókno żarówki, które było źródłem emisji, posiadało temperaturę 2100 — 2200°C i dawało dużo kwantów światła czerwonego, toteż w miarę coraz większej długości fali w widmie i coraz większej ilości kwantów światła, padającego na jednostkę powierzchni, wytwarzało się w liściu coraz więcej skrobi i zabarwienie od jodu było coraz intensywniejsze aż do długości fali 0,697 μ , przy której zabarwienie liścia kończyło się dosyć ostrą linią graniczną. Dokładność oznaczenia oceniam na $\pm 0,005 \mu$; zostało ono wykonane za pomocą widma lampy neonowej.

Nie precyzując jeszcze właściwej długości fali, od której rozpoczyna się fotosynteza, przyjmuję w przybliżeniu, że wynosi ona około 0,7 μ , a mała na pozór dokładność tej liczby nie przeszkadza w obliczeniu wydajności kwantowej. Zaznaczyć należy, że różnica 0,01 μ w długości fali światła czerwonego odpowiada zaledwie 0,5 kcal na 1 mol kwantów.

Jeżeli przyjętą liczbę 0,7 μ wstawimy do wzoru (12), to otrzymamy 40,8 kcal jako minimum energii mola kwantów, które już wywołują fotosyntezę. W porównaniu z energią 119,5 kcal, która jest niezbędna do uwolnienia 1 gramoatomu wodoru z wody, widzimy, że energia 40,8 kcal jest trzykrotnie mniejsza. Jeden mol kwantów światła widzialnego nie może dostarczyć 119,5 kcal. To wymagałoby światła nadfioletowego, o długości fali 0,239 μ , a tak krótkich fal nawet nie ma w widmie słonecznym. Dopiero trzy mole kwantów światła o długości fali 0,7 μ mogłyby wnieść dostateczną ilość energii (122 kcal).

Ponieważ fotosynteza odbywa się w świetle czerwonym o długości fali 0,7 μ , więc może to być trójstopniowa reakcja fotochemiczna, złożona z trzech kolejno po sobie następujących reakcji, albo też musi następować kumulacja trzech małych kwantów w jeden duży. Stan wzbudzenia atomu lub cząsteczki jest krótkotrwały (czas rzędu 10^{-8} sekundy), lecz w barwnikach uczulających i fluoryzujących, do których należy chlorofil, stany wzbudzenia są wielokrotnie dłuższe i trwają od 10^{-8} do 1 sekundy.

Według T e r e n i n a (1947) foton zdążyłby obieć 10 000 cząsteczek chlorofilu przez czas trwania stanu wzbudzenia cząsteczki. Gdy uwzględnic, że barwniki polimeryzują, tworząc duże jednostki absorpcyjne i fluorescencyjne (u chlorofilu jednostka taka składa się z przeszło 2000 cząsteczek), gdy zważymy, że w tych jednostkach istnieje możliwość pochłaniania większej ilości fotonów jednocześnie i że istnieje łatwa wymiana fotonów i elektronów między poszczególnymi cząsteczkami w obrębie takiej spolimeryzowanej jednostki, to wydaje się, że obca cząsteczka (w tym wypadku — woda) związana z uczulającym barwnikiem (np. z chlorofilem) może otrzymać naraz lub w bardzo krótkich odstępach czasu więcej niż jeden foton. Na możliwość kumulacji kwantów w barwnikach zwracał już uwagę G. S c h e i b e (1937).

Nie przesadzając, czy mamy tu do czynienia z trzema kolejnymi reakcjami fotochemicznymi, czy też z kumulacją kwantów przy jednej reakcji, możemy stwierdzić, że uwolnienie z wody 1 gramoatomu wodoru wymaga co najmniej 3 moli kwantów światła czerwonego.

Ponieważ redukcja 1 cząsteczki CO_2 zużywa 4 atomy wodoru, a oderwanie atomu wodoru pochłania 3 kwanty, więc proces asymilacji dwutlenku węgla musi pochłaniać 12 kwantów, a jego wydajność kwantowa powinna wynosić 0,083 (3).

Potwierdzenie mego obliczenia znajduję w wynikach prac wielu badaczy:

W. A r n o l d znajduje 9 kwantów na 1 cząsteczkę CO_2 ,

R. E m e r s o n i C. M. L e w i s znajdują 10 kwantów
na 1 cząsteczkę CO_2 ,

F. F. R i e k e znajduje 9—11 kwantów na 1 cząsteczkę
 CO_2 ,

W. E. M o o r e i B. M. D u g g a r znajdują 10—12
kwantów na 1 cząsteczkę CO_2 .

Zupełnie inną wydajność kwantową dla procesu fotosyntezy podawał O. W a r b u r g (1922). Według niego asymilacja 1 cząsteczki CO_2 pochłania tylko 4 kwanty. W porównaniu z wynikami innych badaczy różnica jest ogromna.

S. G a l s t o n e (1948) w swojej chemii fizycznej pisze, że wyniki W a r b u r g a zostały podane w wątpliwość i że obecnie wydajność kwantowa fotosyntezy jest oceniana na

0,1—0,05, co odpowiada 10—20 kwantom na cząsteczkę zasymilowanego dwutlenku węgla.

F. H. G e t m a n (1946) pisze, że dawniej błędnie oceniano wydajność kwantową na 0,25.

Jest rzeczą interesującą, że w ostatnio opublikowanej pracy (1950) W a r b u r g sam stwierdza zużycie ponad 11 kwantów na cząsteczkę zasymilowanego dwutlenku węgla, gdy doświadczenie wykonał metodą E m e r s o n a, używając jako źródła dwutlenku węgla dwuwęglanów sodu i potasu przy $pH = 9,1$. Natomiast, stosując swoją dawną metodę, tzn. nasycając wodę dwutlenkiem węgla w dużym stężeniu (5% CO_2) ($pH = 4,9$), W a r b u r g nadal znajduje zużycie od 3 do 6 kwantów na cząsteczkę CO_2 . Fakt, że naturalna fotosynteza w morzach i oceanach, odbywająca się na olbrzymią skalę, czerpie dwutlenek węgla z dwuwęglanów przy zasadowym odczynie wody morskiej, przemawia za metodą E m e r s o n a.

Jeżeli rozkład wody w procesie fotosyntezy jest zjawiskiem enzymatycznym, korzystającym tylko częściowo z energii świetlnej, to trudno zaprzeczyć możliwości zużycia tylko 4 lub 8 kwantów w procesie fotosyntezy, jak podaje R a b i n o w i t c h. Natomiast przy procesie wyłącznie fotochemicznym schemat 12 kwantowy byłby uzasadniony termodynamicznie.

Z a k o ń c z e n i e

Poza wynikami W a r b u r g a, wyniki najnowszych badań wielu autorów zdają się całkowicie potwierdzać moje teoretyczne obliczenie wydajności kwantowej dla procesu fotosyntezy.

Jeżeli nowy schemat procesu asymilacji dwutlenku węgla odpowiada rzeczywistości i jeżeli rozkład wody jest reakcją wyłącznie fotochemiczną, to zapotrzebowanie energii świetlnej wyrażone w kaloriach powinno wynosić:

dla 1 gramoatomu uwolnionego H	119,5 kcal
dla 1 mola zasymilowanego CO_2	478 „
dla 1 mola wytworzonej glukozy	2868 „

Energia ta musi być roślinie dostarczona w odpowiedniej ilości kwantów energii świetlnej:

uwolnienie z wody 1 atomu H pochłania co najmniej 3 kwanty,
 redukcja 1 cząsteczki CO₂ „ „ 12 kwantów,
 „fotosynteza“ 1 „ glukozy „ „ 72 kwanty,
 przy długości fali 0,7 μ .

Zaznaczyć przy tym należy, że 72 mole kwantów energii świetlnej odpowiadałyby 2868 kcal przy długości fali 0,716 μ . Przy długości fali 0,7 μ 72 mole kwantów (po 40,8 kcal) przedstawiają ekwiwalent 2938 kcal.

Stosunkowo duże i jak gdyby nieekonomiczne zużycie energii świetlnej w procesie fotosyntezy mogłoby się wydawać mało prawdopodobne, gdyby nie fakt, że na ogół zjawisko to jest bardzo powszechne w świecie roślinnym. Gospodarka energetyczna roślin nie jest oszczędna. W procesie transpiracji roślina traci kilkadziesiąt razy więcej energii, niż jej zużywa do procesu fotosyntezy. Gdyby ciepło, wydzielone w procesie fotosyntezy, miało następnie służyć do zamiany wody ciekłej w parę, to według nowego schematu stanowiłoby ono tylko nieznaczną część energii zużywanej przez roślinę lądową w procesie normalnej transpiracji. U roślin zaś wodnych może ono służyć do ogrzewania organizmu.

Dostarczanie organizmom roślinnym dużych ilości ciepła przy fotochemicznym rozkładzie wody byłoby zapewne procesem dla tych organizmów korzystnym, chociażby ze względu na bezświetlne reakcje endotermiczne.

LITERATURA

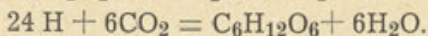
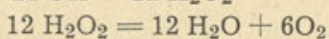
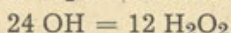
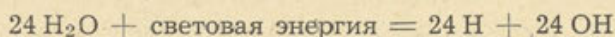
1. A r n o l d W. — A calorimetric determination of the quantum yield in photosynthesis — Franck and Loomis — *Photosynthesis in plants* — pp. 273—276, 1949.
2. B a e y e r A. — *Ber. deut. chem. Ges.* 3, 63, 1870.
3. B e r g s t r a n d E. — *Nature*, 165, No 4193, 405, 1950.
4. B e r t h e l o t M. — *Leçons sur les méthodes générales de synthèse en chimie organique* — Ganthier-Villars, Paris, 1864.
5. B r e d i g G. — *Umschau*, 18, 362, 1914.
6. E m m e r s o n R. and L e w i s C. M. — *Amer. Jour. Bot.*, 28, 789, 1941.
7. E m m e r s o n R. and L e w i s C. M. — *Amer. Jour. Bot.*, 30, 165, 1943.
8. E n g e l m a n n T. W. — *Botan. Z.*, No 26, 1882.
9. F r a n c k J. and L o o m i s W. E. — *Photosynthesis in plants* — Iowa State College Press, Ames, Iowa, 1949.

10. Gabrielsen E. K. — Einfluss der Lichtfaktoren auf die Kohlensäureassimilation der Laubblätter — E. Munksgaard, Kopenhagen, 1940.
11. Getman T. H. — Outlines of physical chemistry, 1946.
12. Glasstone S. — Physical Chemistry — MacMillan Co., London, 1948.
13. Hill R. and Scarisbrick R. — Proc. Roy. Soc., B, 129, 238, 1940.
14. Moore W. E. and Duggar B. M. — Quantum efficiency of photosynthesis in Chlorella — Franck and Loomis — Photosynthesis in plants — pp. 239—250, 1949.
15. van Niel C. B. — Arch. Microbiol., 1, 181, 1931.
16. Pauling L. — The nature of the chemical bonds — 1945.
17. Rabinowitch E. J. — Photosynthesis and related processes — Vol. I, Interscience Publ. Inc., New York, 1945.
18. Reinke J. — Botan. Ztg., 42, 1884.
19. Rieke F. F. — Quantum efficiencies for photosynthesis and photoreduction i green plants — Franck and Loomis — Photosynthesis in plants — pp. 251—272, 1949.
20. Ruben S. — J. Am. Chem. Soc., 65, 279, 1943.
21. Ruben S., Hassid W. Z. and Kamen M. D. — J. Am. Chem. Soc., 61, 661, 1939.
22. Ruben S., Kamen M. D., Hassid W. Z. and De Vault D. C. — Science, 90, 570, 1939.
23. Ruben S., Randall M., Kamen M. and Hyde J. L. — J. Am. Chem. Soc., 63, 877, 1941.
24. Scheibe G. — Naturwiss., 25, 795, 1937.
25. Syrkin A. K. i Diatkina M. E. — Chemiczeskaja swiaz i strojenije molekul — 1946.
26. Terenin A. N. — Fotochimia krasitielej — 1947.
27. Timiriazev A. K. — Compt. rend., 110, 1346, 1890.
28. Ursprung A. — Ber. deut. bot. Ges., 35, 44, 1917.
29. Vinogradov A. i Teis R. V. — Compt. rend. acad. sc., URSS, 33, 490, 1941.
30. Warburg O. und Negelein E. — Zt. Physik Chem., 102, 235, 1922.
31. Warburg O., Burk D., Schocken V. and Hendricks S. B. — Biochimica and Biophysica Acta, 4, 335, 1950.

П. Стребейко

ЭНЕРГЕТИКА ФОТОСИНТЕЗА

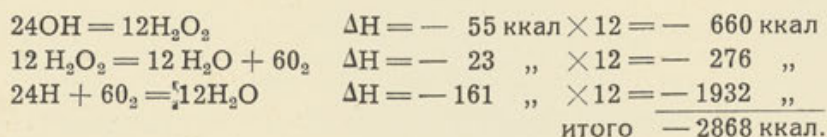
До недавнего времени предполагалось, что в процессе фотосинтеза, под влиянием световой энергии, поглощаемой хлорофиллом, происходит распад углекислоты, причем освобожденный из нее углерод соединяется с водой и образует сахар, а кислород выделяется растением. Изображалось это известной формулой: $6\text{CO}_2 + 6\text{H}_2\text{O} + \text{световая энергия} = \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 6\text{O}_2$. Опыты van Niel, Ruben и сотрудников; Виноградова и Теис вызвали существенное изменение наших взглядов на процесс фотосинтеза, ибо оказалось, что выделяемый растением кислород, получается не из углекислоты, а из воды, которая распадается на водород и кислород. Ассимиляцию углекислоты можно представить в четырех следующих уравнениях:



Из этих четырех реакций только первая есть фотохимическая реакция, остальные три — реакции бесцветные и экзотермические. В построении молекулы сахара принимают участие 12 атомов водорода, однако временно было zaangażировано в процессе 24 атома водорода, что должно найти отражение в обмене энергии во время фотосинтеза. В последние десять лет изменились в основном наши взгляды на механизм ассимиляции углекислоты зелеными растениями, однако наши взгляды на энергетику этого процесса до последнего времени не были проверены. Исследования квантового выхода, которым посвящается много труда, не внесли до последнего времени никаких основных изменений. Теплота разложения воды в состоянии пара при 180°C то есть 291°K , под постоянным давлением составляет по L. Pauling (1945) 220,3 ккал. В среднем приходится по 110 ккал на одно соединение кислорода с водородом, но А. К. Сыркин и М. Дяткина (1946) сообщают, что отделе-

ние первого атома водорода от кислорода в грамммолекуле воды требует 119,5 ккал, а отделение другого атома водорода требует только 99,5 ккал. Подобное явление наблюдаем в метане, где также отделение первого атома водорода от атома углерода требует большей энергии, чем отделение иного из оставшихся атомов водорода, что есть результатом резонанса.

Разложение 24 молей воды на атомы водорода и радикалы ОН требовалось вклада 2868 ккал ($24 \times 119,5$ ккал = =2868 ккал). Эту энергию легко находим в итоге трех последующих экзотермических реакций.



Так как разложение воды есть реакция фотохимическая, то 2868 ккал должны быть даны в форме световой энергии и хотя в последующих бесцветных реакциях энергия эта остается в превышающим числе выделенной в форме тепла или химической энергии, то однако не может она служить вторично в последующих реакциях разложения воды, так как опять требуется световая энергия. Только некоторые микроорганизмы имеют способность ассимиляции углекислоты, благодаря использованию химической энергии других экзотермических реакций. Ничто однако не указывает на то, чтобы зеленые растения имели такую способность. Если принять, что зеленые растения расщепляют воду только при помощи световой энергии, то мы должны согласиться с тем, что каждая разложенная грамммолекула воды поглощает по меньшей мере 119,5 ккал в форме световой энергии. Так как восстановление 1 моля CO_2 требует 4 грамматомов водорода, то она использует по меньшей мере 478 ккал.

$$\text{Энергия 1 моля квантов } E = 6,023 \cdot 10^{23} \cdot h \cdot \nu = 6,023 \cdot 10^{23} \frac{hc}{\lambda}$$

Если скорость света (c) и длину волны (λ) выразим в микронах (μ) а h в калориях, по формуле Planck придадим очень удобную, употребительную форму, а именно $E = \frac{28,5}{\lambda}$ ккал.

На основании литературы и собственных опытов начатых в кафедре экспериментальной физики Варшавского Университета, могу приблизительно принять, что фотосинтез начинается от длины волны 0,7 μ . Моль квантов монохроматического света о длине волны 0,7 μ имеет энергию

$$E = \frac{28,5}{0,7} \text{ ккал} = 40,7 \text{ ккал.}$$

Один моль квантов такого света не в состоянии дать 119,5 ккал нужных для освобождения 1 граммотома водорода из воды. Это требовалобы света надфиолетового о длине волны 0,238 μ , а так коротких волн нет в солнечном спектре. Только 3 моля квантов соответствующих длине волны 0,7 μ моглибы внести достаточное количество энергии ($40,7 \times 3 = 122,1$ ккал). Так как фотосинтез происходит при красном свете от длины волны 0,7 μ то здесь мы имеем дело с трехсистемной фотохимической реакцией, иначе говоря с тремя очередно по себе наступающими реакциями или с кумуляцией трех малых квантов в один большой.

Принимая во внимание очень короткий срок продолжения состояния возбуждения атома (порядка 10^{-8} сек.) кумуляция трех квантов кажется маловероятной, хотя в многоатомных молекулах пигментов, к которым принадлежит хлорофил, состояния возбуждения продолжаются гораздо дольше (порядка 10^{-8} сек.). Не предрешая имеем ли мы дело с тремя очередными фотохимическими реакциями или также с кумуляцией квантов, можем констатировать факт, что освобождение из воды 1 граммотома водорода требует по меньшей мере 3 молей квантов красного света.

Так как восстановление одной молекулы CO_2 требует по вышеупомянутой схеме 4 атома водорода, а отрыв атома водорода поглощает 3 кванта световой энергии, то следовательно процесс ассимиляции углекислоты должен быть 12 квантов, а его квантовый выход должен иметь 0,083.

Поза результатами О. Warburg, который находит, что квантовый выход фотосинтеза равняется 0,25 или 4 кванта на одну молекулу CO_2 , результаты опытов других авторов кажется всецело подтверждают мои исчисления. Arnold (1) находит 9 квантов, Emerson и Lewis (7) — 10 квантов,

Rieke (19) — до 11 квантов, а Moore и Duggar (14) — до 12 квантов на 1 молекулу CO_2 .

Если новая схема ассимиляции углекислоты отвечает действительности и если разложение воды есть реакция исключительно фотохимическая, то потребность световой энергии выраженной в каллориях должна составить для 1 граммота освобожденного Н 119,5 ккал, для 1 моля за-ассимилированной CO_2 478 ккал, для 1 моля образовавшейся глюкозы 2868 ккал.

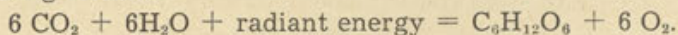
Эта энергия должна быть подведена расчислению в достаточном числе квантов световой энергии, а следовательно освобождение из воды 1 атома Н поглощает по крайней мере 3 кв,

восстановление 1 молекулы CO_2 поглощает по крайней мере 12 кв,

фотосинтез 1 молекулы глюкозы поглощает по крайней мере 72 кванта.

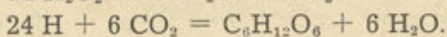
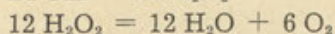
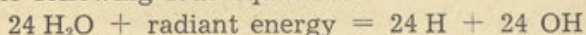
THE ENERGETICS OF PHOTOSYNTHESIS

Quite recently it was still believed that in the process of photosynthesis, taking place under the influence of radiant energy absorbed by chlorophyll, carbon dioxide is decomposed while carbon combines with water to form sugar, and oxygen is given off by the plant. This process was expressed by the following formula:



Investigations of C. B. van Niel (1931), S. Ruben and coworkers (1941), A. P. Vinogradov and R. V. Teis (1941) have completely changed our views on the process of photosynthesis. It appeared that oxygen evolved by plants does not derive from carbon dioxide but from water, which decomposes into hydrogen and oxygen.

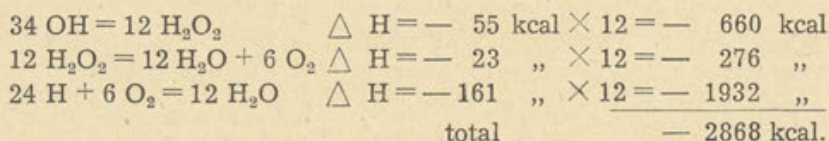
The assimilation of carbon dioxide may be represented by the following four equations:



Of these, only the first is a photochemical reaction. The other three are dark and exothermic reactions. Although, in a sugar molecule there are 12 hydrogen atoms, in the process of building up this molecule 24 hydrogen atoms must be involved, which appears in the transformation of energy during the photosynthesis.

During the past ten years our views on the mechanism of carbon dioxide assimilation by green plants changed fundamentally. But our views on the transformation of energy, taking place in this process, have not yet been revised. Investigations of the quantum efficiencies, to which much work and time was devoted, have not led, so far, to any changes. Heat of water decomposition, in gaseous state, at 18°C, i. e. 291°K under constant pressure, is according to L. Pauling (1945) 220,3 kcal, hence, it is 110 kcal per each oxygen-hydrogen bond. However K. K. Syrkin and M. Diatkina (1946) found that dissociation of the first atom of hydrogen from oxygen in a grammolecule of water, requires 119,5 kcal, while the removal of the second hydrogen atom requires 99,5 kcal only. A similar phenomenon may be observed with methan, where more energy is required to dissociate the first hydrogen atom from the carbon atom than for the removal of the successive atoms of hydrogen.

Decomposition of 24 moles of water into hydrogen atoms and OH would require 2868 kcal ($24 \times 119,5$ kcal). The above energy may easily be traced in the following exothermic reactions:



If we assume that the decomposition of water is a photochemical reaction, 2868 kcal must be supplied in the form of radiant energy. Although this energy is released in the subsequent dark reactions, chiefly in form of heat or chemical energy, it cannot be used further for water decomposition, as for that purpose radiant energy is required. There are some microorganisms which are able to assimilate carbon dioxide making

use of the chemical energy of different exothermic reactions. There are no indications however, that green plants possess such ability. If however we assume that green plants decompose water using radiant energy only, we must accept that each decomposed grammolecule of water absorbs at least 119,5 kcal in form of radiant energy. As the reduction of one mol of CO_2 requires 4 gram-atoms of hydrogen, it will require at least 478 kcal. One mol of quanta

$$E = 6,023 \cdot 10^{23} h \cdot \nu = 6,023 \cdot 10^{23} \frac{h \cdot c}{\lambda}$$

If the velocity of light (c) and the wave length $\lambda \mu$ are expressed in microns (μ) and h in calories, then Planck's formula will take a very convenient form viz.

$$E = \frac{28,56}{\lambda} \text{ kcal.}$$

From publications of other workers and from my own experiments at the Institute of Experimental Physics of the Warsaw University, I may assume that photosynthesis begins approximately at the wave length 0.7μ . One mol of quanta of monochromatic light of 0.7μ wave length, has the energy

$$\frac{28,56}{0,7} = 40,7 \text{ kcal.}$$

One mol of quanta of such light cannot supply 119,5 kcal required for the liberation of one hydrogen gramatom from water. This would require ultraviolet light of 0.238μ wave length, and there are no such short waves in the solar spectrum. Three mols of quanta corresponding to wave length 0.7μ could supply a sufficient quantity of energy ($40.7 \cdot 3 = 122,1$ kcal).

As photosynthesis takes place in red light, from wave length $0,7 \mu$ it is a three-stage photochemical reaction, i. e. three consecutive reactions, or a cumulation of three small quanta into one large quantum.

Because of a very short life of the excited state of atom (of the order of 10^{-8} sec) cumulation of three quanta seems little probable, although in multi-atomic molecules of pigments, to which chlorophyll belongs, duration of the excited state may be much longer (from 10^{-8} to 1 sec). Whether there

are three consecutive photochemical reactions, or else cumulation of three quanta, the fact may be ascertained that liberation of 1 gramatom of hydrogen from water requires at least 3 mols of quanta of red light.

The reduction of one molecule of CO_2 requires (according to the above) 4 atoms of hydrogen and the separation of one atom of hydrogen absorbs 3 quanta of radiant energy, hence the process of carbon dioxide assimilation requires 12 quanta, and its quantum efficiency should be 0.083. O. W a r b u r g found quantum efficiency to be 0,25 (i. e. 4 quanta per one molecule of CO_2).

Results obtained by other authors seem to agree with and confirm my calculations. A r n o l d (1) gives 9 quanta, Emerson and Lewis (6) 10 quanta, R i k e (19) up to 11 quanta, and M o o r and D u g g a r (14) up to 12 quanta per one molecule of CO_2 .

If the new scheme of assimilation of carbon dioxide is true and if the decomposition of water is an exclusively photochemical reaction, then the requirement of radiant energy expressed in calories must be:

for 1 gramatom of liberated H	119,5 kcal
for 1 mol of assimilated CO_2	478 „
for 1 mol of glucose produced	2868 „

This energy must be supplied to plants in adequate number of quanta of radiant energy i. e.:

liberation of 1 atom of H from water absorbs at least 3 quanta,
 reduction of 1 molecule of CO_2 absorbs at least 12 quanta,
 photosynthesis of 1 molecule of glucose at least 72 quanta.

Posiedzenie

dnia 26 maja 1950 r.

Heliodor Szwejkowski

O tzw. narządach „fagocytarnych“ *Dioctophyme renale* Goeze

Przedstawił czł. W. Stefański

Z Zakładu Patologii Ogólnej i Anatomii Patologicznej Wydziału
Weterynaryjnego U. W.

Kierownik: Prof. dr Heliodor Szwejkowski

Na narządy „fagocytarne“ u nicieni, znane pod nazwą „ciałek krzaczastych“, „narządów gwiazdzistych“ (büschelförmige Organe“, „organes en forme d'étoile“), pierwszy zwrócił uwagę Bojanus (1818 i 1821), co zostało jednak zapomniane. W 1855 „odkrył“ je na nowo Lieberkühn, lecz i wtedy uległy one zapomnieniu¹. Dość pobieżnie mówi o nich Schneider (1866), przypisując posiadanie owych narządów wszystkim nicieniom; najbardziej te narządy mają się według niego uwydatniać u *Parascaris equorum* i *Ascaris lumbricoides*. Leuckart (1876) w swym dziele „Die menschlichen Parasiten“ niemal całkowicie pomija te twory, poświęcając im tylko uwagę w odsyłaczu na str. 166, w którym powołuje się na Bojanusa i Schneidera i mówi o tych narządach jako o „flockige, dunkelfarbige Büschel“; zaznacza jednak, że są większe u *Parascaris equorum* niż u *Ascaris clavata*. Obszerniej potraktował je Hamann (1895) w pracy „Die Nematelminthen“. Nasonow (1897—1900),

¹ Cyt. według Nasonowa (1896) — K anatomii i biologii krugłych czerwiej. Rab. iz Łab. Zoolog. Kab. Warsz. Un., S. 150.

który nazwał omawiane narządy „organes en forme d'étoile“, opracował je bliżej pod względem morfologicznym u szeregu nicieni, przy czym wyraźnie wskazywał na znaczenie fagocytarne owych tworów. W związku z tym rozwinęła się polemika między nim a S p e n g e l e m (1897), który zaprzeczał poglądom N a s o n o w a. N a s o n o w odpowiedział artykułem, w którym przytacza wyniki swych badań doświadczalnych zmierzających do ustalenia fizjologicznej działalności narządów „gwiazdzistych“. Prawie jednocześnie z N a s o n o w e m opracowywał kwestię fagocytozy u *Parascaris equorum* — M e t a l n i k o w (1897). N a s o n o w w szeregu doświadczeń, posługując się zawiesinami barwników, jak też bakterii (*Bac. subtilis*, zabite prątki gruźlicy) wykazywał, że następuje wchłanianie wymienionych ciał po wprowadzeniu ich do jamy ciała przez narządy „fagocytarne“ u *Ascaris*. Podobne wyniki otrzymał M e t a l n i k o w posługując się barwnikami. Narządy, którym przypisywano właściwości fagocytarne u różnych nicieni nie tylko u *Ascaridae*, opracowywali również pod względem morfologicznym i fizjologicznym M e t a l n i k o w, L. J ä g e r s k i ö l d, C o b b, H a m a n n, S p e n g e l i in. Dzisiaj zdaje się już nie ulegać wątpliwości, że narządy oznaczone jako „fagocytarne“ istotnie posiadają właściwości żercze u rodz. *Ascaris* i pokrewnych. N a s o n o w podał w jednej z prac bardziej szczegółowy opis wspomnianych narządów u szeregu nicieni, między innymi zaś i u *Diectophyme renale*. Co do tego ostatniego pasożyta wymieniony autor wysunął tylko przypuszczenie, że narządy, które u niego stwierdził, są analogiczne do tych, które obserwował i badał u *Ascaris osculata*, *A. ferox*, *A. decipiens*, *Sclerostomum armatum* i in. Doświadczalne badanie właściwości fagocytarnych tych komórek nie powiodło się jednak, gdyż — jak pisze N a s o n o w, „iniekcje karminu i tuszu z powodu niedostateczności materiału dały wyniki niepewne“. Ł u k a s i a k (1930), który powtarzał te doświadczenia, pisze:

„...Am lebenden Wurme habe ich Carmin-Iniektionen gemacht u. Wurm nach 24, resp. 36 Stunden sezirt. Eine Farbstoffaufspeicherung in diesen Zellen konnte nicht in allen Fällen festgestellt werden“.

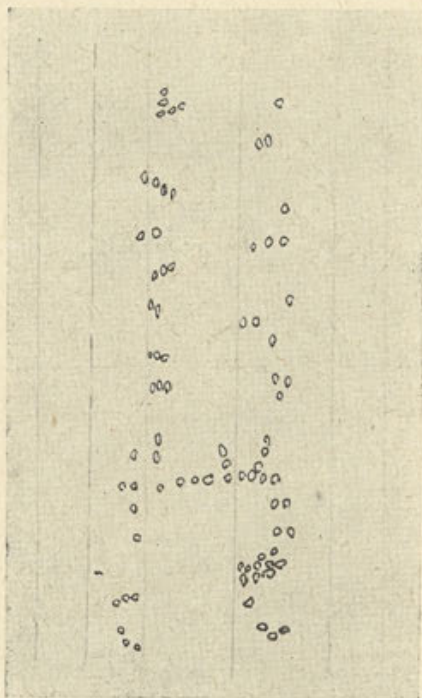
Zadaniem niniejszej pracy rozpoczętej z inicjatywy prof. K. J a n i c k i e g o było sprawdzenie, czy przypuszczenie wypowiedziane przez N a s o n o w a jest słuszne. Chodziło przede o znalezienie, jeśli to będzie możliwe, dowodów fizjologicznych i morfologicznych bądź potwierdzających pogląd wypowiedziany przez tego autora, bądź przemawiających przeciwowemu pogładowi.

M a t e r i a ł

Jak już wspomniano, N a s o n o w nie mógł ustalić eksperymentalnie właściwości fizjologicznych wchodzących w grę komórek z powodu braku dostatecznej liczby żywych egzemplarzy *D. renale*. Piszący te słowa również rozporządzał nader skąpym materiałem, gdyż mimo tego, że gatunek *D. renale* w okolicach Warszawy występował w swoim czasie może częściej niż gdzie indziej w Europie (R o t s t a d t, Ł u k a s i a k, S z w e j k o w s k i), to jednak jego występowanie charakteryzuje wybitna kapryśność. W związku z tym nie można było zapewnić sobie stałego dopływu świeżych żywych egzemplarzy tego pasożyta w sposób tak łatwy, jak np., *Parascaris*, tym bardziej, że cykl rozwojowy *D. renale* nie był znany, co samo przez się wykluczało możliwość uzyskania materiału drogą „hodowli“.

W latach 1930—1932 (luty) piszący te słowa miał do rozporządzenia zaledwie trzy żywe egzemplarze i kilka martwych, lecz stosunkowo świeżych. Dopiero w okresie 1934—1939 można było powtórzyć doświadczenia na żywym materiale, mające na celu sprawdzenie doświadczeń wykonanych poprzednio. Materiał żywy pochodził z miedniczek nerkowych lub z jamy brzusznej psów, których zwłoki były poddawane sekcjom w Zakładzie Utylizacyjnym Zarz. m. st. Warszawy, i w Zakładzie Patologii Ogólnej i Anatomii Patologicznej Wydz. Wet. U. W. Ogółem wykonano 10 doświadczeń na żywych dojrzałych egzemplarzach pasożytów (8 samic, 2 samce). Prócz tego posługiwano się przy opracowaniu morfologii komórek „fagocytarnych“ materiałem zakonserwowanym w formolu, pochodzącym ze zbiorów Zakładu Zoologii U. W. udestępnionym mi przez dr M. J a n i c k i e g o, za co, jak też za szereg cennych wskazówek, składam Mu na tym miejscu podziękowanie.

Jeżeli otworzyć wór skórnomięśniowy *Dioctophyme renale* od strony brzusznej obok linii wentralnej, a następnie usunąć narządy płciowe i podważyć jelito lub ostrożnie je odpreparować — to wzdłuż linii grzbietowej na wisceralnej powierzchni komórek mięśniowych daje się zauważyć nawet gołym okiem, a wyraźniej już przy niewielkim powiększeniu, ciągnące się dwoma pasmami wzdłuż linii bocznych szeregi drobnych i przeważnie owalno-okrągłych komórek (rys. 1)¹. Pasma owych komórek przebiegają poczynając od miejsca, w którym przelyk przechodzi w jelito — prawie aż do końca tylnego odcinka ciała.



Rys. 1. Schemat ułożenia narządów „fagocytarnych“ w jamie ciała *D. renale*.

¹ N a s o n o w podaje w swej pracy ogłoszonej w Arch. f. mikroskop. Anat. u. Entwicklungsgeschichte, Bd. LV, 1899, na tabl. XXVIII, fig. 1, rysunek przedstawiający ułożenie komórek fagocytarnych po odpreparowaniu jelita.

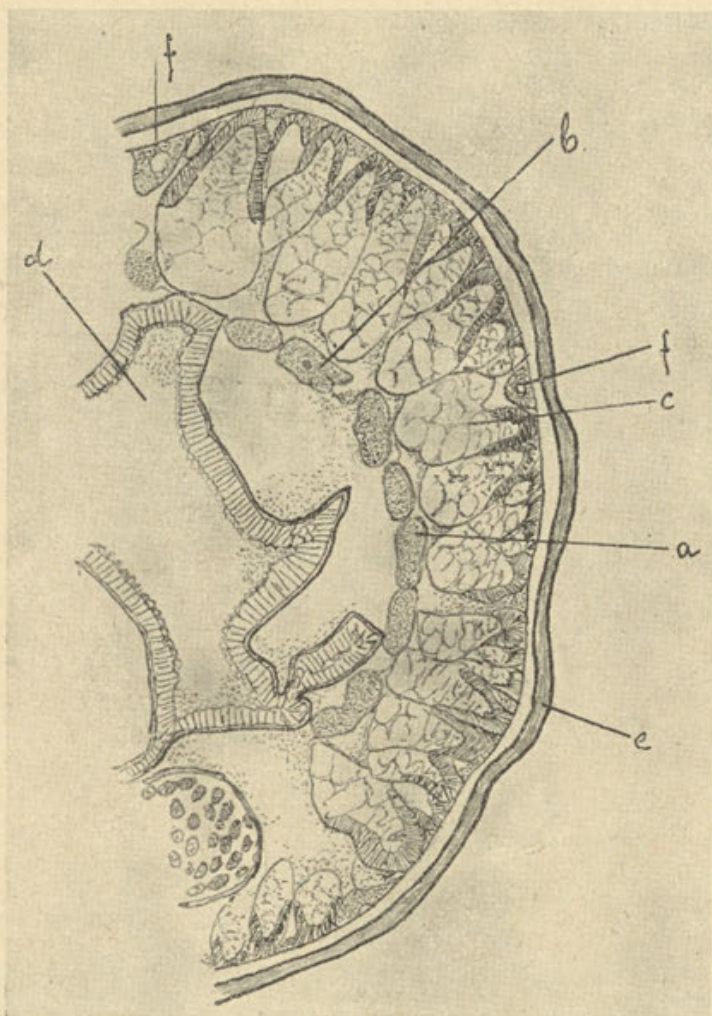
Liczba komórek „fagocytarnych“ jest znaczna, zwłaszcza u dłuższych egzemplarzy, które posiadają nawet po kilkaset omawianych elementów. Średnia obliczona z szeregu przypadków wykazuje, że na 1 cm bieżący całkowitej długości ciała wypada 9,36 komórek „fagocytarnych“, a około 14, jeśli wziąć pod uwagę tylko ten odcinek ciała, w którym komórki te są rozmieszczone. Zdarzają się jednak miejsca, w których na przestrzeni 1 cm bieżącego można naliczyć nawet około 20 komórek. Zamieszczona poniżej tabelka przedstawia wyniki obliczeń liczby komórek „fagocytarnych“ stwierdzonych u 4 samic i 2 samców:

L.p.	Płeć	Długość całkowita pasożyta w mm	Ogólna ilość komórek fag.	Średnio na 1 cm bież.
1	♀	498	576	11,5
2	♀	659	605	9,4
3	♀	506	747	14,7
4	♀	453	380	8,4
5	♂	232	169	7,0
6	♂	296	156	5,2

Wielkość komórek waha się w stosunkowo niewielkich granicach. U samic z reguły komórki są większe niż u samców; wymiar osi długiej komórki przekracza 1 mm, oś poprzeczna jest krótsza. Spotyka się również komórki o długości 0,6 mm, a najmniejsze mierzą 0,32 mm. Nawet u tego samego osobnika wielkość i kształt komórek bywają nader rozmaite. Nie stwierdzono specjalnej zależności pomiędzy wielkością komórek „fagocytarnych“ a ich umiejscowieniem w przedniej, środkowej czy tylnej okolicy ciała.

Barwa komórek w poddanych sekcji świeżych egzemplarzach pasożyta bywa najczęściej brunatnozielonkawa, jednak spotyka się również u poszczególnych egzemplarzy zabarwienie brunatnobrazowe lub szarozółtawe. Im jaśniejsza jest barwa kutikuli — tym jaśniejsze zabarwienie wykazują również komórki „fagocytarne“. W materiale utrwalonym w formolu zabarwienie bywa przeważnie ciemnobrunatne tak, że nawet komórki dość słabo uwydatniają się na szarawym tle mięszkowej części mięśnia.

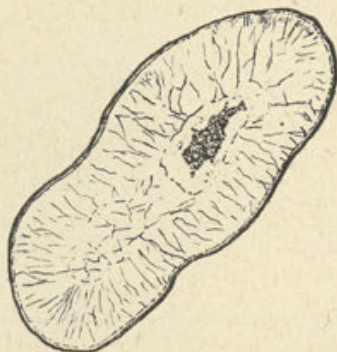
Ułożenie. Komórki przyczepione są do „krezki“ w ten sposób, że ta ostatnia wiąże komórkę z jednej strony z linią boczną, względnie z komórkami mięśniowymi, z drugiej zaś



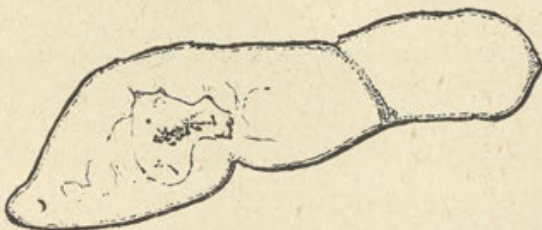
Rys. 2. Część przekroju poprzecznego przez ciało *D. renale*.
(Pow. ok. 10 razy)

a) komórki fagocytarne zawieszane na kreskach w jamie ciała *D. renale* ułożone rzędem, b) komórka fagocytarna, w której na przekroju widoczne jest jądro, c) komórki mięśniowe, d) jelito, e) skóra, f) linie boczne.

strony — z jelitem, lub ściślej mówiąc z kreską jelita, mesenterium (Leuckart) (rys. 2). Komórki leżą w grupach po 2—10, przy czym „schodzą“ one czasem z linii bocznych na linię grzbietową tworząc zgrupowania poprzeczne. Niektóre z komórek leżą tak blisko ściany jelita, że nawet przy delikatnym jego usuwaniu — w celu odsłonięcia narządów „fagocytarnych“ — pozostają przy jelicie w miejscu przyczepu mięśni promienistych.



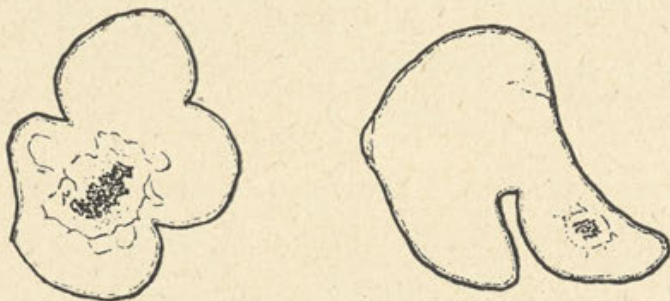
Rys. 3. Izolowana komórka „fagocytarna“. Barwiona hematoksyliną żelazistą. (Pow. ok. 80 razy)



Rys. 4. Komórka „fagocytarna“ o wyglądzie sierpowatym. (Pow. ok. 80 razy)

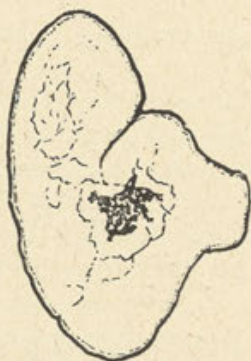
Kształt komórek jest przeważnie owalno-eliptyczny, jednak cechuje je znaczny polimorfizm uwydatniający się szczególnie w materiale utrwalonym. Niektóre komórki mają kształt owalno - okrągły, inne sercowaty, łagodnie sierpowaty lub wygląd biskopka z dość głębokim wrębem środkowym, przewężającym trzon komórki; jeszcze inne mają kształt zbliżony do topora, klina lub też krzyża o skróconych belkach, zao-

krąglonych na obwodzie (rys. 3—7). Czasem komórka posiada siodełkowe wgłębienie, w którym osadzona jest klinowato sąsiednia. Ł u k a s i a k omawiając kształt komórek „fagocytarnych“ nadmienia, że mają one „...sehr undeutlich ausgesprochene Umrisse“, co nie wydaje się jednak ściśle: w obserwo-



Rys. 5. Komórka „fagocytarna“ w kształcie krzyża ze skróconymi i zaokrąglonymi belkami. (Pow. ok. 80 razy)

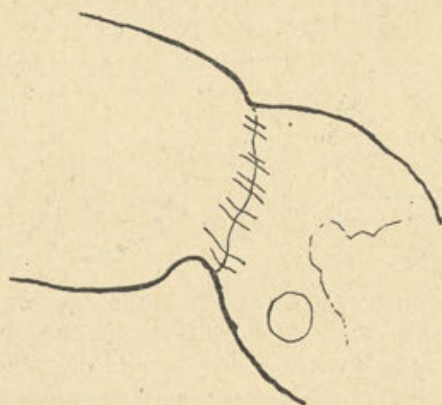
Rys. 6. Komórka „fagocytarna“ w kształcie topora. (Pow. ok. 80 razy)



Rys. 7. Komórka „fagocytarna“ o wyglądzie sercowatym z dość głęboką zatoką. (Pow. ok. 80 razy)

wanych przez nas przypadkach zawsze dawał się stwierdzić wyraźny zarys, chociaż w preparatach niebarwionych lub barwionych w sposób mało różnicujący istotnie jest on mniej ostry niż w preparatach uzyskanych drogą skrawków. Żadnych połączeń, zrostów pomiędzy leżącymi obok siebie komórkami nie zauważono w skrawkach seryjnych, a szwy uwydatniające się gdzieś w preparatach mikroskopowych pomiędzy posz-

czególnymi komórkami okazywały się sfałdowaniami „krezki“ (rys. 8). N a s o n o w opisując powyższe komórki wspomina o włóknach, w które wchodzi wypustki plazmy. Ani w preparatach totalnych, ani też w preparatach skrawkowych nie stwierdzono w naszym materiale podobnych tworów. Należy przypuszczać, że chodzi tu raczej o pewne złudzenie, któremu



Rys. 8. Delikatne szwy spajające 2 sąsiednie komórki

ulega się przystępując do obserwacji omawianych elementów. Mianowicie, przy izolowaniu komórek — jak już to wyżej wspomniano — odrywa się również część „krezki“, która skręcając się wkoło swej osi przybiera wygląd ostro zakończonych kolca stanowiącego pozornie przedłużenie komórki. Prawdopodobnie i Ł u k a s i a k obserwował takie właśnie pozorne wyrostki, co do których nie miał pewności, czy stanowią integralną część komórki „fagocytarnej“. Tylko w nielicznych miejscach udaje się stwierdzić bardzo krótkie kolczaste stożkowate wypustki komórek, które w skrawkach seryjnych okazują się jednak raczej sfałdowaniami powierzchniowej warstwy komórek „fagocytarnych“ (rys. 9).

B a d a n i a h i s t o l o g i c z n e

Część świeżego materiału pokrajanego na mniejsze odcinki poprzeczne utrwalano w sublimacie z kwasem octowym na gorąco; małe kawałeczki do badań cytologicznych w płynie F l e m i n g a, część materiału w formalinie 4 — 10%,

w formalinie z dwuchromianem potasu, w alkoholu absolutnym, w chloroformie z alkoholem absolutnym. Podobnie postępowano z izolowanymi komórkami „fagocytarnymi“, które utrwalono ponadto w płynie B o u i n a. Materiał zatapiano w parafinie, częściowo w celoidynie-parafinie. Część materiału, utrwalonego w formalinie do badania w kierunku ewentualnego ustalenia obecności tłuszczów, krajano na mikrotomie do zamra-

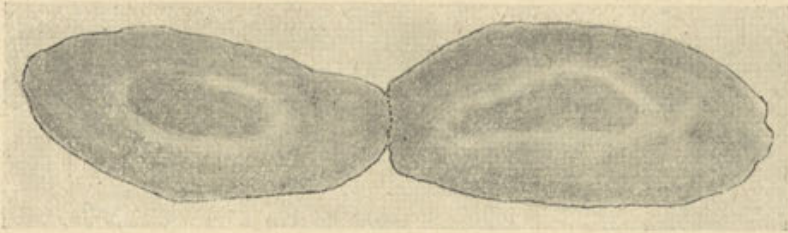


Rys. 9. Komórka „fagocytarna“ z krótkimi wyrostkami

zania, po uprzednim zatopieniu w żelatynie i stwardnieniu jej za pomocą stężonej formaliny. Do barwienia stosowano hemalaun, karmin ałunowy i boraksowy oraz orceinę, a z metod kombinowanych — hematoksylinę D e l a f i e l d a - eozynę, hematoksylinę E h r l i c h a - eozynę, hemalaun - eozynę, barwnik R o m a n o w s k y - G i e m s a i in. Z całego szeregu otrzymanych bloczków sporządzano serie skrawków, z których część poddano impregnacji srebrem metodą A c h u c a r r o w modyfikacji W a l k i e w i c z a (inform. ustna). Najbardziej delikatne i instruktywne preparaty mikroskopowe uzyskano za pomocą utrwalania w płynie F l e m i n g a i barwienia za pomocą safraniny-fioletu goryczki-oranżu G. Roztwór safraniny przygotowywano według przepisu W i n i w a r t e r a.

Dla zorientowania się co do składu biochemicznego komórek fagocytarnych stosowano metody B e s t a i B a r f u r t h a — do wykrywania glikogenu, oraz sudan III, szkarłat R, siarczan błękitu nilowego i kwas osmowy — do wykrywania tłuszczów i ciał im pokrewnych.

K o m ó r k i i z o l o w a n e n i e b a r w i o n e, (rys. 10) rozpatrywane pod małym powiększeniem, przedstawiają się jako twory, których środek jest nieco zagęszczony i ciemniejszy od części obwodowej. Przeważnie komórki izolowane ze świeżego materiału mają kształt mniej lub więcej okrągłowy i nie uwidaczniają zatok i wrębów dających się spostrze-



Rys. 10. Dwie izolowane komórki „fagocytarne“ niebarwione.
(Pow. ok. 80 razy)

gać w skrawkach mikroskopowych. Izolowanie tych komórek odbywa się w ten sposób, że w celu uniknięcia zgniecenia komórki odrywa się ją szczypczykami wraz z „kreską“, na której jest ona zawieszona.

K o m ó r k i i z o l o w a n e b a r w i o n e. Jeżeli na izolowaną nieutrwaloną komórkę puścić kroplę barwnika np. błękitu metylenowego — zabarwia się ona tak, że uwydatnia się jądro wykazujące kształty nieregularne, obecność zatok i wyrostków rozchodzących się w różnych kierunkach. Dość szeroka przestrzeń pomiędzy jądrem a zarodnią jest nieco jaśniejsza, mniej zawiera ziarnistości układających się najgęściej w obwodowej części komórki. Stanowiłoby to do pewnego stopnia dowód, że jaśniejszy pas uwydatniająca się na zdjęciach fotograficznych (fot. 1) z komórek utrwalonych i barwionych w skrawkach nie jest artefaktem, lecz odpowiada stosunkom dającym się zaobserwować również w materiale nieutrwalonym, czyli nie został wywołany przez utrwalenie, które częstokroć powoduje kurczenie się lub koagulowanie niektórych elementów i struktur komórkowych. Czasem daje się zauważyć w poszczególnych komórkach niewielkie wodniczki występujące w liczbie kilku w jednej komórce w postaci jaśniejszych plamek (fot. 2). Leżą one bądź bardziej obwodowo, bądź bliżej jądra



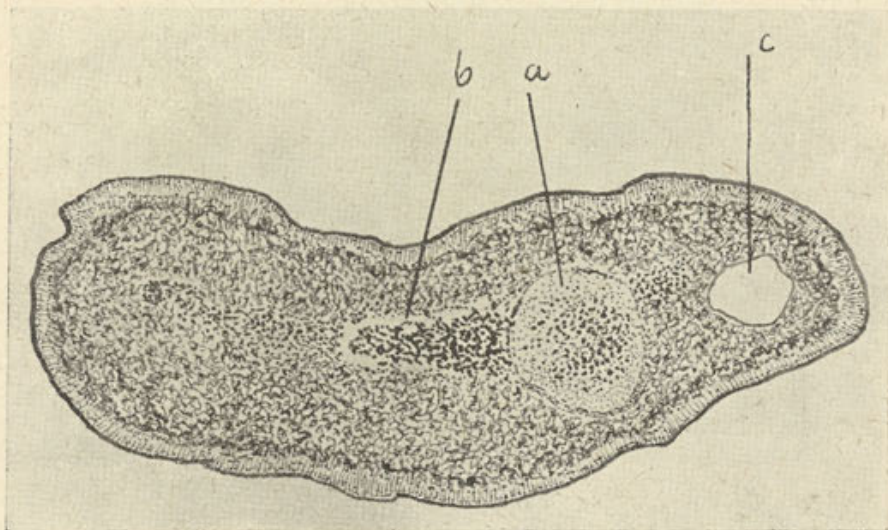
Fot. 1. Część przekroju poprzecznego przez *D. renale*. Na zdjęciu widać kilka komórek „fagocytarnych“ leżących na powierzchni mięszonej mięśni



Fot. 2. Przedstawia w powiększeniu górną klinową komórkę z charakterystycznym wrębiastym jądrem (to samo zdjęcie fot.)

w wąskiej jaśniejszej przestrzeni, o której była wyżej mowa (rys. 11, 12).

Obrazy uzyskane drogą skrawków grubszych lub cieńszych (najcieńsze 6 mikr.) wyraźniej uwydatniają szczegóły budowy jądra i plazmy.

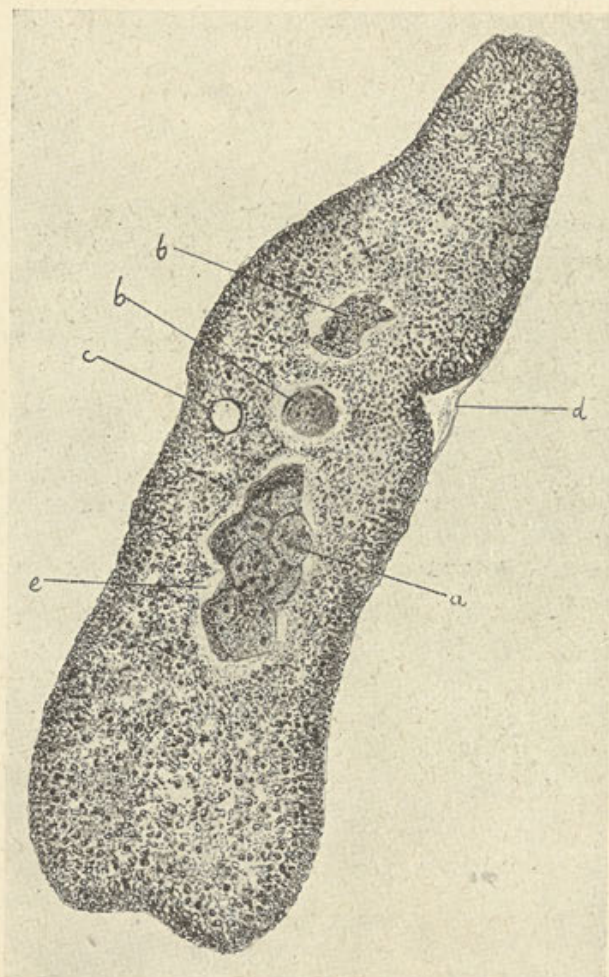


Rys. 11. Komórka „fagocytarna“ zabarwiona hemalaunem i eozyną
(Pow. ok. 80 razy)

a) pęcherzykowata część jądra, b) ziarnista część jądra, c) wodniczka

Komórka jest otoczona całkowicie przez stosunkowo grubą błonkę wykazującą dość zbite utkanie złożone z cienkich, gęsto ułożonych warstw blaszek, względnie pasemek. W preparatach z materiału utrwalonego w płynie F l e m i n g a przyjmują one przy ostrożnym barwieniu hemalaunem barwę szaroniebieską, zaś ciemnoniebieską przy barwieniu hematoksyliną E h r l i c h a. Preparaty impregnowane srebrem wykazują niemal czarną barwę błonki. W niektórych komórkach widać na powierzchni delikatne zmarszczki.

Tuż pod błonką rozciąga się dość cienka warstwa ziarenkowata, dobrze barwiąca się wszystkimi barwnikami. Najgrubsze z ziarenek mają niekiedy ponad 3 mikr. średnicy. Jest to więc gruboziarnista część protoplazmy, przy czym ziarenka te



Rys. 12. Komórka „fagocytarna“. Utrwalona w płynie Fleminga, barwiona hemalaunem. (Pow. ok. 300 razy)

a) jądro pęcherzykowate z grudkami chromatyny, b) ziarniste części jądra, c) wodniczka, d) krezka, e) jaśniejsze pole około jądra

Komórka przedstawiona na niniejszym rysunku pochodzi z preparatu krajane go seryjnie. W rzeczywistości wszystkie 3 części jądra łączą się z sobą i jądro posiada kształt zbliżony do trójzębnego

nie leżą luźno, lecz są ze sobą spojone delikatnymi „mostkami“. Warstwa owa osiąga w niektórych miejscach grubość ok. 16 mikr. Bardziej przyśrodkowo od niej położona jaśniejsza część plazmy jest podzielona delikatnymi przegródkami odchodzącymi od błony komórkowej, czy też od warstwy leżącej tuż pod



Rys. 13. Część środkowa komórki „fagocytarnej“. Z preparatu utrwalonego w płynie Fleminga, impregnowanego srebrem.

(Pow. ok. 300 razy)

a) pęcherzykowate jądro z grudkami chromatyny w postaci czarnych ziarenek, b) „komory“ części protoplazmatycznej komórki pooddzielane włókieńkami, c) warstwa gruboziarnista zarodki

nią, a stanowiącymi rusztowanie, w którego oczkach rozmieszczone są mniejsze lub większe skupienia ziarenek. W niektórych komórkach włókieńka te tworzą całkiem regularne komory ułożone podobnie jak w plastrze miodu, przy czym podobieństwo to zwiększa się o tyle, że posiadają one nieraz właśnie taki dość regularny kształt sześcioboczny w przekroju optycznym (rys. 13). Tak regularny układ rusztowania można było stwier-

dzić tylko w niektórych komórkach „fagocytarnych“ przy stosowaniu metody srebrzenia. Niekiedy włókienka rusztowania w preparatach impregnowanych srebrem dochodzą prawie do samego jądra, a właściwie do delikatnego jaśniejszego terytorium otaczającego jądro jakby aureolą. Szerokość tej przestrzeni wynosi w miejscach najszerszych około 6 mikr. W pobliżu biegunów komórki, włókienka rusztowania układają się w ten sposób, że ograniczają sobą większe pęcherzykowate komory zawierające jednak podobną ziarnistość jak i reszta komórki. Nie są to przeto właściwe wodniczki, które są znacznie mniejsze od opisywanych tworów pęcherzykowatych i choć zdają się posiadać również cieniutkie ściany utworzone z włókienek, wykazują jednak inną zawartość, mającą wygląd zhomogenizowany. Zawartość ta posiada powinowactwo do barwników kwaśnych. Liczba owych wodniczek bywa różna (2—5, a nawet więcej), najczęściej jednak spotyka się po dwie w obrębie komórki, ułożone na przeciwległych jej biegunach (rys. 9).

Jądro dochodzące do 200 mikr. długości, złożone z silnie barwiących się grudek chromatynowych posiada kształt wybitnie nieregularny. Brzegi jego są czasami wyraźnie postrzępione; liczne zatoki wcinają się mniej lub więcej głęboko w trzon jądra, wskutek czego powstają liczne kolczaste wyrostki tak, że jądro przypomina swym wyglądem zgnieciony i powyginywany owoc kasztana. Niekiedy jedna strona jądra wykazuje zarys łukowato-wypukły, druga zaś jest wklęsła, obficie postrzępiona (rys. 14). Na skrawkach seryjnych widać w kolejnych przekrojach nie łączące się z sobą 2—3 fragmenty substancji chromatynowej. Z rekonstrukcji wynika, że jądro miało kształt trójzęba lub rogala itp. (rys. 12). Nitek, które by łączyły z sobą poszczególne grupki chromatyny, nie stwierdzono. Niekiedy substancja chromatynowa jądra jest tak zagęszczona, jakby uległo ono procesowi pyknozy.

Poszczególne grudki substancji jądrowej są przeważnie kształtu okrągławego i w całym szeregu preparatów leżą całkiem luźno. W niektórych skrawkach zauważono wokół jądra jaśniejsze terytorium, odgraniczające jądro od plazmy komórki (rys. 14). Jądra takie zawierały szereg dobrze uwydatnionych pęcherzyków eliptycznego kształtu tkwiących wśród licznych, okrągławych, stosunkowo dużych grudek chromatyny. Jak wi-



Rys. 14. Część komórki „fagocytarnej“ barwionej hematoksyliną Ehrlicha i eozyną. (Pow. ok. 300 razy)

a) ziarniste, zatokowate jądro, b) kreska

dać z rysunku (rys. 12), środek jądra zajmuje tu największy pęcherzyk długości około 43 mikr., a szerokości około 21 mikr. Pęcherzyk ten posiada z kolei w środku twór eliptyczny długości około 6 mikr., otoczony ze wszystkich stron przez jednolitą wybarwioną masę dającą krótkie wypustki w obrębie dużego pęcherza, łatwo rzucające się w oczy na jaśniejszym jego tle. Poniżej, w obrębie większego pęcherza leży nieco mniejszy od poprzedniego. Posiada on w środku silnie wybarwioną grudkę chromatyiny. Jądro zawiera jeszcze szereg innych pęcherzyków mniejszych jednak od wyżej opisanego.

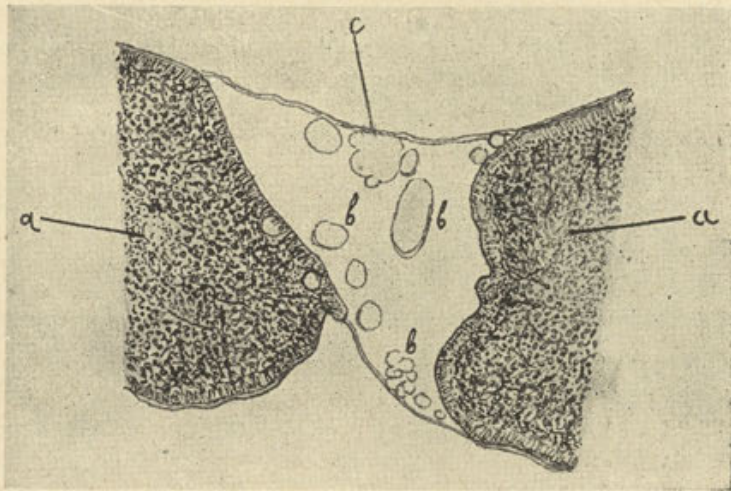
Liczbę ich trudno ustalić, gdyż leżą one w różnych przekrojach optycznych; w każdym razie można przypuszczać, że nie było ich mniej niż 10. W pobliżu jednej z grudek chromatyny leżących poza opisanymi pęcherzykami spotkano na jednym z przekrojów tego jądra ziarenko silnie załamujące światło, co nasuwa przypuszczenie, że może to być centrosom i że komórka znajduje się w stadium podziału, chociaż cech mitozy obraz jądra nie pozwolił ustalić z całą pewnością. W jądrach komórek utrwalonych w płynie F l e m i n g a spotykano grudki chromatyny zbite, ułożone biegunowo w plazmie komórki, lecz również i tu nie stwierdzono wyraźnej mitozy.

W preparatach impregnowanych srebrem w niektórych komórkach stwierdzono również obecność stosunkowo dużych pęcherzyków, wyraźnie odgraniczonych od jądra. W każdym z takich pęcherzyków można było stwierdzić obecność kilku większych okrągławych ziarn silnie zabarwionych na kolor brązowoczarny. Odnosi się wrażenie, że luźna ziarnista część substancji jądra spaja szereg tych pęcherzyków, wskutek czego jądro przyjmuje wygląd gruzłowaty.

W preparatach impregnowanych srebrem słabiej uwydatniają się poszczególne warstwy niż w preparatach zabarwionych hematoksyliną E h r l i c h a. Natomiast dość wyraźnie zaznaczają się nitki dzielące miąższ komórki na szereg komór, przy czym utworzone w ten sposób ścianki są oblepione ziarenkami zarodki. Niteczki te — jak już wyżej wspomniano — odchodzą od błony komórkowej i biegnąc zygzakowato docierają do jaśniejszej strefy otaczającej jądro, wskutek czego powstaje obraz siateczki promienisto rozchodzącej się od jądra ku obwodowi komórki. Siateczka owa w niektórych komórkach zaznacza się silniej, w innych słabiej. Niewielkie wodniczki o ostro zarysowanych ściankach, leżące w pobliżu jądra lub na obwodzie komórki wydają się optycznie puste, mimo tego, że w komórkach izolowanych wykazywały przeważnie jednolitą treść barwiącą się kwaśnymi barwnikami. W preparatach zabarwionych orceiną, metodą U n n a - T a e n z e r, zostaje podkreślona wyraźniej grubość błony komórkowej oraz rysunek nitek rusztowania wewnątrz komórki.

Zasługuje na podkreślenie, że prawie każda komórka „fagocytarna“ posiada na zewnętrznej stronie błony komórkowej

po kilka lub nawet po kilkanaście ziarenek o własnościach polichromatofilnych (rys. 15). Eozyną barwią się one na czerwono, hemalaunem na kolor szarostalowy, kwasem osmowym na czarno itd. Są to kuleczki okrągławe, o budowie jednolitej, nie wykazującej żadnej wyraźnej struktury. Wymiary ich są różne; przeciętnie mierzą około 15 mikr. średnicy, choć spotyka się zarówno większe od tych, jak i mniejsze. Niekiedy ziarenka te



Rys. 15. Ciałka (b) z płynu protocoelomatycznego *D. renale* widoczne pomiędzy „krezkami“ (c) komórek „fagocytarnych“ (a) •

nagromadzają się w znacznych ilościach pomiędzy „krezką“ a błoną komórki oblepiając „krezkę“, na której są zawieszane komórki „fagocytarne“. Twory tego rodzaju leżą również obficie między innymi narządami, zwłaszcza w tych miejscach, w których narządy przylegając do siebie tworzą niewielkie zachyłki lub szczeliny. Odnosi się wrażenie, że kuleczki te leżą również tuż pod powierzchnią błony komórkowej narządów „fagocytarnych“, gdyż uwydatniają się w różnych przekrojach optycznych. Prawdopodobnie są to jednak twory leżące luźno w jamie ciała, których obecność daje się stwierdzić łatwo w osadzie odwirowanego płynu, pobranego z jamy protocoelomatycznej. Te ostatnie nie posiadają żadnej wyraźnej struktury i stanowią albo materiał zapasowy, albo też produkty wydalnicze przemiany

materii robaka, które nagromadzają się i ulegają koagulacji. W preparatach zabarwionych metodą Romanowsky-Giemsa wspomniane twory uwydatniają się szczególnie jaskrawo.

Badanie na glikogen przeprowadzono na komórkach izolowanych utrwalonych w alkoholu absolutnym oraz na skrawkach z kawałków utrwalonych w alkoholu absolutnym nasyconym glukozą, a zatopionych w celoidynie-parafinie. Błona komórek „fagocytarnych“ barwiła się karminem Bеста w sposób rozlany na kolor czerwonoróżowy, jednak grudek wybarwionych w sposób charakterystyczny dla glikogenu nie udało się stwierdzić. Natomiast otoczenie komórek „fagocytarnych“, a więc sąsiadujące z nimi narządy, zwłaszcza zaś mięśnie, wykazywały znaczne nagromadzenie ziarnistości barwiących się na czerwono. Wyniki sprawdzono drogą odczynu z jodem metodą Barfurtha oraz odczynem ślinowym, uzyskując potwierdzenie co do rozmieszczenia glikogenu.

Badanie na tłuszczu. Skrawki z kawałków utrwalonych w formalinie otrzymane bezpośrednio na mikrotomie do zamrażania lub po uprzednim nasyceniu wycinków żelatyną i stwardnieniu tejże w formalinie, zabarwiano sudanem III, szkarłatem i siarczanem błękitu nilowego. Przy barwieniu sudanem komórki „fagocytarne“ przyjmują rozlane zabarwienie żółtopomarańczowe, co wskazywałoby na obecność kwasów tłuszczowych, względnie fosfatydów. Siarczanem błękitu nilowego komórki „fagocytarne“ wybarwiły się na kolor ciemnoniebieski. Przy barwieniu sudanem oraz szkarłatem, tkanki przylegające do komórek „fagocytarnych“ wykazują w wielu miejscach liczne kropelki zabarwione na kolor pomarańczowoczerwony, a przy barwieniu siarczanem błękitu nilowego — na różowo, z fioletowym odcieniem (tłuszcze obojętne).

Doświadczenia na żywych egzemplarzach *Diocotophyme renale*

Doświadczenia na materiale żywym przeprowadzano drogą wstrzykiwania zawiesiny barwników lub roztworów do jamy ciała pasożytów.

Pierwsze doświadczenie wykonano w dniu 16.III.1931 r. na samicy *D. renale*, dług. 72 cm, wyjętej z prawej mied-

niczki nerkowej psa. Do jamy ciała pasożyta wstrzyknięto za pomocą cienkiej igły 0,5 ccm roztworu karminu przygotowanego metodą K i o t o. Nakłucie wykonano po stronie brzusznej, mniej więcej w środkowej części ciała. Po zabiegu zwierzę umieszczono w ogrzewanym słoju napełnionym roztworem fizjologicznym soli kuchennej. Obserwacji dokonano w okresie kilkunastu godzin. Początkowo energiczne ruchy pasożyta stały się po upływie dwóch godzin coraz powolniejsze, tak że wreszcie tylko tylna część ciała poruszała się wahadłowo. W około 15-minutowych odstępach czasu odbywało się oddawanie kału przez pasożyta, w postaci czerwonego płynu, zawierającego małe delikatne strzępki. Po upływie 20 godzin od chwili zastrzyknięcia — z jamy ciała pasożyta, nie wykazującego już żadnych ruchów, pobrano przy pomocy strzykawki około 6 ccm płynu, mającego barwę krwistoczerwoną. Po 20—24-godzinnym odstaniu — na dnie naczynia utworzyła się niewielka warstwa szarobiaławego osadu, nie wykazującego pod mikroskopem żadnych charakterystycznych cech, gdyż złożonego tylko z nader licznych drobnych grudek, dość łatwo wybarwiających się błękitem itp. barwnikami.

Po otwarciu ciała pasożyta od strony brzusznej i usunięciu narządów rozrodczych rzuca się w oczy znaczna liczba grudek soczewkowatego kształtu, zabarwionych na kolor karminowoczerwony, leżących pomiędzy narządami, zwłaszcza zaś w szparach pomiędzy mięśniami ścian ciała, mięśniami promienistymi (Radiärmuskeln) i fałdami jelita. Wielkość grudek jest różna; niektóre dochodzą do 2,5 mm długości, a 1,5 mm szerokości. Narządy „fagocytarne“ nie uległy zabarwieniu; tylko pewna część komórek wykazuje lekkie zaróżowienie otoczki. Komórki te są niewielkie, słabo widoczne okiem nieuzbrojonym. Wielkość ich dochodzi zaledwie do 0,8 mm. Komórki izolowane nie ujawniają pod mikroskopem żadnych charakterystycznych zmian: jądro nie uwydatnia się wcale, błonka komórkowa zabarwiona jednolicie jasnoróżowo; żadnych cech chłonięcia, ani gromadzenia się grudek barwnika lub powstawania strąków w obrębie plazmy — nie stwierdzono, mimo tego, że zbadano około 300 izolowanych komórek „fagocytarnych“.

Drugie doświadczenie wykonano w dniu 16.II.1933 r. na egzemplarzu samicy *Diectophyme renale* znalezionym wraz

z drugą samicą w miedniczce nerkowej psa. Pasożyt mierzy ok. 82 cm długości i zdradza żywotne ruchy w ogrzanej płynie fizjologicznym. Do jamy ciała pasożyta wstrzyknięto 0,5 ccm zawiesiny przygotowanej w ten sposób, że karmin w proszku zmieszano z płynem krwistym znalezionym w ilości kilkunastu ccm w rozszerzonej miedniczce, w której pasożyt przebywał. Po zabiegu pasożyt żył w ciągu 18 godzin i był stale w tym czasie obserwowany. Natychmiast po śmierci — otwarto jamę ciała. Podobnie jak w pierwszym doświadczeniu zaobserwowano również liczne grudki leżące luźno w jamie ciała, zabarwione na kolor różowawy. Część komórek „fagocytarnych“, położonych bliżej miejsca wprowadzenia zawiesiny, zabarwiła się na kolor różowawy, podobnie jak w doświadczeniu pierwszym, to znaczy w sposób rozlany, a nie zlokalizowany. Komórki „fagocytarne“ były w tym przypadku mniejsze niż w doświadczeniu poprzednim. Badane po izolowaniu pod mikroskopem wykazywały również zabarwienie bladoróżowe, jednak nie stwierdzono gromadzenia się barwnika w postaci ziarenek.

Doświadczenie trzecie wykonano jednocześnie z poprzednim na egzemplarzu samicy długości około 90 cm. Do jamy ciała wstrzyknięto roztwór specjalnego tuszu do iniekcji w płynie pobranym również z miedniczki nerkowej. Podobnie jak egzemplarz z doświadczenia drugiego, obserwowano również i ten w ciągu 18 godzin, po czym pasożyt został zabity i zbadany. Po otwarciu jamy ciała stwierdzono skrzepowate strąty tuszu między narządami, w fałdach zewnętrznych jelita i w szczelinach między mięśniami na całej długości pasożyta—nawet w pobliżu przełyku. Komórki „fagocytarne“, przeciętnie mierzące ok. 0,85 mm długości i ok. 0,6 mm grubości, były pokryte delikatnym osadem tuszu. Oglądane pod mikroskopem komórki te wydawały się początkowo przepełnione ziarenkami tuszu, jednak po ostrożnym wstrząsaniu izolowanych komórek z płynem fizjologicznym czarne ziarenka spłukiwały się, co stanowi i w tym przypadku dowód, że chłonięcie przez komórki „fagocytarne“ nie nastąpiło.

Jak wiadomo, *Dioctophyme renale* może żyć w zmieniającym często płynie fizjologicznym przez szereg dni. Ponieważ po wprowadzeniu do jamy ciała barwników śmierć pasożyta następowała w stosunkowo krótkim przeciągu czasu—należy przy-

puszczać, że jako czynnik uszkodzający wchodził w grę skład chemiczny użytych do rozcieńczania barwników płynów lub samych barwników. Należało dążyć przeto do zmniejszenia toksyczności wprowadzonego do jamy ciała materiału. Najlepiej nadawałby się do tego celu płyn zawarty w jamie ciała *D. renale*. Korzystając przeto z tego, że w jednym przypadku stwierdzono dwa egzemplarze pasożyta w miedniczce nerkowej psa—jednego z nich użyto do otrzymania płynu protocoelomatycznego, w którym rozprowadzono karmin (Carminum rubrum optimum Holborn). Wynik był podobny do uzyskanych w doświadczeniach poprzednich, to znaczy, że nie stwierdzono w komórkach „fagocytarnych“ powstawania charakterystycznych strąków.

Podobnie postępowano jeszcze w innych przypadkach, posługując się indygokarminem, błękitem metylenowym i czerwienią obojętną. Barwniki wymienione wprowadzano w doświadczeniach ponawianych przy okazji stwierdzenia kilku pasożytów jednocześnie u tego samego zwierzęcia — rozcieńczając je w płynie pochodzącym z jamy ciała jednego z egzemplarzy nerkowca. Oczywiście, doświadczenia te wykonywano ze zrozumiałymi przerwami w ciągu paru lat — aż do 1939 r.

Prócz tego próbowano barwienia przyżyciowego komórek izolowanych, stosując poza wymienionymi wyżej barwnikami zieleni janusową, jednak zawsze uzyskiwano tylko rozlane zabarwienie komórek „fagocytarnych“, występujące w podobny sposób i o podobnym natężeniu również w innych elementach komórkowych narządów pasożyta.

Zasługuje na podkreślenie fakt znacznego zmniejszania się rozmiarów komórek „fagocytarnych“ u tych egzemplarzy *D. renale*, które przez dłuższy czas (do 3 tyg.) utrzymywano przy życiu w codziennie zmienianym płynie fizjologicznym. Komórki „fagocytarne“ przetrzymywanych egzemplarzy były zawsze wyraźnie mniejsze od tych, które badano u egzemplarzy bądź spontanicznie obumarłych, bądź uśmiercanych wkrótce po ich znalezieniu. Mogłoby to nasuwać przypuszczenie, że komórki „fagocytarne“ posiadają pewien związek z odżywianiem się pasożyta: długotrwałe głodzenie wywołałoby wówczas wyczerpywanie się zmagazynowanych w komórkach substancji odżywczych, co z kolei powodowałoby zmniejszenie masy komórek „fagocytarnych“.

O m ó w i e n i e

Negatywny wynik przytoczonych doświadczeń, jak też przeprowadzonych uprzednio przez N a s o n o w a i Ł u k a s i a k a nie dostarczył dostatecznego dowodu obalającego pogląd, że twory opisywane nie są narządami „fagocytarnymi“. Należy podkreślić, że M e t a l n i k o w w swych licznych doświadczeniach przeprowadzanych nad ekskrecją u *Parascaris equorum*, a więc na materiale łatwo dostępnym w ilościach wprost nieograniczonych — otrzymał zaledwie „w 2—3 przypadkach“ obraz potwierdzający założenie, z którym przystępował do swoich eksperymentów, czyli stwierdził wypełnienie strąkami karminu wodniczek w tkance otaczającej kanały boczne u *Parascaris*. Świadczy to o tym, że wynik pozytywny może być nader trudny do osiągnięcia nawet wówczas, gdyby zjawiska „fagocytozy“ tu występowały, jeśli się weźmie pod uwagę niewielką liczbę przeprowadzonych doświadczeń nad *Dioctophyme renale*. We wszystkich przypadkach poza owymi „2 czy 3 razami“ wyniki otrzymywane przez M e t a l n i k o w a były ujemne, gdyż badacz ten otwierał jamę brzuszną *Parascaris* albo zbyt wcześnie, albo też za późno, kiedy wydalanie już się skończyło. Zbyt mały, a trudno dostępny materiał doświadczalny, jeśli chodzi o *D. renale* — nie pozwalał na wykonanie całej serii doświadczeń z zastosowaniem różnych barwników i przeprowadzanie sekcji pasożytów w różnych odstępach czasu od wyjściowego momentu wprowadzenia barwnika.

Aby móc wypowiedzieć sąd co do znaczenia komórek „fagocytarnych“ i funkcji, które one spełniają w ustroju *D. renale*, trzeba wziąć pod uwagę również znaczne różnice istniejące w budowie tych elementów występujących u omawianego pasożyta, a stwierdzonymi u innych nicieni. U różnych gatunków nicieni z rodz. *Ascaridae* i *Strongylidae* twory powyższe mają wygląd gwiazdzisty, dzięki obecności znacznej liczby wyrostków odchodzących promieniście od trzonu komórki. Końce obwodowe tych wyrostków są bądź zawieszane swobodnie, bądź też przyczepiają się do sąsiednich narządów. Trzon komórki posiada stosunkowo duże jądro, które np. u *Parascaris equorum* bywa widoczne nawet gołym okiem. Ma ono kształt dość nie-

regularny, posiada wydłużone wypustki. Wyrostki odchodzące od trzonu komórki są rozgałęzione, przy czym mikroskopowo można w nich stwierdzić dwie warstwy: zewnętrzną, bardziej ziarnistą — podobnie jak w trzonie komórki i wewnętrzną — włóknistą. Gałązki, które odchodzą od wyrostków, posiadają jaśniejszą zaródk i zawierają grudki silnie załamujące światło. Powierzchnia gałązek jest obłożona drobnymi tworami zbudowanymi z zarodki gruboziarnistej; wewnątrz nich znajduje się niewielkie ciało (Endorgan). Właśnie te ostatnie twory posiadają własność wchłaniania wprowadzonego do jamy ciała barwnika. Mniej więcej w podobny sposób przedstawiają się stosunki u innych nicieni, jak u *Strongylus paradoxus*, *Sclerostomum armatum* (N a s o n o w) i *Oxyuris curvula* (E. M a r t i n i).

Jeśli porównać wyniki badań przeprowadzonych przez nas z powyższymi danymi — rzucają się w oczy zasadnicze różnice w budowie morfologicznej zachodzące pomiędzy narządami „fagocytarnymi“ *Dioctophyme renale* a narządami „fagocytarnymi“ u innych wspomnianych wyżej nicieni. U *Dioctophyme renale* komórki „fagocytarne“ stanowią pojedyncze grupki złożone z tworów niemal obłych nie wykazujących kształtu gwiazdzystego właściwego innym nicieniom. Błona komórek fagocytarnych u *D. renale* jest stosunkowo gruba, nie posiada wyrostków zakończonych specjalnymi tworami, które prawdopodobnie mają zwiększać powierzchnię chłonięcia. Z drugiej strony trzeba wziąć pod uwagę, że brak u *D. renale* takich wyrostków, które występują np. u *Ascaridae* w celu zwiększenia powierzchni chłonięcia, może być zrównoważony przez większą liczbę komórek pozbawionych tych właśnie wyrostków. Wobec tego komórki te można by było uważać wówczas, przynajmniej do pewnego stopnia, za analogiczne do ciałek końcowych (Endorgane) u *Ascaris*. Wprawdzie ani badania N a s o n o w a, ani Ł u k a s i a k a, ani nasze nie dostarczyły odpowiednich dowodów, ale nie jest to niemożliwe, chociaż stosunkowo gruba błonka tych komórek zdaje się przemawiać przeciwko przyjęciu omawianych tutaj tworów za narządy „fagocytarne“.

W tym czasie, w którym wykonywano doświadczenia i badania nad elementami podejrzanymi o to, że stanowią komórki „fagocytarne“ — nie był znany cykl rozwojowy *Dioctophyme renale*. Odkrycie tego cyklu przez W o o d h e a d a

(1945, 1950) może dać badaczowi sposobność posługiwania się niezbędnym materiałem do doświadczeń w większej ilości, a nie dorywczo zebrany. Dokładne i opracowane w szczegółach rozwinięcie cyklu *Dioctophyme renale* w poszczególnych fazach może rzucić odpowiednie światło na te cechy komórek „fagocytarnych“, które obecnie nie były dostrzegane.

Reasumując, pogląd na sprawę tzw. „narządów fagocytarnych“ *Dioctophyme renale* można by sformułować następująco:

1) Jednokomórkowe mnogie narządy u *Dioctophyme renale* występujące w jamie ciała tego pasożyta, co do których wysunięto przypuszczenie, że są narządami fagocytarnymi — nie wykazują w wyniku przeprowadzonych dotąd badań żadnych cech mających istotne znaczenie, któreby przypuszczenie to potwierdzały.

2) Komórki „fagocytarne“ *Dioctophyme renale* zarówno pod względem morfologicznym, jak też pod względem struktur cytologicznych, odbiegają od typu komórek „fagocytarnych“ stwierdzonych u innych nicieni.

3) Właściwe znaczenie komórek, co do których N a s o n o w wysunął przypuszczenie, że są one narządami „fagocytarnymi“, może być określone jedynie na podstawie badań przeprowadzonych na znacznie obfitszym materiale, niż ten, który do tej pory w tym kierunku wykorzystano.

4) Niektóre cechy narządów „fagocytarnych“ *Dioctophyme renale*, jak istnienie dość grubej błonki komórkowej, brak charakterystycznych obfitych wyrostków występujących u innych nicieni w narządach „fagocytarnych“, niestwierdzenie w tych narządach chłonięcia barwników przy wprowadzeniu ich do jamy ciała pasożyta — przemawiają raczej przeciwko uznaniu owych narządów za „fagocytarne“.

PISMIENNICTWO

1. B u r i a n R. (1913), Wintersteins Handbuch d. vergleichenden Physiol., Bd. II, 2. Hälfte.
2. L e u c k a r t R. (1876), Die menschlichen Parasiten, Bd. II.
3. Ł u k a s i a k J. (1930), Arch. Nauk. Biolog. T. N. W.
4. M a r t i n i E. (1916), Zeitschr. f. wiss. Zoologie, Bd. 116.
5. M e t a l n i k o w S. (1897), Izw. Imp. Akad. Nauk, T. 7.
6. N a s o n o w N. (1897), Zool. Anz., Bd. 20.
7. N a s o n o w N. (1897), Raboty iz Łab. Zoolog. Kab. Warsz. Un.

8. Nasonow N. (1898), Zool. Anz., Bd. 21.
9. Nasonow N. (1898), Zool. Anz., Bd. 31.
10. Nasonow N. (1899), Arch. f. Mikroskop. Anatomie u. Entwicklungsgesch., Bd. IV.
11. Schneider A. (1866), Monographie d. Nematoden.
12. Schmorl G. (1922), Die pathologisch-histolog. Untersuchungsmethoden.
13. Spengel J. (1897), Zool. Anz., Bd. 20.
14. Stefański W. (1922), Arch. Nauk Biolog. T. N. W.
15. Szwejkowski H. (1951), Pol. Arch. Wet., T. I., Z. 1, Nr 3.
16. Woodhead A. (1945), Journ. of Parasit., T. 31, Supplement.
17. Woodhead A. (1950), Trans. of the Am. Microsc. Soc., Vol. LXIX, Nr 1.

Г. Швейковский

О ТАК НАЗЫВАЕМЫХ «ФАГОЦИТАРНЫХ» ОРГАНАХ У *DIOSTOPHYME RENALE* GOEZE

Профессор Виленского Университета, Боянус, в начале XIX в. первый обратил внимание на органы которые позднее получили у нематод название «фагоцитарных». Его исследования остались однако забыты равно как и в последствии работы Lieberkühna. Schneider (1886) предполагает существование «фагоцитарных» органов у всех нематод. Leuckart (1876) в своей книге „Die menschlichen Parasiten“ рассматривает эти органы только поверхностно. Более обширно описывает их Hamann (1885), но лишь только Насонов (1897—1900) разработал этот вопрос подробнее с морфологической точки зрения. На основании научных работ Насонова, Jägerskiölda, Cobba, Hamanna, Spengela, Метальникова и др. установилось общее мнение, что у Аскаридов и близких им форм существуют в протоцеломатической полости клетки обладающие фагоцитарными свойствами, что подтверждается у некоторых нематод при экспериментальном введении в протоцелому растворов красящих веществ или эмульсии приготовленных из убитых бактерий.

На основании исследований «фагоцитарных» органов у разных нематод — Насонов предполагает что ими могут быть своеобразные клетки выступающие в центральной полости паразита *Dioctophyme renale*. Однако в наблюдениях

Насонова инъекции кармина и бактериологической туши не дали положительных результатов. Такие же результаты дали эксперименты Łukasiaka (1930).

Автор настоящей публикации предпринял разработку этого вопроса в 1930—1939 г. с морфологической стороны, а кроме того пытался определить физиологическую роль этих одноклеточных, характерных по виду образований наблюдаемых даже невооруженным глазом после открытия центральной полости тела *D. renale* с брюшной стороны.

Выше упоминаемые клетки находятся вдоль дорсальной линии на висцеральной поверхности мышечных клеток в 2 рядах проходящих от места, в котором пищевод переходит в кишечник — к каудальному концу тела. Клетки эти в общем полиморфны, но преобладают кругло-эллиптические формы. Количество их переменное — оно зависит от длины тела паразита, может выносить даже несколько сот штук (по данным автора 155—747); в среднем их бывает 9,36 шт. на 1 см длины тела. Встречаются места, в которых их насчитывают до 20 на 1 см. Величина колеблется весьма значительно: длина выносит от 0,32 — 1 мм или даже больше; поперечная ось короче. Даже у этого самого индивидуума величина клеток далеко не одинакова. Цвет свежих клеток преимущественно — коричневозеленоватый, консервированных в формоле — темнокоричневый. Клетки прикреплены «мезентериумом» с одной стороны к кишечнику, а с другой — к латеральным линиям или к мышечным клеткам. Никаких клеточных отростков не наблюдалось, но при препарировке «мезентериум» может иногда свиваться производя впечатлительные тонких полосок, шипов или отростков.

Исследуемый материал из тела паразита был собран от свежих экземпляров *D. renale* найденных в почечных лоханках или в брюшной полости собак. Для цитологического исследования материал был фиксирован в сулеме с уксусной кислотой, в жидкости Флеминга, в формоле, формоле двуххромокислым калием, абсолютном спирте и др. Гистологические срезы — парафиновые, парафино-целлоидиновые или полученные на микротоме до замораживания — окрашивались разными методами. Лучшие результаты бы-

ли получены импрегнацией серебром по Achucarro и при обработке препаратов сафранином — генциановиолетом — оранжем Г. Свежие изолированные клетки для обнаружения жиров окрашивались тоже суданом III, осмовой кислотой и др. Установлено вероятное присутствие жирowych кислот, фосфатидов и нейтральных жиров. Окраской по методу Besta, Barfurtha — не обнаружено характерных грануляций гликогена в «фагоцитарных» клетках но таковой выступал в довольно большом количестве в соседних органах, особенно в паренхиматозной части мышцовых клеток. Уже в изолированных, неокрашенных клетках бросается в глаза более темная, центральная часть, которая при окраске, например метиленовой синькой принимает вид нерегулярно очертанного клеточного ядра. Ядро окружено светлым пространством, которым оно отделено от протоплазмы; в нем — в некоторых клетках наблюдается небольшие вакуоли.

В срезах обработанных серебром очень хорошо видны подробности строения клеточного ядра и протоплазмы. Клетка окружена снаружи сравнительно толстой мембраной состоящей из густых слоев пластинок. Под мембраной лежит слой эктоплазмы толщиной до 16 микр., состоящий из грануляций величиной в диаметре до 3 микр. Слой протоплазмы лежащий медиально от предыдущего — более светлого цвета и разделяется нежными волоконцами на ряд камер о довольно правильных шестигранных очертаниях. Вблизи клеточных полюсов волокна ограничивают собой пузырьчатые, довольно большие, пространства, которые содержат грануляцию того-же характера что и остальная протоплазма — но немного нежнее. Эти — не вакуоли, так как последние меньше, имеют более тонкие стенки и содержимое гомогенизованное со сродством к кислым окрашивающим веществам. В одной клетке бывает 2—5 и даже больше вакуоль.

Клеточное ядро имеет до 200 микр. длины. Оно составлено из сильно красящихся комков хроматина, имеет фрагментарную структуру, неправильные очертания с многими бухтами и отростками. От протоплазмы оно отделено светлым пространством, видимым даже в необработанным краска-

ми материале. Из реконструкции срезов следует, что ядро отличается очень большим полиморфизмом. Не обнаружено ниток соединяющих отдельные комки хроматина. На некоторых препаратах видно, что клеточное ядро имеет пузырчатую или ноздреватую структуру. Почти на каждой клетке, как и на соседних органах на наружной стороне клеточной мембраны видны в большом количестве полихроматофильные грануляции, не имеющие какой-либо особой структуры, лежащие свободно в центральной полости тела. Эти образования составляют или резервный материал (они окрашиваются кармином Беста) или — продукты обмена веществ паразита, которые подвергнулись коагуляции.

Для определения «фагоцитарных» способностей исследуемых клеток, автором был предпринят ряд экспериментов с впрыскиванием в центральную полость тела живых червей растворов или эмульсий окрашивающих веществ. Паразиты наблюдались в подогреваемом физиологическом растворе поваренной соли. Они погибали в течение нескольких часов или убивались и подвергались вскрытию.

Из красок применялись: 1) раствор кармина приготовленный по методу Киото; 2) эмульсия кармина в жидкости найденной в почечной лоханке вместе с паразитом; 3) специальная инъекционная тушь; 4) эмульсия кармина в целоматической жидкости взятой от другого живого экземпляра *D. renale*. В других экспериментах применялись приготовленные подобным образом растворы индигокармина, нейтральрота; метиленовой синьки. Эксперименты производились с каждым раствором на одном или наиболее на 2 экзempl. *D. renale* — из-за относительно редко попадающихся годных для эксперимента паразитов. Ни в одном из произведенных экспериментов — между которыми проходили неоднократно довольно долгие промежутки времени — не наблюдалось какого-нибудь свертывания или коагулирования, «фагоцитоза» красящего вещества внутри «фагоцитарных» клеток. Констатировалось только диффузное окрашивание клеток идущее от периферии к центру и безструктурные оседания красок или туши на поверхности органов расположенных в протоцеломатической полости. По-

добные негативные результаты получались при суправитальном применении к изолированным клеткам — янусовой зелени.

Негативные результаты этих экспериментов не доказали правильности предположений Насонова. Однако надо заметить, что Метальникову, в его экспериментах над экскрецией у *Parascaris equorum*, паразитом легко доступным в большом количестве — удалось только 2—3 раза доказать выступание преципитатов кармина в вакуолях окружающих экскреторные каналы. Это свидетельствует о больших трудностях в установлении самого явления «фагоцитоза» даже тогда, когда оно должно выступать с полной уверенностью. Трудности в получении материяла в желаемом количестве исключали возможность произведения серии экспериментов с разными окрашивающими веществами и вскрытий паразитов в разных промежутках времени. Открытие Woodheadom цикла развития *Dioctophyme renale* может в будущем дать исследователям возможность приобрести в достаточном количестве живой материял необходимый для экспериментов.

Автор подчеркивает выдающиеся морфологические различия между органами которые считаются как «фагоцитарные» у других нематод — и клетками из центральной полости тела *D. renale*. Сравнительно толстая клеточная мембрана и отсутствие отростков выступающих в большом количестве в фагоцитарных органах у *Ascaris*, кажется, противоречит мнению, что описанные клетки из центральной полости тела *Dioctophyme* обладают действительно «фагоцитарными» свойствами.

ABOUT SO CALLED „PHAGOCYtic ORGANS“
IN *DICTOPHYME RENALE* G O E Z E

Prof. of the Vilna University in the begin of the XIX century — Bojanus — first pointed on the organs in nematodes later called „phagocytic“. This fact was forgotten, like their second discovery by Lieberkühn. Schneider (1866) assumes their presence in all nematodes. Leuckart in „Die menschlichen Parasiten“ (1876) treated these organs superficially. Hamann (1895)

discusses the subject more extensive and Nasonow (1897—1900) elaborated them more in morphological details. On the base of works of Nasonow, Jägerskiöldt, Cobbe, Hamann, Spengel, Metalnikow a. c. a general view was established, that in *Ascaris* and related forms in blastocoel existing cells agreed with phagocytic properties, what was confirmed in some nematodes experimentally by the introduction into the blastocoel some dyes or suspension of killed bacteria.

Examining „phagocytic organs“ in different nematodes, Nasonow supposed, that phagocytic properties have some cells, found in the blastocoel of *D. renale*, but the injections of carmine and china ink did not proved it. Also negative were the experiments done by Łukasiak (1930).

The author undertook again this problem in the 1930—1939, investigating the morphological part and trying to determine the physiological significance of these one-celled, characteristically looking structures, seen with naked eye after the opening of the blastocoel of *D. renale* from the ventral side.

These cells are situated along the dorsal line on the visceral surface of the muscular cells in two rows, from the point where oesophagus ends and begins intestine to the posterior end of the body. The cells are usually oval-elliptical characterised by considerable polymorphic forms. Their number varies, depending on the length of the body of the parasite, being few hundred (according to the authors counts 156—747); on the average 9,36 cells on 1 cm of the body length. There are places, where there are 20 on 1 cm length. The size of the cells varies considerably: the length from 0,32 mm to 1 mm, and more, the transversal axis is shorter. Even in the same individual the cells happen to be of different sizes. The colour — usually greenish-brown, in the material preserved in formol — dark-brown. The cells are fixed by „mesenterium“ from one side to the intestine, and from the other to the lateral line or to the muscular cells. No cellular processus were found, but during preparation „mesenterium“ can fold up creating a delusion of processus or thorns.

The examined cells and whole parts of the parasites body were taken from fresh *D. renale* found in renal pelvis or abdo-

minal cavities of dogs. For the cytological study the material was fixed in corrosive sublimate, with acetic acid, Flemings solution, formol, formol with potassium bichromate, absolute alcohol and other. Paraffin splites, paraffin-celloidin splites, or obtained with the freezing microtome were stained with different methods. The best results were obtained with the silver impregnation method of Achucarro and staining with saphranin-gentian-violet-orange G. Fresh isolated cells were also stained with sudan III, osmic acid and other stains for fats. The probability of presence of fatty acids fosfatides and neutral fats was demonstrated. The staining for glycogen with Bests, Barfurths method did not show the glycogen granules in the phagocytic cells, but its presence could be seen in abound in the neighbourhood, especially in the muscular parenchym. Already in the isolated unstained cells a darker middle part can be seen. If such cell will be stained with methylene blue — a nucleus of irregular shape will be brought into prominence. The nucleus is surrounded with a brighter zone, separating it from the cytoplasm, in which — in individual cells — small vacuoles can be observed.

In silver impregnated splites, details of the nucleus and cytoplasm structure are brought into prominence. The cell is surrounded with a fairly thick, compact membrane of plates arranged in layers. Underneath a thin layer of ectoplasm can be seen, up to 16 micr. thick, composed of granules, which diameter reaches 3 micr. The layer situated medially from the last is brighter and divided, with delicate fibrills into a number of fairly regular chambers, of more or less hexagonal shape. Near the poles of cell the fibrills separate larger alveolar chambers, containing granules of the same character like the rest of cytoplasm. But they are not vacuoles, because the latter are smaller, have thiner walls and homogenised content with the tendency to stain with acid stains. There are 2—5 vacuoles, sometimes more.

The nucleus, up to 200 micr. in length, composed of deeply stained blocks of chromatine, has a fragmentary structure, irregular shape with numerous processus and sinuses. It is separated from cytoplasm by a zone already seen in an unstained material. From the reconstruction of splites comes clear, that

it distinguishes itself with a great polymorphism. No threads connecting separate granules were noticed. In some splits is seen, that the nucleus has a vacuolar or granular structure. Almost on every cell and adjoining organs on the external side of the cell membrane numerous polichromatophilic, structureless, free lying in blastocoel granules can be seen. These are probably stored materials (they are stained with Bests carmine), or coagulated products of metabolism of the worm.

To investigate the „phagocytic“ abilities, a number of experiments was performed in which into the blastocoel of the living parasite some solution or suspension of dyes was introduced. The parasites were observed in heated physiological saline. The worms died several hours after the operation, or were killed after some hours and examined post mortem. Following stains were used: 1) solution of carmine prepared after Kioto, 2) suspension of carmine in liquid found with the parasite in renal pelvis, 3) special china-ink for injection, 4) suspension of carmine in blastocoel-liquid taken from another living *D. renale*. Similarly in other cases solutions in blastocoel-liquid were prepared from indigo-carmine, neutral-red and methyle blue.

In all experiments carried sometimes in long intervals because of the comparatively rare occurrence of the parasite (living) — on one, at the most on two individuals — the coagulation or precipitation of the dye inside the „phagocytic“ cells was never observed. Only a diffuse staining of cells penetrating from the circumference towards the middle and amorphous precipitates of stains or china-ink on the surface of organs situated inside the coelom were noticed. Also a negative result was obtained with supravital staining of isolated cells with Janus-green.

The negative result of these investigations did not confirm Nasonow's suppositions. But one must remember, that in Metalnikow's experiments on excretion in *Parascaris equorum*, a worm attainable in great numbers — only twice or three times precipitation of carmine in vacuoles of tissues surrounding lateral canals occurred. It speaks for great difficulties in investigating the phenomenon of „phagocytosis“ — even when it certainly takes place. Difficult to obtain, occasional material for experiments rendered performing of a whole serie of expe-

riments with days and post mortem examinations in short intervals impossible. The discovery of development cyclus of *Dioctophyme renale* by Woodhead (1945, 1950), will probably give to the investigators the opportunity to win living material for experiments in greater numbers.

The author underlines the significance of morphological differences occurring between organs taken for „phagocytic“ in other nematodes — and cells in the blastocoel of *Dioctophyme renale*. The thick cell membrane and the absence of processus so numerous in *Ascaris* in „phagocytic“ cells — can also speak against the acceptance of opinion, that the described cells are really „phagocytic“ organs.

Z y g m u n t K r a c z k i e w i c z

**Studia nad chromosomami *Lasioptera rubi* Heeg.
(Cecidomyidae)**

Praca zajmuje się ciekawymi stosunkami chromosomowymi u jednego z przedstawicieli *Cecidomyidae*, stwierdzonymi u tych owadów przez innych badaczy i przez autora w poprzednich pracach. Jako należące do *Diptera* posiadają one gruczoły śliniankowe z chromosomami olbrzymimi. W komórkach rozrodczych występuje wielokrotnie większa liczba chromosomów niż w komórkach ciała. Rozwój *Cecidomyidae* rozpoczyna się z tą samą ilością chromosomów w obydwóch płciach, powstaje więc zagadnienie determinacji płci.

Poza tym ciekawe są one ze względu na specjalny typ spermatogenezy.

Lasioptera rubi występuje na malinach, larwy bytują w charakterystycznych naroślach na pędach.

Wyniki badań nad *Lasioptera rubi* dadzą się streścić w następujący sposób:

I. Jądra gruczołów śliniankowych larw *Lasioptera rubi* mają 4 chromosomy olbrzymie. Dwa z nich, największe, I i II, posiadają miejsca jąderkotwórcze. W chromosomach I, II, III często występują inwersje o typie terminalnym. W populacji znajdują się osobniki homozygotyczne pod względem jednego

typu ułożenia prążków, homozygotyczne w stosunku do drugiego typu ułożenia prążków, oraz osobniki heterozygotyczne pod względem inwersji, wykazujące pętle inwersyjne, świadczące o ich terminalnym charakterze. Obecność terminalnych inwersji przemawia przeciwko teorii telomeru Müllera, świadcząc o możliwości zajęcia przez normalne końce chromosomów pozycji interstycjalnej w chromosomie oraz o możliwości wytworzenia nowego końca chromosomu przez powierzchnię przerwy.

II. Liczba chromosomów somatycznych u *Lasioptera rubi* wynosi 8 u samic i 6 u samców. Dodatkowa eliminacja dwóch chromosomów w zarodkach samczych odbywa się najprawdopodobniej przy pierwszych podziałach bruzdkowania. Na eliminację mają prawdopodobnie wpływ warunki cytoplazmatyczne jaja.

III. Komórki spermat- i oogonialne zawierają 40 chromosomów. Nieregularności mitoz utrudniają jednak w wielu przypadkach ściśle określenie ilości chromosomów gonialnych. W jądrach spermat- i oogonii występuje 8 chromosomów heterochromatycznych. Nie daje się ustalić, czy występuje tu prawidłowa poliploidalność (dekaploidalność), czy też obecne są dodatkowe chromosomy. Ze względu na heterochromatyczność jednego tylko zespołu 8 chromosomów zwykła poliploidalność wydaje się mało prawdopodobna. Sądząc z analogii z podobnymi stosunkami chromosomowymi u innych *Cecidomyiidae*, wydaje się pewne, że podczas pierwszych podziałów bruzdkowania 32 chromosomy są eliminowane w zarodkach samczych, a 34 w zarodkach samczych.

IV. Spermatogeneza przebiega w sposób odbiegający od normy. W jądrach spermatocytów, jak i w jądrach spermatogonii, występuje 8 chromosomów heterochromatycznych. Nie ma koniugacji chromosomów. Podczas I podziału mejotycznego tworzy się jednobiegunowe wrzeciono, za pomocą którego z grupy 8 heterochromatycznych chromosomów tylko 4 zostają „wypchnięte“ z zespołu 40 chromosomów. Podział cytoplazmy jest nierównomierny i prowadzi do wytworzenia się małych spermatocytów II rzędu z 4 chromosomami i dużych spermatocytów II rzędu z resztą zespołu chromosomowego, tj. najprawdopodobniej z 36 chromosomami. Ustalenie liczby tych ostatnich

z całą ścisłością było niemożliwe ze względu na nieregularne ich ułożenie oraz na ich zbijanie się wewnątrz jądra. Tylko małe spermatocyty II rzędu z 4 chromosomami przechodzą przez II podział mejotyczny, który jest ekwacyjny. Po drugim podziale mejotycznym przekształcają się one w plemniki. Duże spermatocyty II rzędu degenerują.

Praca w postaci obszernej z rysunkami i fotografiami ukazała się w *Zoologica Poloniae*, Tom 5, 1950.

Posiedzenie Sekcji Lekarskiej

dnia 25 marca 1950 r.

Paweł Segal

**Pomiary względnej wielkości obrazów wzrokowych
w równowzrucności**

Praca ukazała się jako oddzielne wydawnictwo T. N. W.

Przedstawił czł. W. H. Melanowski

Stefania Chodkowska

**Zmiany anatomo-patologiczne w przypadkach gruźlicy opon
mózgowych leczonej streptomycyną**

Praca ukazała się jako oddzielne wydawnictwo T. N. W.

Przedstawili czł. czł. L. Paszkiewicz i M. Semerau-Siemianowski

Romuald Serafin

**Niektóre zespoły biochemiczne niedomogi przedniego płata
przysadki u dzieci w świetle przypadków własnych**

Praca ukazała się jako oddzielne wydawnictwo T. N. W.

Przedstawili czł. czł. M. Michałowicz i Wł. Szczygieł

P o s i e d z e n i e

dnia 15 grudnia 1950 r.

Jan Czekanowski

Crania Africana

Praca ukazała się jako oddzielne wydawnictwo

Polskiego Towarzystwa Zoologicznego

Marian Gieysztor i Kazimierz Tarwid

Polska geografia zoologiczna okresu międzywojennego

P o s i e d z e n i e

dnia 31 maja 1951 r.

M i c h a ł G e d r o y ć

Antybiotyczne i uodporniające właściwości wolnożyjących pierwotniaków

Badania nad zarazkiem wścieklizny

Z Zakładu Farmakologii i Toksykologii Wydz. Wet. U. W.

Kierownik: Prof. dr M i c h a ł G e d r o y ć

Przez pojęcie antybiotyków rozumiemy dzisiaj ciała produkowane przez żyjące bakterie, rozmaite gatunki drożdży i pleśni, względnie inne rośliny działające bakteriobójczo lub też bakteriostatycznie na niektóre mikroorganizmy.

Już od dawna znano fakty, iż pewne bakterie bytujące w ziemi lub w wodzie żyją z niektórymi mikroorganizmami w symbiozie, na inne zaś działają zabójczo (antybiotycznie). Zasada ta odnosi się zarówno do postaci saprofitycznych, jak i patogennych.

Już w r. 1877 P a s t e u r i J o u b e r t¹ zauważyli, że niektóre bakterie żyjące w powietrzu wstrzymują wzrost bakterii węgliką. Badacze ci wyprowadzili ze swoich obserwacji wnioski, że fakty takie mogłyby mieć pewne znaczenie terapeutyczne. W r. 1900 E m m e r i c h i S a i d a² znajdują, że *Ps. pyocyanea* w kulturach swoich daje ferment pyocyjanę działającą zabójczo na niektóre patogenne mikroorganizmy. Próby terapeutyczne z pyocyjaną nie dały jednak zadowalających wyników.

Również F l e m i n g³ odkrywając, zresztą przypadkiem, penicylinę w r. 1928, nie wyszedł poza laboratoryjny eksperyment, a jego pierwsze prace nie znalazły odgłosu i dopiero podjęcie i zużytkowanie ich przez F l o r e y a, A b r a h a m a, C h a i n a i innych⁴ w roku 1938, doprowadziło w r. 1940 i 1941 do otrzymania preparatu, za pomocą którego udało się leczyć pewne infekcje ogólne ustroju ludzkiego i zwierzęcego.

Z odkryciem penicyliny, gramicydyny i streptomycyny poszukiwania antybiotyków wśród bakterii i pleśni przybrały

olbrzymie rozmiary i niedługo twórczość w tym kierunku osiągnie (o ile nie przekroczy) poziom inwencji w dziedzinie sulfonamidów, których liczymy skromnie około 2 tysięcy.

Badacze radzieccy zwrócili uwagę na antybiotyki zawarte w roślinach wyższych, tzw. fitoncydy.

Pojęcie fitoncydów wprowadził do literatury naukowej uczony radziecki B. P. Tokin⁵, rozumiejąc przez nie ciała (nieokreślone zresztą na razie pod względem chemicznym) posiadające własności antybiotyczne i bakteriostatyczne. Ciała te występują nie tylko w roślinach najniższych, jak bakterie, pleśnie i grzyby, ale również w roślinach wyższych, ich sokach, miazdze i olejach aromatycznych. Właściwości antyseptyczne olejków eterycznych były zresztą znane już od dawna.

Tokin zwrócił uwagę na takie surowce roślinne, które wydzielają mocno drażniący zapach, jak czosnek, cebula, chrzan, gorczyca, czeremcha i in., i stwierdził, że wydzielane przez te rośliny ciała hamują wzrost hodowli drożdży. Później wprowadza Tokin w swoich badaniach „protozojny tiest“ używając pierwotniaków (*Paramecium caudatum*, *Stylonychia mytilus* i in.) do kontroli ciał czynnych znajdujących się w roślinach. Wraz z pracownikami przebadał on około 400 gatunków roślin i stwierdził, że lotne fitoncydy, nawet roślin uchodzących za zgoła niewinne, zawierają ciała działające zabójczo na pierwotniaki. Później stwierdzili badacze radzieccy to samo w odniesieniu do soków roślinnych i wyciągów wodnych z roślin.

„Test pierwotniaczy“ jako taki nie świadczy jednak, moim zdaniem, o antybiotycznym działaniu jakiegoś ciała pochodzenia roślinnego, zwierzęcego lub chemicznego, gdyż, jak wynika z pewnych doświadczeń (przeprowadzonych w kierowanym przeze mnie zakładzie), penicylina w dużych nawet stężeniach nie działa zupełnie na pierwotniaki. Ustroje te w środowisku z penicyliną żyją tygodniami, co potwierdza poniekąd atoksyczność penicyliny dla komórek i tkanek ustroju zwierzęcego. Z drugiej zaś strony surowice zwierzęce, sulfonamidy i rozmaite leki zabijają komórki pierwotniacze z łatwością i w dużych rozcieńczeniach. Niezawodnie i płyny wyższych ustrojów zwierzęcych posiadają antybiotyczne własności, których przebadanie da nam w przyszłości może również antybiotyki, jak to znaleźliśmy w świecie roślinnym.

Badania Tokina i współpracowników nad działaniem antybiotycznym fitoncydów przerzucono później na bakterie. W rezultacie fitoncydy znalazły się w rękach klinicystów, szczególnie fitoncydy pochodzące z prostych, ludowych leków roślinnych, stosowanych od prawieków, jak cebula i czosnek. Badania kliniczne (Filatowej, Tiebrakina, Toropcewa i in.)⁶ potwierdziły bakteriostatyczne i bakterio-bójcze działanie, szczególnie czosnku i cebuli, a w czasie ostatniej wojny (1943—1945) stosowano miazgę z cebuli w szpitalach radzieckich w celu leczenia ropiejących ran, z wynikami zadowalającymi.

Fitoncydy z cebuli, czosnku, chrzanu, rzodkwi działają również antyseptycznie na zarodniki niektórych grzybów.

Badania Tokina i współpracowników zostały przeprowadzone między rokiem 1928—1940. Z tego powodu uczeni radzieccy zastrzegają sobie prawo do pierwszeństwa w odkryciu antybiotyków.

Hitchcock⁷ bada w r. 1946 antybiotyczny wpływ produktów pochodzących z *Paramecium aurelia* na inne gatunki rodzaju *Paramecium* w hodowlach. W r. 1948 zajął się otrzymaniem ciał antybiotycznych z *Trichomonas foetus* i *Trichomonas vaginalis*. Autor ten stwierdza, że 7, 10 i 12-dniowe hodowle *Trichomonas foetus* szczepów BR (O i C) działają antybiotycznie na *Salmonella pullorum*. Siedmiodniowe hodowle szczepu BR działały hamująco na rozwój *Salmonella schottmulleri* i *Corynebacterium renale*. Wpływu na inne bakterie użyte przez niego do doświadczeń, jak np. *Salmonella paratyphi*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhi murium*, *Aerobacter aerogenes* i in., Hitchcock nie stwierdza.

W r. 1923 ogłosiłem w „Rozprawach Biologicznych (z zakresu medycyny weterynaryjnej)“, tom I, str. 73, Lwów, Akademia Med. Weterynaryjnej⁸ i w Compt. Rend. d. l. Soc. d. Biol. d. Paris, 1924, T. I, str. 907, pracę pod tytułem „Pierwotniaki jako czynnik uodporniający przeciwko chorobom zakaźnym“⁹.

W pracy tej, która, jak i inne odnoszące się do zagadnień później objętych pojęciem „antybiotyków“, przeszła bez echa, pisałem, co następuje: „Wychodząc z założenia, że liczne wolno żyjące pierwotniaki już w warunkach normalnych są bakte-

riofagami w ścisłym tego słowa znaczeniu, że toksyny bakteryjne nie wywierają na nie szkodliwego wpływu, lecz owszem stanowią dla nich najczęściej, mimo różnic jakościowych (toksycznych), pożądany pokarm, że wreszcie w warunkach sztucznych możemy według woli modyfikować ilość i rodzaj bakterii użytych do karmienia tych organizmów, postanowiłem spróbować, czy i o ile można użyć tych form pierwotniaczych do walki z bakteriami typowo chorobotwórczymi. Jeżeli bowiem proteiny (?) bakteryjne ze wszystkimi swoimi własnościami trującymi krążąc w plazmie (endoplazmie) tych jednokomórkowych organizmów nie wywołują w nich zatrucia, przeto należałoby u tych ostatnich już a priori przypuścić wielką zdolność i łatwość unieszkodliwiania drobnoustrojów względnie, co za tym idzie, reagowania w pewien szybki a specyficzny sposób na atakujące je toksyny“.

Czy to więc nie znaczy, że pierwotniaki posiadają zdolności antybiotyczne w dzisiejszym tego słowa znaczeniu? Pisałem dalej: „Wyżej wspomniane zdolności bakteriofagów posłużyły mi jako punkt wyjścia dla otrzymania przy pomocy wolnożyjących pierwotniaków, nieszkodliwych normalnie dla organizmu wyższego, pewnych ciał obronnych. Nie chcę na razie wchodzić w teoretyczne rozważania, czy te ciała obronne, których tworzenie się (czy istnienie?) w organizmach pierwotniaków pod wpływem bakterii zakaźnych stwierdziłem, są natury antytoksycznej, czy antyfermentatywnej, czy wreszcie proteinoterapeutycznej — mam jednakże wrażenie, że wszystkie trzy rodzaje wspomnianych ciał obronnych ujawniają się w zależności od materiału doświadczalnego“.

„Dalsze studia nad bakteriofagami jako materiałem do doświadczeń serologicznych będą mogły — jak mam niepłonną nadzieję — wykazać u organizmów pierwotniaczych ciała obronne, których zastosowanie i znaczenie praktyczne dla terapii nie da się na razie w całej rozciągłości przewidzieć...“.

Jak wspomniałem, moja praca z przed 26 lat, podobnie jak i druga z tej dziedziny drukowana w „Rozprawach Biol.“

w r. 1923, str. 142 i w C. R., r. 1924, str. 905 pt. „Les prototoxines préparées à l'aide des protozoaires vivant à l'état libre (infusoires ciliés) et leur importance au point de vue de la biologie générale“, nie znalazła wtedy oddźwięku, a moje poszukiwania w dziedzinie antybiotyków zostały przerwane.

Obserwując zagęszczoną kulturę pierwotniaków widzimy, że po pewnym czasie ulegają one zatruciu przez własne produkty przemiany, bądź też pochodzące może z przeróbki bakterii saprofitycznych. Obserwować się daje również pewna kolejność występowania rozmaitych gatunków pierwotniaków, z czego można by wnosić, że produkty przemiany jednych gatunków nie sprzyjają rozwojowi gatunków innych. Nie przypuszczam również, ażeby tutaj chodziło o pewną odporność czysto chemiczno-fizyczną (kwaso- i zasadoodporność), chociaż i ten czynnik odgrywa prawdopodobnie pewną rolę.

Sądzę jednak, że produkty przemiany i ciała wydalone przez te jednokomórkowe ustroje różnią się między sobą podobnie, jak to dla bakterii zauważyli pierwsi *P a s t e u r* i *J o u b e r t* (o czym zresztą wspomniałem już wyżej). A że pierwotniaki, tj. rozmaite ich gatunki, dają różne ciała odpornościowe (czynne), to miałem sposobność stwierdzić we wspomnianej wyżej pracy o prototoksynach z r. 1924. Potwierdza to również dla wielu innych gatunków pierwotniaków *C h a r l e s T a n z e r* w swej pracy z r. 1941¹⁰.

Możemy zatem przez analogię do stosunków panujących między rozmaitymi gatunkami bakterii i pleśni przypuścić (co zresztą nie trudno będzie dowieść doświadczalnie), że pewne gatunki pierwotniaków działają na siebie statycznie lub nawet zabójczo (antybiotycznie), a od tego stwierdzenia jeden krok do supozycji, że pewne gatunki wolnożyjących pierwotniaków mogą działać antybiotycznie nie tylko na inne wolnożyjące pierwotniaki, ale i na pierwotniaki patogenne.

Badania takie podejmuje w r. 1948 *H i t c h c o c k*.

Jeżeli więc już w r. 1923 udało mi się wykazać antybiotyczne działania wolnożyjących pierwotniaków na zarazek wirusowy (*virus fixe* i *virus de rue*), to udało mi się równocześnie stwierdzić, że pierwotniaki w zetknięciu z zarazkiem, poza właściwościami antybiotycznymi względem użytego do doświadczeń zarazka, posiadają jeszcze zdolności produkowania ciał

obronnych, uodporniających ustrój zwierzęcy przeciwko zakażeniu zarazkiem czystym otrzymanym z bakterii oraz pleśni itd., więc antybiotyków. Z drugiej strony wiemy, że antybiotyki typu penicyliny, poza właściwościami bakteriostatycznymi i dezynfekującymi ustrój zwierzęcy, tych właściwości uodporniających nie posiadają, na odwrót, osłabiają nawet zdolności obronne ustroju zwierzęcego. Wytwarzanie ciał obronnych byłoby zatem dopiero właściwością komórek, tkanek i płynów ustroju zwierzęcego. Ten świat zwierzęcy i jego specyficzne właściwości biologiczne i fizjologiczne, odróżniające go od świata roślinnego rozpoczyna się od jednokomórkowych organizmów, jakimi są pierwotniaki.

Mam nadzieję, że dalsze badania chemiczne i biologiczne nad działaniem ciał czynnych otrzymanych z kultur pierwotniaków przyczynią się do głębszego poznania charakteru antybiotyków pierwotniaczych i mechanizmu powstawania ciał obronnych. Nie mogę się wreszcie powstrzymać od pewnej ogólnej uwagi (o której nadmieniałem już w pracy z r. 1923), mogącej mieć pewne znaczenie metodologiczne w obchodzącym nas tutaj zagadnieniu antybiotyków, tej mianowicie, że ciała obronne przede wszystkim, a może i antybiotyki znajdowane w komórkach pierwotniaków, nie zawsze znajdują się tam *implicite*, lecz są niekiedy produktem nowym, powstałym z zetknięcia się z elementami bakteryjnymi i reakcji produktów przemiany materii bakteriofaga pierwotniaczego.

Wprawdzie *H i t c h c o c k* (cyt. wyżej) potwierdza moje badania nad istnieniem w ciele pierwotniaków antybiotyków, jednakże, jak wynika z moich doświadczeń dawnych i obecnych a do pewnego stopnia i z nowszych doświadczeń badacza amerykańskiego, to antybiotyczne działanie przejawia się dopiero po pewnym czasie latencji.

Użycie zatem w eksperymencie takich wiadomych, dwu-, trój- lub wielocząłowych czystych kultur (pierwotniaki + 1, + 2 typy zarazków) mogłoby oddać terapii pewne, może nawet poważne usługi w wytwarzaniu ciał antybiotycznych ze względu na wygodnego pośrednika, jakim są te naturalne „bakteriofagi“.

W ostatnich latach, ponieważ nie tylko potrzebne, ale poniekąd i modne stało się poszukiwanie antybiotyków w wielu

pracowniach naukowych świata, przerzucono częściowo te poszukiwania i na świat zwierzęcy wyższy. Znalezione więc antybiotyki w płynach humoralnych zwierzęcych, w niektórych tkankach, jajach (lizocym).

Na tym miejscu chciałbym odnotować również ze względu na prawo pierwszeństwa (*ius prioritatis*) w odkryciu antybiotyków pracę E. Rehma: „Insecticidion ein antibiotisch-bactericidal wirkender Stoff aus Insecten“, *Klinische Wochenschrift*, 26/7-8/120-121/, 1948. i pracę moją „L'influence de la lympe des insectes sur le microbe de la rage“, *C. R. d. la Soc. d. Biol.*, Paris, page 906, 1924. Wyjątki z tej pracy zacytuję w resumé.

Jeżeli zatem Flemingowi ze względu na jego, zresztą przypadkowe, odkrycie penicyliny z r. 1928 przyznajemy *ius prioritatis* w odkryciu antybiotyków (w niczym bynajmniej nie chcę pomniejszać jego wielkiej zasługi), jeżeli dalej badacze radzieccy (Tokin i in.) zastrzegają sobie prawo do pierwszeństwa w odkryciu antybiotyków-fitoncydów (1928—1940), ośmielam się i ja stanąć w tym szeregu — tym bardziej, że w r. 1922 i 1923 podjąłem badania z całą świadomością i logiką postawienia zagadnienia i jego rozwiązania.

Zagadnienie, cel pracy i metoda

W doświadczeniach z r. 1922 i 1923 jako materiału zakaźnego używałem przeważnie *virus fixe* zarazka wścieklizny i częściowo tylko *virus de rue*. W badaniach obecnie podjętych używałem wyłącznie *virus de rue*, dążąc do dokładniejszego przebadania własności antybiotycznych pierwotniaka *Paramaecium aurelia* w stosunku do postaci zjadliwej zarazka wścieklizny.

Badano działanie kultury *Paramaecium in toto* + *virus de rue*, rozcierów z takiej kultury i wyciągów. Zapoczątkowano

również badania nad działaniem antybiotycznym i uodporniającym pierwotniaków w stosunku do innych zarazków.

Celem ostatecznym pracy nad zarazkiem wścieklizny jest:

1. Otrzymanie szczepionki czystej, klarownej, niezawierającej substancji nerwowej i elementów uorganizowanych.
2. Zastąpienie szczepionek typu P a s t e u r a.
3. Otrzymanie szczepionek b. czynnych, a więc do stosowania w ilościach małych i niewielu iniekcjach.
4. Otrzymanie szczepionek umożliwiających wprowadzanie ich w wszystkich miejscach podawania, a przede wszystkim dożylnie i do płynu mózgowo-rdzeniowego.

Jako pośrednika posiadającego, względnie produkującego ciała bakteriobójcze i „immunizatora“ użyto *Paramaecium aurelia*. Ten naturalny bakteriofag wchłania przez cytostomum łatwo wszelkiego typu zarazki i rozciery z tkanek i taki np. mleczny rozcier z tkanki nerwowej dodany do kultury pierwotniaczej staje się po pewnym czasie klarowny.

Pierwotniaki oczyszczano przez wykorzystanie ich ujemnego g e o t r o p i z m u, przez wielokrotne powtarzanie tego zabiegu, wreszcie przez odpowiednie przemywanie na filtrach. Ideałem byłaby hodowla pierwotniaków na sztucznych pożywkach, przy czym możnaby uniknąć zanieczyszczeń kultury pierwotniaczej innymi zarazkami, szczególnie sporami, które, choć rzadko, bywają przyczyną zakażeń niespecyficznych. W celu uniknięcia takiego zakażenia dodawano w pewnych przypadkach do kultury penicyliny lub niektórych środków chemoterapeutycznych, jak np. sulfatiazolu (soluble). Nawiasem można zauważyć nadzwyczajną odporność *Paramaecium aurelia* i innych pierwotniaków na działanie penicyliny i wielką ich wrażliwość na działanie środków chemoterapeutycznych. W dużych stężeniach penicyliny mogą pierwotniaki żyć praktycznie w nieskończoność, co potwierdza również małą toksyczność tego środka dla komórek i tkanek zwierzęcych, znaną z farmakodynamiki.

Te własności pierwotniaków, nadające się poniekąd do standaryzacji farmakodynamicznej ciał czynnych, zostaną wykorzystane w innym kierunku.

Wyciągi z protokołów

Jako zwierząt doświadczalnych użyto królików i świnek morskich.

- A. Wyciąg z protokołu doświadczeń nad zarazkiem wścieklizny *virus fixe* (V. F.) i działaniem na ten zarazek *Paramaecium aurelia*.

Nr 14 29/III.1923 r.

Jednomiesięczny królik otrzymuje subcut. 0,5 ccm rozciuru z *P. aur.* + V. F. trzymanego przez 24 godziny w temp. 37°C, w termostacie. Do tej kultury bezpośrednio przed iniekcją dodano świeży rozcier V. F.

1/IV.1923 r.

P. aur. + V. F. w temp. 31°C przez 2 godz. (*P. aur.* były karmione przedtem przez 24 godz.). Do tej kultury dodano bezpośrednio przed iniekcją czystych *P. aur.* i świeżego filtratu (przez bibułkę) V. F. Z tego otrzymuje królik 0,5 ccm subcut.

Królik nie ginie przez szereg miesięcy i nie zdradza żadnych objawów chorobowych.

Nr 5 8/III.1923 r.

P. aur. (rozcier) + V. F. (filtrat 1 : 100) + *P. aur.* żywe. Kultura trzymana przez 24 godz. w temp. 31°C. Z tej kultury otrzymuje królik 0,25 ccm subdur.

30/III.1923 r.

P. aur. (świeży rozcier) + V. F. (świeży filtrat 1 : 100). Z tego otrzymuje królik natychmiast po zmieszaniu 0,25 ccm subdur.

15/IV.1923 r.

P. aur. (świeży rozcier) + V. F. (świeży filtrat 1 : 100). Z tego otrzymuje królik natychmiast po zmieszaniu 0,25 ccm intraocular.

Królik nie ginie.

Nr 3b 15/IV.1923 r.

P. aur. (świeży rozcier) + V. F. (świeży filtrat 1 : 100).
Z tego natychmiast po zmieszaniu otrzymuje królik
0,25 ccm subdur.

Lyssa po 5 dniach.

Z porównania powyższych doświadczeń, w szczególności Nr 5 i 3b, wynikałoby, że: 1) iniekcją z 8/III został Nr 5 uodporniony, gdyż iniekcja z 30/III nie wywołuje wścieklizny, podczas gdy u królika nieuodpornionego taka sama iniekcja jest przyczyną wystąpienia choroby; 2) wystąpienie stanu uodpornienia wymaga pewnego czasu, gdyż — jak wynika z doświadczenia Nr 3b — zdolność związania się z tkanką nerwową V. F. jest większa *in vivo*, aniżeli działanie niszczące pierwotniaka. Nie jest wykluczone, że ilości antybiotycznych ciał pierwotniaczych były w tym przypadku zbyt małe.

Pierwotniaki, w tym przypadku *P. aur.*, posiadają nie tylko zdolności osłabiania zarazka (antybiotyczne), ale również uodporniające (cytoserum).

Nr 4a 8/III.1923 r.

P. aur. (rozcier) + V. F. (filtrat 1 : 100) + *P. aur.* żywe,
w temp. 31°C przez 24 godz. Z tej kultury otrzymuje królik
0,25 ccm subdur.

23/III.1923 r.

P. aur. + V. F. (1 : 100) w temp. 37°C przez 24 godz. Z tego otrzymuje królik 0,25 ccm subdur.

Ginie po 10 godz., zakażenie bakteriami „dodatkowymi“.
Dodanie do kultury żywych pierwotniaków z 8/III zniszczyło działanie bakterii dodatkowych (porównaj z Nr 5).
Możliwe, że na rozwój zarazków dodatkowych ma wpływ temp. 37°C, za wysoka dla *P. aur.*, a korzystna dla zarazków dodatkowych. Na ogół temp. 37°C jest dla pierwotniaków i ich przemiany materii szkodliwa.

Nr 2 2/III.1923 r.

P. aur. karmione w wodzie emulsją z V. F. Z tej kultury otrzymuje królik 0,25 ccm subdur.

24/III.1923 r.

P. aur. (rozcier) + V. F. (1 : 100) + *P. aur.* żywe, w temp. 31°C przez 24 godz. + V. F. (1 : 100) dodany do kultury bezpośrednio przed iniekcją. Z tego otrzymuje królik 0,3 ccm intraperitoneal.

1/IV.1923 r.

P. aur. (rozcier) z pierwotniaków karmionych przedtem emulsją + V. F. (1 : 100) przez 24 godz. Do tej kultury dodano bezpośrednio przed iniekcją świeżych *P. aur.* i świeżej emulsji V. F. (1 : 100). Z tego otrzymuje królik 0,25 ccm subdur.

Królik nie ginie.

Nr 4b 1/IV.1923 r.

P. aur. karmione przedtem przez 2 godz. Do tej kultury dodano bezpośrednio przed iniekcją *P. aur.* świeże i świeżo przygotowanego V. F. Z tego otrzymuje królik 0,25 ccm subdur.

14/IV.1923 r.

P. aur. świeże + świeżo przygotowana emulsja V. F. (1 : 100). Z tej mieszaniny otrzymuje królik 0,25 ccm subdur.

27/IV.1923 r.

V. F. (1 : 100), z czego otrzymuje królik 0,2 ccm intraocul.; równocześnie otrzymuje *P. aur.* z zagęszczonej kultury 0,5 ccm intraven.

Królik nie ginie.

Z doświadczenia Nr 4b wynikałoby, że dwugodzinne działanie *P. aur.* na V. F. unieszkodliwia jego żywotność, zniszczenie zaś dodatku świeżego zarazka w mieszaninie z 1/IV bezpośrednio dodanego przed iniekcją, pochodzi prawdopodobnie stąd, że *P. aur.* przed użyciem były już karmione zarazkiem przez 24 godziny, był więc czas na wytworzenie się w plazmie pierwotniaków silnie działających ciał niweczących (obronnych?), które zniszczyły wirus, zanim ten zdołał osadzić się w tkance nerwowej. Pierwsza już iniekcja z 1/IV była uodporniająca.

Szereg doświadczeń (Nr Nr 3c, 3d, 8, 7b, 1d) wykonanych z podobnym zestawieniem kultur pierwotniaczych z dodatkiem V. F. i dodaniem przed iniekcją świeżego zarazka wywołuje lysę, o ile kultura jest trzymana w temp. 37°C. W tych warunkach antybiotyczne działanie pierwotniaków jest często zawodne. Będziemy się starali w przyszłości wyjaśnić i ten mechanizm.

Nr 6 14/IV.1923 r. *P. aur.* karmione 24 godz. V. F. + *P. aur.* + V. F. (świeżo przygotowana kultura). Z mieszanki āā podano 0,25 ccm subdur.

14.IV.1923 r. 0,5 ccm intraven.

Nr 3c 19/IV.1923 r. *P. aur.* + V. F. (1 : 50) 3 godz. w temp. 33°C + *P. aur.* świeże w płynie fizjologicznym. Z tego otrzymuje królik 0,25 ccm subdur.

Królik nie ginie.

Nr 15c i 16c 24/V.1923 r. *P. aur.* karmione 24 godz. V. F. + świeża emulsja V. F., 2 godz. w temp. 31°C. Z tego króliki otrzymują 0,2 ccm subdur.

Króliki nie giną.

B. Wyciąg z protokołu doświadczeń nad działaniem pierwotniaków na *virus de rue* (V. R.).

Następujące króliki z protokołu A, uodpornione za pomocą pierwotniaków i V. F., otrzymują V. R.:

Nr 3c 6/V.1923 r. *P. aur.* + V. F. (1 : 25), 0,25 ccm intraocular. Żadnych objawów, żyje.

Nr 2 6/V.1923 r. dto

Nr 14 6/V.1923 r. *P. aur.* + V. R. (1 : 25), 0,5 ccm subcut. Żadnych objawów, żyje.

Nr 7c 11/V.1923 r. K o n t r o l a otrzymuje 0,25 ccm emulsji (1 : 25) subcut.

Królik ginie 4.VI. Materiał kontrolny był przechowywany w glicerynie.

Nr 17 13/V.1923 r. *P. aur.* + V. F. 4 godz. w temp. 37°C + *P. aur.* świeże. Z tego otrzymuje królik 0,25 ccm subdur. 22/V paraliż tylnych kończyn; królik ginie 22/V.

Nr 18 14/V.23 r. P. aur. karmione 15 godz. V. R.; z tej kultury otrzymuje królik 0,25 ccm subd. 28/V. Paraliż tylnych kończyn, ginie 31/V.

Nr 20 14/V.23 r. Z tej samej kultury jak Nr 18 otrzymuje królik 1 ccm intraven.

Żadnych objawów, żyje.

Nr 19 14/V.23 r. K o n t r o l a otrzymuje 0,2 ccm V. R. (1 : 25) intraocul.

8/VI. lyssa.

Doświadczenia z płynem do szczepień z dnia 22.II.50:

Dnia 20.II.50 r. 1 g istoty szarej mózgu psa padłego na wściekliznę roz tarto z 9 ccm wody i przesączone. 3/4 przesączu dodano do hodowli *P. aurelia*, 1/4 pozostawiono do szczepienia kontrolnego.

Dnia 21.II.50 r. do hodowli pierwotniaków z V. R. oraz do zawiesiny kontrolnej dodano po 50 000 j. leopenicyliny.

Dnia 22.II.50 r. odwirowano zawiesinę pierwotniaków z V. R. + P. Osad roz tarto z piaskiem morskim. Całość powtórnie odwirowano.

Po odwirowaniu otrzymano nad osadem płyn klarowny, którego użyto do szczepień.

Nr 30 22/II.50 r. Świnka morska otrzymała do m. pośladowych 2 ccm płynu klarownego z dn. 22.II.50.

17/III.50 r. Świnka otrzymała do m. lędźwiowych 1 ccm płynu z dn. 17.III.50.

Świnka nie ginie.

Nr 31 17/VII.50 r. Świnka otrzymała podskórnie 2,5 ccm szczepionki + 100 000 j. penicyliny.

28/VII.50 r. Świnka otrzymała dodatkowo do m. lędźwiowych 2,5 ccm szczepionki + penicylina + sulfatiazol. Świnka nie ginie.

Nr 32 22/II.50 r. Królik otrzymał do m. lędźwiowych 5 ccm płynu klarownego z dnia 22.II.50.

Nr 33 22/II.50 r. j. w.

Nr 34 24/II.50 r. Królik otrzymał dożylnie 6 ccm płynu klarownego z dnia 22.II.50. (*P. caudatum* + V. R.) oraz do m. lędźwiowych 1 ccm zawiesiny kontrolnej z dnia 22.II.50 r.

Królik nie ginie.

Doświadczenie z płynem do szczepień z dnia 4.I.50:

Dnia 20.XII.49 r. zagęszczono hodowlę *P. caudat.*, do tej hodowli dodano 80 000 j. leopenicyliny.

22.XII.49 r. Dodano emulsji z mózgu V. R.

30.XII.49 r. Pierwiotniaki żyją.

3.I.50 r. Kulturę zagęszczono na wirówce. Pierwotniaki żywe. Do zawiesiny pierwotniaków dodano emulsji z mózgu V. R. w ilości ca 1 g.

4.I.50 r. Zawiesina z dnia 3.I.50 została odwirowana. Do szczepień przygotowano 2 rodzaje płynów:

1. Płyn klarowny z nad osadu + 50 000 j. leopenicyliny.

2. Osad + 50 000 j. leopenicyliny.

Nr 35 4.I.50 r. Królik otrzymał dootrzewnowo 4 ccm płynu klarownego z dnia 4.I.50, oraz do m. lędźwiowych 1 ccm osadu z dn. 4.I.50.

Królik nie ginie.

4.XI.50 r. Pod obserwacją królik wykazuje objawy paraliżu kończyn tylnych i po 2 tyg. ginie. Ciałek *N e g r i e g o* w mózgu nie znaleziono.

Nr 36 17.VII.50 r. Świnka otrzymała po 1 ccm płynu kontrolnego V. R. (z mózgu z dn. 18.IV.50) do m. lędźwiowych. Świnka ginie.

Nr 37 17.VII.50 r. j.w.

Świnka ginie.

Kontrolne króliki i świnki morskie giną normalnie. Sekcje i analizy wykazują wściekliznę.* Wyjątek stanowi królik nr 35, u którego nie znaleziono ciała *N e g r i e g o*, ginie zaś dopiero po upływie 10 miesięcy.

Doświadczenia z płynem do szczepień z dnia 25.I.50:

Dnia 24.I.50 r. do zagęszczonej hodowli *P. aurelia* dodano 2/3 rozciuru z 1 g mózgu psa padłego na wściekliznę.

Pozostała 1/3 cz. zachowano do szczepienia kontrolnego.

* Panom: Profesorowi dr Heliodorowi Szwejkowskiemu i dr Janowi Marczyńkiemu składam najserdeczniejsze podziękowanie za dostarczenie materiału do doświadczeń i przeprowadzenie badań mikroskopowych i sekcji padłych zwierząt.

Dnia 25.I.50 r. na godz. przed szczepieniem dodano do hodowli *P. caudatum* z V. R. + 100 000 j. leopenicyliny + 5 ccm sulfatiazolu.

Do kontrolnej zawiesiny (V. R.) dodano 50 000 j. leopenicyliny + 2,5 ccm sulfatiazolu.

Nr 38 25.I.50 r. Królik otrzymał do m. lędźwiowych i pośladkowych 16 ccm zawiesiny: *P. caudatum* z V. R. + 100 000 j. leopenicyliny + 5 ccm sulfatiazolu. (Zawiesina z dn. 25.I.50).

Królik żyje.

Nr 39 25.I.50 r. Królik otrzymał do m. lędźwiowych i pośladkowych 16 ccm zawiesiny: *P. caudatum* z V. R. + + 100 000 j. leopenicyliny + 5 ccm sulfatiazolu. (Zawiesina z dn. 25.I.).

Królik żyje.

Nr 40 25.I.50 r. Królik otrzymał do m. lędźwiowych i pośladkowych 16 ccm zawiesiny (*P. caudatum* + V. R.) z dnia 25.I.50.

Królik żyje.

Nr 41 25.I.50 r. Królik otrzymał do m. lędźwiowych i pośladkowych 16 ccm zawiesiny (*P. caudatum* + V. R.) z dnia 25.I.50.

Królik żyje.

K o n t r o l a.

Nr 42 25.I.50 r. Królik otrzymał do m. lędźwiowych zawiesinę kontrolną V. R. z dnia 25.I.50. w ilości 8 ccm.

17.II.50. Otrzymał do m. lędźwiowych 2 ccm zawiesiny V. R. + leopenicylina z dnia 17.II.50.

25.V.50. Porażenie zadu.

27.V.50. Ginie.

Nr 43 22.II.50 r. Królik otrzymał 1 ccm zawiesiny kontrol. V. R. do m. lędźwiowych.

17.III.50 r. do m. lędźwiowych 2 ccm zawiesiny V. R.

25.V.50. Porażenie zadu.

27.V.50. Królik ginie.

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

Z powyższych doświadczeń przeprowadzonych przeze mnie częściowo już w r. 1923 i w r. 1950/51 nad zarazkiem wściekliczny *virus fixe* (V. F.) i *virus de rue* (V. R.) wynika, że:

1) wolnożyjące pierwotniaki (*Paramaecium aurelia*, *caudatum* i in.) posiadają własności antybiotyczne i bakteriostatyczne;

2) pierwotniaki, jako naturalne bakteriofagi bądź zawierają, bądź w bardzo szybkim czasie wytwarzają ciała działające antybiotycznie;

3) dwu lub czterogodzinny kontakt pierwotniaków z V. F., o ile pierwotniaki były przed tym „karmione“ zarazkiem wściekliczny przez pewien dłuższy czas (24—48 godz.), wystarczy już, ażeby zniszczyć wirulencję zarazka;

4) kultura taka (pierwotniaki + V. F.) wprowadzona pod oponę twardą posiada zdolności uodporniające ustrój przeciwko następnej iniekcji wykonanej z obecnością w niej żywego zarazka lub z czystym zarazkiem;

5) króliki uodpornione za pomocą pierwotniaków i *virus fixe* są uodpornione przeciwko *virus de rue*;

6) szybkość wystąpienia uodpornienia wynosi od 1—14 dni, po upływie tego czasu można ustrój bezpiecznie zakazić taką ilością i tak zestawioną kulturą *P. aurelia* + V. F. (względnie przez wirus czysty), która dla królika nieuodpornionego pierwszą iniekcją jest zawsze śmiertelna;

7) ilości kultury *P. aurelia* + V. F. potrzebne, ażeby nastąpiło uodpornienie, wynosiły od 0,1—0,5 ccm. Są to ilości prawie znikome, tym bardziej, jeżeli zważymy i porównamy stosowane ilości szczepionek używanych dotychczas zarówno przy zabiegu leczniczym, jak i zapobiegawczym;

8) ciała otrzymane z pierwotniaków oprócz właściwości antybiotycznych posiadają również własności uodporniające (cytoserum), co odróżnia biologicznie komórki pierwotniaków od antybiotyków pochodzenia roślinnego;

9) pierwotniaki świeże dodane do kultury *P. aurelia* + V. F. neutralizują natychmiast działanie bakterii „przypadkowych“, zanieczyszczających kulturę, które sprowadzają śmierć zwierzęcia zwykle w przeciągu 8—24 godz. W pew-

nych przypadkach mogą niektóre zarazki współżyjące z pierwotniakami wykazywać refrakcję wobec ich ciał antybiotycznych, podobnie jak to stwierdzić możemy dla penicyliny i innych antybiotyków;

10) króliki i świnki morskie dają się uodpornić za pomocą szczepionki czystej, klarownej, pozbawionej elementów tkanki nerwowej i komórek pierwotniaczych, otrzymanej z hodowli pierwotniaków i emulsji z tkanki nerwowej zakażonej V. R.; szczepionkę taką otrzymuje się przez roztrarcie pierwotniaków i wirowanie;

11) szczepionka działa antybiotycznie i uodpornia zwierzęta przy równoczesnym nawet podaniu zarazka czystego V. R. w innym miejscu zakażenia.

Następnym etapem naszych poszukiwań będzie otrzymanie czystej szczepionki, ażeby przez wprowadzenie dożylnie, podoponowe, domięśniowe, względnie do płynu mózgowo-rdzeniowego uodpornić ustrój ludzki i zwierzęcy przed wybuchem objawów schorzenia w stadium zakażenia zaawansowanego.

PIŚMIENNICTWO

1. P a s t e u r i J o u b e r t r. 1877, cytowane w/g Chaina, Floreya, Brit. Med. Bull, 2, 5, 1944.
2. E m m e r i c h i S a i d a, Pyocyanase, Zbl. Bakter., 27, 776, 1900.
3. F l e m i n g A., Penicillin, Brit. J. Exper. Path., 10, 226, 1929, J. Path. a. Bacter., 35, 837, 1932.
4. A b r a h a m i C h a i n, Penicillase, Nature, 146, 837, 1940. A b r a h a m, C h a i n, F l e t c h e r, F l o r e y, G a r d n e r, H e a t l e y i J e n n i g s: Penicillin, Lancet, 241, 177, 1941.
5. T o k i n B. P., Fitoncydy, Ak. Nauk. Med. ZSRR, Moskwa 1948.
6. F i l a t o w a, T i e b r a k i n, T o r o p c e w, cyt. w/g B. T o k i n a, Fitoncydy, Moskwa 1948.
7. H i t c h c o c k D. J., The inhibition of bacteria by the metabolic products of trichomonads. Jour. Paras., 34, 114, 1948.
8. G e d r o y ć M., Pierwotniaki jako czynnik uodporniający przeciwko chorobom zakaźnym, Rozprawy Biologiczne, tom. I, str. 73, Lwów, Akad. Med. Weter., 1923.
9. G e d r o y ć M., Les Protozoaires agents immunisants contre les maladies contagieuses, Copmt. Rend. d. l. Soc. d. Biol. Paris, Tome I, page 907—908, 1924.
10. T a n z e r C h a r l e s, Serological studies with freeliving protista. The Journal of Immunology, r. 1941, Baltimore, U. S. A.

11. R e h m E., „Insecticin“ ein antibiotisch-bactericidal wirkender Stoff aus Insecten, Klinische Wochenschrift 26/7—8/120—121, 1948.
12. G e d r o y ć M., L'influence de la lympe des Insectes sur le microbe de la rage. Comp. Rend. de la Soc. d. Biol., Paris, 1924.

М. Гедройць

АНТИБИОТИЧЕСКИЕ И БАКТЕРИОСТАТИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА
СВОБОДНО ЖИВУЩИХ ПРОСТЕЙШИХ

ПРОБЛЕМА АНТИБИОТИКОВ U *IUS PRIORITATIS*

Уже в 1877 г. Pasteur и Joubert заметили, что некоторые бациллы живущие в воздухе, задерживают рост палочки сибирской язвы. Эти исследователи пришли к заключению на основании своих наблюдений, что такие факты могли бы быть использованы с терапевтической целью. В 1900 г. Emmerich и Saida находят, что синегнойная палочка, в своей культуре дает фермент — пиоцианазу, который действует смертоносно на некоторые патогенные микроорганизмы. Терапевтические опыты с пиоцианазой однако не дали удовлетворительных результатов. В последнее время выделено с синегнойной палочки антибиотик *Pyo II*.

Fleming открывая случайно пенициллин в 1928 г. не вышел с лабораторного эксперимента, а его первые научные труды не нашли отзвука и только использование их другими привело к созданию препарата при помощи которого удалось лечить некоторые общие инфекции организма человека и животного.

С открытием пенициллина, грамицидина и стрептомицина поиски антибиотиков в бактериях и плесни дошли до громадных размеров и вскоре творчество в этом направлении, если не перевышает, то достигает уровня инвенции в области сульфонамидов.

Советские исследователи обратили внимание на антибиотики находящиеся в высших растениях так называемые фитонциды. Понятие фитонцидов ввел в литературу советский ученый Б. Т. Токин. Исследования Токина и его сотрудников, как и антибиотическое действие фитонцидов перешло потом на бактерии. В результате фитонциды нашлись в руках клиницистов — особенно фитонциды, про-

исходящие от простых, народных, растительных средств, применяемых от праеков, как лук и чеснок.

Исследования Токина и его сотрудников были произведены между 1928 — 1940 г. По этой причине советские ученые сохраняют за собой первенство в открытии антибиотиков, идентифицируя их с фитонцидами.

Hitchcock исследует в 1946 г. антибиотическое влияние продуктов произеодных из *Paramaecium aurelia* на другие виды этих простейших в жидких средах. В 1948 г. он занялся получением антибиотических тел из *Trichomonas foetus* и *Trichomonas vaginalis*.

В 1928 г. я опубликовал в «Биологических диссертациях» из области ветеринарной медицины, часть I, стр. 73, Львов, издание Ветеринарно-Медицинской Академии и Compt. Rend d. l. Soc. d. Biol. d. Paris, 1924, стр. 907 статью «Простейшие как фактор закалки против инфекционным болезням». В этой публикации я писал, что следует: выходя из основания, что многие свободно живущие простейшие уже в нормальных условиях считаются бактериофагами в точном этого слова значении, что бактериальные токсины отрицательно не влияют, а наоборот становятся для них, несмотря на качественные (токсические) различия — желаемой пищей, что наконец в ненормальных условиях количество и род бактерий, употребляемых для кормления этих организмов мы можем своевольно модифицировать, я решил попробовать, можно ли, и если можно употребить эти простейшие формы для борьбы с бактериями типично болезнетворными.

Если бактериальные протеины со всеми своими отравляющими влияниями, кружа в плазме (эндоплазме) этих одноклеточных организмов, не вызывают отравления, поэтому следовало бы у этих последних уже а priori допустить большую способность и легкость обезвреживания бактерий или, что за этим следует, реагирования свойственным, быстрым способом на атакующие их токсины.

„...дальнейшие исследования над бактериофагами как материалом серологических на-

блюдений будут в состоянии (смею верить) обнаружить в организмах простейших иммунные тела, практическое значение которых для терапии пока не дается полностью предвидеть...“

Если уже в 1923 г. мне удалось доказать антибиотическое действие свободно живущих простейших на вирусы (*virus fixe* и *virus de rue*) то удалось мне одновременно прийти к заключению что простейшие в соприкосновении с болезнетворным началом, кроме антибиотических свойств в отношении к употребленному возбудителю обладают еще способностью вырабатывать антитела охраняющие организм животного против инфекции чистым возбудителем.

С другой стороны мы знаем, что антибиотики полученные из бактерии, грибов, плесни итд. значит антибиотики типа пеницилин, несмотря на бактериостатические и дезинфицирующие организм животного свойства, этих предохранительных свойств не имеют, наоборот ослабляют даже охранные способности организма животного. Продукция антител была бы, свойством клеток, ткани и жидкостей организма животного. Этот свет животных и его специфические биологические и физиологические свойства в противоположности к растительному свету, начинают одноклеточные. Можно однако заметить, что, насколько мне известно, не сделано стараний, чтобы получить антибиотики по отношению к организмам продуцирующим антибиотические тела и определенные бактерии, по этому трудно предвидеть, что может дать эксперимент произведенный в этом направлении с растительными организмами.

Я надеюсь, что дальнейшие биологические и химические исследования над действием активных тел, полученных от культур простейших помогут глубже изучить характер антибиотиков и механизм создания оборонных тел:

Я должен высказать одно общее замечание о котором уже я говорил в публикации с 1923 г. а могущей иметь некоторое методологическое значение в интересующей нас здесь проблеме антибиотиков, именно то, что оборонные тела прежде всего, а может быть антибиотики, которые находятся в клетках простейших, не находятся там. V. R. хотя бы не в отношении ко всем бактериям становятся новый

продукт, который возникнул от соприкосновения бактериальных элементов и реакции продуктов амёбозного бактериофага, хотя Hitchcock цитированный выше подтверждает мое исследование над существованием в теле простейших антибиотиков, однако как вытекает из моих теперешних и прежних наблюдений и в известной мере и с новейших — американского ученого, что это антибиотическое действие проявляется после определенного времени латенции.

Если Fleming'у по причине случайного открытия пеницилина в 1928 г. признается первенство в открытии антибиотиков (в ничем не хотим уменьшать его великой заслуги), если дальше советские исследователи (Токин и др.) сохраняют за собой право первенства в открытии антибиотиков — фитонцидов (1928 — 1940), и я осмеляюсь стать в этом ряду—тем более, что в 1922 г. и 1923 г. я начал исследования с полным сознанием и логикой постановки проблем и вопроса и его решения.

Хотя мои тогдашние публикации на тему бактериальных уничтожителей найденных мною в клетках простейших и лимфы насекомого встретились с признанием бактериологов и аэрологов, но не нашли правильной оценки.

В 1924 г. пт. „Les Protozoaires agents immunisants contre les maladies contagieuses”, писал что следует.

„Partant du point de vue, que les Protozoaires vivant à l'état libre sont des destructeurs naturels de Bactéries, j'ai resolu de les utiliser à des expériences d'immunisation.

„Les expériences ont démontré que, lorsqu'on injecte sous la dure-mère d'un lapin une culture des Protozoaires (*Paramaecium aurelia* ou *P. caudatum*) et de *virus fixe* de la rage (I. 100), rage parait toujours immédiatement après; si, au contraire, on nourrit la culture des Protozoaires avec le *virus fixe* pendant un temps assez long (24 heures), les microbes de la rage deviennent inoffensifs, et une telle culture, injectée sous la dure-mère, immunise contre les effets de la seconde injection contenant du *virus fixe* ou du *virus de rue* (I p. 100).

„La culture de 24 heures du *Paramaecium* + *virus fixe* ou *virus de rue*) détruit les microbes frais immédiatement, ou bien dans un délai de 2—4 heures, qu'elle soit vivante ou en

émulsion. Une telle culture, introduite sous la dure-mère avec des Protozoaires frais immédiatement avant l'injection, possède aussi un pouvoir protecteur."

..., „Selon le temps nécessaire pour amener une réaction dans le virus, les Protozoaires raccourcissent ou prolongent la durée d'incubation de la maladie".

На этом месте я хотел бы также отметить принимая первенство (ius prioritatis) в открытии антибиотиков статью E. Rehm'a „Insecticin" ein antibiotisch-bactericidal wirkender Stoff aus Insekten: Klinische Wochenschrift 26/7-8/120-121, 1948, и мою статью „L'influence de la lymphe des insectes sur le microbe de la rage", C. R. d. la Soc. d. Biol., Paris, page 906, 1924. „Ces expériences visent à établir la valeur immunisatrice de la lymphe d'insecte (*Deilephila euphorbiae*) et son influence sur le microbe de la rage. 1^o A l'encontre de presque toutes les bactéries cellulaires, à l'action desquelles les insectes son très sensibles, le microbe de la rage est sans action. 2^o La lymphe des chenilles détruit in vivo, en 24 heures, le microbe de la rage. 3^o L'injection sous-durale ou intracérébrale de lymphe de chenille (0,1—0,5 ccm), infectée 24 heures auparavant ne provoque pas la rage chez le lapin. 4^o Les injections intraveineuses de 2—8 ccm de lymphe de chenille, préalablement infectée, pratiquées dans le but d'établir l'immunité passive, n'ont abouti qu'à des échecs. Il en est de même des injections intracérébrales effectuées contre l'injection sous-durale de contrôle, avec le microbe frais. 5^o L'émulsion de lymphe renfermant des immunisines et des microbes frais retarde, corrélativement au temps de contact, le moment d'apparition de la maladie"...

Как видим, некоторые немецкие ученые безцеремонно умеют использовать работы и темы других исследователей, не вспоминая о научных источниках и не признавая права первенства*.

* В 1937 г. в Acta Biol. Exper. 9, 137, подана работа „De la non spécificité de l'hormone du corps jaune", cyt. Bomskov'a Methodik d. Hormonforschung t. II 385, 1939, что витамин E как corpus luteum: i testosterone перерождает слизистую оболочку матки, что делает возмож-

Выводы

С проведенных мною наблюдений частично уже в 1923 г. и в 1950—51 над вирусами бешенства *virus fixe* (V. F.) i *virus de rue* (V. R.) следует:

1. Свободно живущие простейшие (*Paramaecium aurelia*, *P. caudatum* и др.) имеют антибиотические и бактериостатические свойства.

2. Простейшие как натуральные бактериофаги, или имеют, или в очень коротком времени производят тела действующие антибиотически.

3. Дву или четыре часовой контакт простейших с V. F. если были кормлены вирусами бешенства в течении некоторого времени (24—48 часов) хватит уже, чтобы уничтожить бактерии.

4. Такая культура (простейшие + V. F.) введенная под твердую оболочку мозга имеет закаляющее свойства против следующей инъекции произведенной с присутствием в ней живого вируса или с чистой бациллы.

5. Иммунизированные при помощи простейших i *virus fixe* кролики закалены против *virus de rue*.

6. Быстрота выступления закалки занимает от 1—14 дней, после этого времени можно организм заразить таким количеством и так составленный культурой *P. aurelia* + V. F. (или чистым вирусом), которая для незакаленного кролика всегда окажется смертельной.

7. Количество культуры *P. aurelia* + V. F. требуемое для наступления (и закалки) выражаются от 0,1—0,5 см³. Эти количества ничтожны, если принять во внимание применяемые количества прививок употребляемых до сих пор как в лечении, так и профилактически.

ным нормальную имплантацию яйца и удержание плода. Витамин Е употребляют между прочим у людей клинически в *abortus imminens* i *congenitas*. Мое экспериментальное дело в расширенной гистологической, обработке присланное в 1939 г. до *Revue Intern.*, пропало, а в 1942—1943 г. идентичные результаты и гистологические разрезы представляли Немцы в *Klin. Woch.-Hohlweg*.

8. Тела полученные из простейших кроме антибиотических свойств имеют также иммунизирующие свойства (cytoserum), что отличает антибиотики растительного происхождения от активных тел в клетках простейших (амёб), в которых возникают оба типа этих тел.

9. Свежие простейшие добавленные к культуре *P. aurelia* + V. F. нейтрализуют сразу же действие случайных бактерий засоряющих культуру. В некоторых случаях некоторые бациллы живущие с амёбами могут проявить рефракцию против их антибиотических тел — как это можно подтвердить для пеницилина и других антибиотиков.

10. Кролики и морские свинки иммунизируются при помощи чистой прозрачной прививки лишенной элементов нервной ткани клеток простейших, полученной из культуры простейших V. R. и эмульсии зараженной нервной оболочки.

Такая сыворотка получается путем растирания и центрифугирования.

11. Такая сыворотка действует антибиотически и закаляет животных при одновременном подавании чистого вируса V. R. с другого места инфекции. Следующим этапом наших поисков будет получение чистой прививки, чтобы через внутривенное введение, или внутримышечные, или в спино-мозговую жидкость сделать бездейственным вирус и закалить животный и человеческий организм перед выступлением признаков заболевания на стадии заавансированного заражения.

Наконец позволяю себе выразить взгляд, что в будущем, принимая во внимание громадную ценность и терапевтическое разнообразие антибиотиков (а поиски в этом направлении становятся все более интенсивными) — ряд сывороток и прививок будет вероятно выэлиминирован из лечения, а лаборатория серо-бактериологические реорганизованы.

THE ANTIBIOTIC AND IMMUNIZING PROPERTIES OF FREE LIVING PROTOZOA

THE PROBLEM OF ANTIBIOTICS AND *IUS PRIORITATIS*

Pasteur and Joubert noticed already in 1877, that some bacteria living in the air inhibit the growth of *Bacillus anthracis*. These observations led the investigators to conclude, that such facts should be made use of and serve for therapeutic purposes. In 1900 Emmerich and Saida found, that *Ps. pyocyanea* produces in the cultures the ferment pyocyanase, acting bactericidally on some pathogenic microorganisms. Therapeutic tests with pyocyanase failed to give satisfactory results. Recently the antibiotic Pyo. II. has been isolated from *Ps. pyocyanea*.

Fleming, discovering accidentally penicillin in 1928 limited his findings to the laboratory experiment and his first works were not accepted in wider circles, and only when others continued the investigations on the subject a remedy was produced, which proved to be effective in the treatment of some general human and animal infections.

With the discovery of penicillin, gramicidin and streptomycin the search for antibiotics in bacteria and fungi occupied an ever increasing number of investigators and very soon the production in this branch will reach (or even surpass) the level of inventions in the sphere of sulphonamides.

Soviet investigators drew attention to antibiotics contained in higher plants, the so called phytoncides. The conception of phytoncides was introduced into the literature by the Soviet scientist B. T. Tokin. The investigations of Tokin and his collaborators as well as the antibiotic properties of the phytoncides have later been applied to bacteria. Consequently phytoncides were in the hands of clinicists, particularly phytoncides derived from simple popular plant medicaments used since ages, as e. g. onion and garlic. Investigations of Tokin and his coworkers were conducted between the years 1928 and 1940. Therefore Soviet scientists reserve the *ius prioritatis* in the discovery of antibiotics, identifying them with phytoncides.

In 1946 Hitchcock studied the antibiotic action of derivative products of *Paramecium aurelia* and other variations of this protozoa in fluid cultures. In 1948 the same investigator directed his studies to the problem of obtaining antibiotic substances from *Trichomonas foetus* and *Trichomonas vaginalis*.

In 1923 I have published in Biological treatises of Veterinary Medicine, Vol. I. page 273 Lwów, edited by the Academy of Veterinary Medicine and Comptes Rendus de la Soc. de Biol. de Paris, 1924, page 907 a paper „Protozoa as an immunizing agent against infectious diseases“. In this paper I wrote: „Taking into consideration the assumption, that numerous free living protozoa are in normal conditions already bacteriophages in the strict meaning of the word, that they are not harmfully affected by bacterial toxins, contrary the toxins, in spite of their qualitative differences (toxic) most commonly become required food, that finally under artificial conditions the quantity and genus of bacteria used for the feeding of these organisms can be modified at will, I decided to try to determine, whether possibly these protozoal forms could be used in the fight against typical pathogenic bacteria. If bacterial proteins (?) then with all their toxic properties circulating in the plasm (endoplasm) of the monocellular organisms cause no intoxication, then it should be presumed in the latter organisms a priori a considerable capacity and facility of inactivating microorganisms, or, as it consequently follows, of reacting in a certain, rapid way against the attacking toxins.

I thus succeeded already in 1923 to demonstrate antibiotic activities of free living protozoa against viruses (*virus fixe* and *virus de rue*) and I also succeeded simultaneously to prove that protozoa in contact with a microorganism — besides antibiotic properties against the pathogenic agent (microorganism) used in the experiment — are also capable to produce antibodies which immunize the animal's organism against an infection with a pure microorganism. On the other hand it is known, that antibiotics obtained from bacteria, fungi and of the mucors i. e. antibiotics of the penicillin type, have no immuni-

zing properties other than bacteriostatic properties and disinfecting the animal's organism, on the contrary, they even weaken the animal's resistance. The production of antibodies would then be only a property of cells, tissues and body fluids of the animal's organism. This animal world and its specific biological and physiological properties, making it unlike the vegetable world, takes its starting point from the monocellular organism, to which belong protozoa. It should be noticed, however that, as far, as is known to me, no attempts were made to obtain any antibiotics in the presence of a definite microorganism and organisms, producing antibiotic agents, therefore, it is difficult to foresee, what results can be given in experiments, conducted with plant organism on the subject.

I hope that further chemical and biological investigations on the operation of active agents obtained from cultures of protozoa will contribute towards the better understanding of the character of protozoal antibiotics and of the mechanism of the formation of antibodies. Finally, I cannot refrain myself from expressing a general remark (made already in my paper in 1923), which may have a certain methodological meaning for the interesting problem of antibiotics namely, that in the first place antibodies, and may be also antibiotics found in the cells of protozoa, are present there not implicate (at least not as regards all microorganisms), but are a new product, formed as a result of the contact of bacterial elements and of the reaction of the product of metabolism (metamorphosis) of the protozoal bacteriophage. Hitchcock (cit. above) in fact corroborates my results on the presence of antibiotics in organisms of protozoa, but as can be concluded from my previous and present investigations and to a certain degree also from those of a recent American investigator, the antibiotic action can be noticed only after a certain period of latency.

If we then attribute to Fleming on account of his after all accidental discovery of penicillin in 1928, the *ius prioritatis* in the discovery of antibiotics (I do not intend to minimize his great merits), and if the Soviet scientists (Tokin and others) deserve for them-

selves the *ius prioritatis* in the discovery of antibiotics-phytoncides (1928—1940) then I am also encouraged to compete in this rank—the more so as I have in 1922 and 1923 undertaken my investigations being fully conscious of the logic in all presentation of the problem and of its solution.

Although my works and reports of those times on bacteriocidal substances found by me in protozoal cells and lymph of insects were met by bacteriologists and serologists with applause, they found nevertheless no understanding.

In 1924 under the heading: „Les Protozoaires agents immunisants contre les maladies contagieuses“, I wrote as follows:

„Partant du point de vue, que les Protozoaires vivant à l'état libre sont des destructeurs naturels de Bactéries, j'ai résolu de les utiliser à des expériences d'immunisation.

„Les expériences ont démontré que, lorsqu'on injecte sous la dure-mère d'un lapin une culture des Protozoaires (*Paramaecium aurelia* ou *P. caudatum*) et de virus fixe de la rage (I p. 100), la rage paraît toujours immédiatement après; si, au contraire, on nourrit la culture des Protozoaires avec le virus fixe pendant un temps assez long (24 heures), les microbes de la rage deviennent inoffensifs, et une telle culture, injectée sous la dure-mère, immunise contre les effets de la seconde injection contenant du *virus fixe* ou de *virus de rue* (I p. 100).

„La culture de 24 heures du *Paramaecium* + *virus fixe* (ou *virus de rue*) détruit les microbes frais immédiatement, ou bien dans un délai de 2—4 heures, qu'elle soit vivante ou en émulsion. Une telle culture, introduite sous la dure-mère avec des Protozoaires frais immédiatement avant l'injection, possède aussi un pouvoir protecteur“.„Selon le temps nécessaire pour amener une réaction dans le virus, les Protozoaires raccourcissent ou prolongent la durée d'incubation de la maladie“.

I should like also, with regard to *ius prioritatis* in the discovery of antibiotics, to mention here the paper of E. Rehm: Insecticin, ein antibiotisch-bactericidal wirkender Stoff aus Insecten,

Klinische Wochenschrift, 26/7—8/120—121/, 1948... and my own paper „L'influence de la lymphe des insectes sur le microbe de la rage“ (C. R. d. la Soc. d. Biol., Paris, page 906, 1924); I am quoting extracts from this paper: „Ces expériences visent à établir la valeur immunisatrice de la lymphe d'Insecte (*Deilephila euphorbiae*) et son influence sur le microbe de la rage. 1^o A l'encontre de presque toutes les bactéries cellulaires à l'action desquelles les insectes sont très sensibles, le microbe de la rage est sans action. 2^o La lymphe des chenilles détruit in vivo, en 24 heures, le microbe de la rage. 3^o L'injection sous-durale ou intracérébrale de lymphe de chenille (0,1—0,5 ccm), infectée 24 heures auparavant ne provoque pas la rage chez le lapin. 4^o Les injections intraveineuses de 2—8 ccm de lymphe de chenille, préalablement infectée, pratiquées dans le but d'établir l'immunité passive, n'ont abouti qu'à des échecs. Il en est de mêmes des injections intracérébrales effectuées contre l'injection sous-durale de contrôle, avec le microbe frais. 5^o L'émulsion de lymphe renfermant des immunisines et des microbes frais retarde, corrélativement au temps de contact, le moment d'apparition de la maladie“...

As can be seen, then some German scientists are capable of unscrupulous picking up of works and themes of others scientists, without mentioning any scientific source and disregarding completely the ius prioritatis.

S u m m a r y

From investigations conducted by the author already in 1923 and 1950/51 on the microorganism of rabies — *virus fixe* (*V. F.*) and *virus de rue* (*V. R.*) it appears that:

1. Free living protozoa (*Paramecium aurelia*, *P. caudatum* and others display antibiotic and bacteriostatic properties.
2. Protozoa, as natural bacteriophages, either contain, or produce in a very short time agents, characterized by antibiotic properties.
3. Two or four hours lasting contact of the protozoa with *V. F.* provided the protozoa were previously fed for some time (24—48 hours) with microorganisms of rabies, is sufficient in order to destroy the virulence of the virus.

4. Such a culture (protozoa + *V. F.* introduced subdurally possesses immunizing properties and protects the organism against the next injection with a living organism, or a pure microorganism.
5. Rabbits immunized with protozoa and virus fixe are immunized against virus de rue.
6. The time required for the producing of immunity is 1—14 days, after which the organism may be infected with such a number and such a set of culture of *P. aurelia* + *V. F.* (or pure *virus fixe*), which for a rabbits not immunized by the first injection is always fatal.
7. The amounts of culture *P. aurelia* + *V. F.* required to produce immunity ranged from 0.1—0.5 ccm. Such amounts are almost insignificant, the more so, if we take into consideration and compare the doses of vaccines in use up to now both for therapeutic and preventive purposes.
8. Agents obtained from protozoa always possess besides antibiotic properties also an immunizing power (cytoserum) what biotically differentiates cells of protozoa from antibiotics of plant origin, both types of active agents take their origin in the cells of protozoa.
9. Fresh protozoa added to the culture *P. aurelia* + *V. F.* at once neutralize the action of „chance“ bacteria, polluting the culture, which cause without exception a fatal termination of the animal in 8—24 hours. In certain cases some microorganisms living in symbiosis with protozoa may show refraction to their antibiotics, similarly, as it can be demonstrated in case of penicillin and other antibiotics.
10. Rabbits and guinea pigs may be immunized by the use of a pure, clear cells vaccine, free of any elements of nervous tissue and protozoal cells, obtained from a culture of protozoa and emulsion of nervous tissue infected with *V. R.* Such a vaccine is produced by grinding the protozoa and by centrifugation.
11. Such a vaccine acts antibiologically and immunizes animals even after the introduction of a pure virus. *V. R.* from another place of infection.

The next stage of our investigations will be the production of a pure inoculum, which after the administration intravenously, intradurally, intramuscularly, or to the cerebrospinal fluid will inactivate the virus and immunize the animal or human organism before the outbreak of the disease in the stadium of an advanced infection.

Finally the author expresses the opinion that in future, in view of the enormous value and therapeutic variety of the antibiotics (and investigations on the subject are constantly increasing) a number of sera and vaccines will most likely be eliminated from therapy and sero- and bacteriological methods will be reorganized.

Posiedzenie

dnia 28 listopada 1949 r.

M i r o s ł a w F i u c z e k

O działaniu antybiotycznym metabolitów bakterii gnilnej, bezsporowej, rodzaju *Proteus*

Przedstawił czł. K. Bassalik

K. Bassalik i R. Edelsztein (1) wyizolowali z gnijącej cebuli bakterię sporową, gramododatnią, nazwaną przez nich *Bacillus cepae*, powodującą szybkie gnicie cebuli. Po pewnym czasie hodowli na podłożach sztucznych autorzy otrzymali rasę niesporującą, która poza tym wykazywała wszystkie inne cechy rasy sporującej. Badania Bassalika wykazały, że *Bacillus cepae* posiada silne własności antybiotyczne.

W dalszym ciągu warunki powstawania i działania antybiotycznego tego gatunku bakteryjnego badała W. Grynszpanówna, a począwszy od roku 1938 I. Ryzmanówna przystąpiła do chemicznego izolowania substancji antybiotycznych z hodowli tej bakterii. Wojna w roku 1939 pracę tę przerwała, a hodowla *Bacillus cepae* zginęła.

Celem niniejszej pracy było izolowanie z gnijącej cebuli bakterii o własnościach antybiotycznych, wyodrębnienie substancji antybiotycznych z hodowli szczepów posiadających własności antybiotyczne najsilniejsze i charakterystyka działania antybiotycznego tych substancji.

C z ę ś ć d o ś w i a d c z a l n a

Izolowanie bakterii

Bakterie izolowano na szalkach Petriego, na pożywce przygotowanej w następujący sposób: 250 g cebuli gotowano z 500 ml wody wodociągowej w ciągu jednej godziny, sączono przez bibułę i do przesącza dodawano 1,5% agaru (7). Własności antybiotyczne wyizolowanych bakterii badano metodą smug na szalkach Petriego (13). Jako mikroorganizmów testowych użyto: *Bacillus mycoides*, *Bacterium coli*, *Staphylococcus aureus* i *Actinomyces* nie określonego.

Badanie to przeprowadzono w następujący sposób: na szalki Petriego wylewano pożywkę o składzie: glukoza 2%, pepton 1%, agar 1,5%, woda wodociągowa, pH 6,7, zaszczerpioną mikroorganizmami testowymi. Po zastygnięciu agaru na jego powierzchni robiono smugę wzdłuż średnicy szalki zawierającą bakterie wyizolowanych z gnijących cebul. Szalki przenoszono do termostatu i trzymano w temperaturze 25° i 34°C, wyniki odczytywano po 18—24 godzinach.

Na szalkach jako skutek działania substancji czynnej, wydzielanej do podłoża przez bakterie posiadające własności antybiotyczne, powstawała strefa zahamowania wzrostu mikroorganizmów testowych.

Fotografia Nr 1 i 2 ilustruje antybiotyczne działanie bakterii C₁ hamujące rozwój *Bacillus mycoides* (fot.1) i *Actinomyces* (fot. 2).

W wyniku izolacji bakterii z różnych gnijących cebul otrzymano pięć różnych szczepów posiadających własności antybiotyczne, lecz gatunku *Bacillus cepae* K. B a s s a l i k i R. E d e l s z t e i n nie udało się wyizolować.

Własności antybiotyczne wyizolowanych szczepów bakteryjnych ilustruje tablica Nr I.

Fot. 1. Antybiotyczne działanie bakterii C_4 na rozwój *Bacillus mycoides*Tablica Nr I. Antybiotyczna aktywność bakterii *in vitro*, wyodrębnionych z gnijącej cebuli

Bakterie o własnościach antybiotycznych	Mikroorganizmy próbne			
	Actinomyces	Bacillus mycoides	Bacterium coli	Staphylococcus aureus
C_1	+++	++	+	+
C_2	-	++	+	+++
C_{2a}	++	+++	+	+
C_4	+++	+++	+++	++
W	+	stymuluje wzrost	-	-

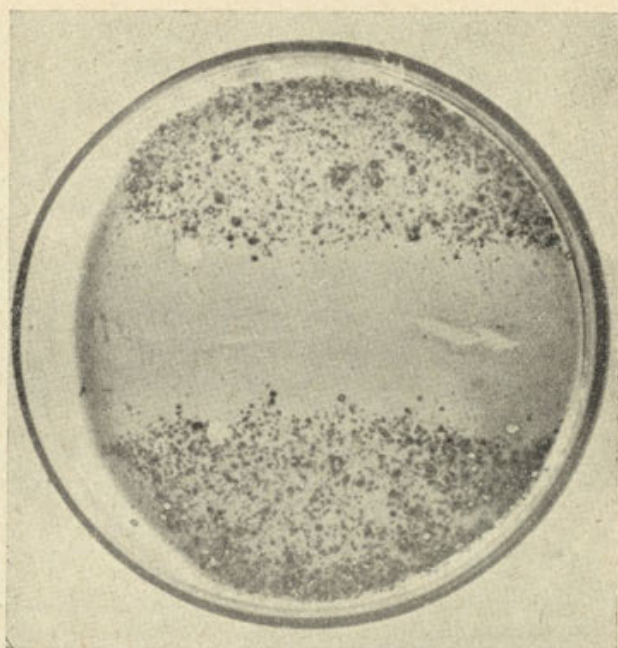
+++ silne hamowanie wzrostu bakterii próbnych

++ średnie hamowanie wzrostu bakterii próbnych

+ słabe hamowanie wzrostu bakterii próbnych

- brak hamowania wzrostu bakterii próbnych

Spośród pięciu wyodrębnionych bakterii z gnijącej cebuli bakteria W początkowo hamowała wzrost bakterii próbnych, lecz po pewnym czasie hodowania na sztucznych podłożach straciła tę własność.



Fot. 2. Antybiotyczne działanie bakterii C_4 na rozwój *Actinomyces*

Z zestawienia wynika, że najsilniejsze działanie antybiotyczne posiada szczep C_4 , zaś szczep W, o bardzo słabych własnościach antybiotycznych wobec *Actinomyces*, działał nawet stymulująco na wzrost *Bacillus mycoides*.

W celu zbadania czynności antybiotycznej przesączy płynnych hodowli bakteryjnych hodowano bakterie na pożywce (glukoza 2%, pepton 1%, woda wodociągowa, pH 6,8) w termostacie, w temperaturze 28°C, w ciągu 9 dni. Płynną hodowlę bakteryjną sączono przez filtr Schotta Nr 5 na 3 za pomocą pompy wodnej. Z otrzymanego przesącza robiono posiew dla sprawdzenia, czy jest on bezbakteryjny. Następnie wylewano szalki pożywką (glukoza 2%, pepton 1%, woda wodociągowa, agar 1,5%, pH 6,8) zaszczerpioną bakteriami próbnymi; do 7 ml pożywki szczepiono 0,05 ml jednodniowej płynnej hodowli bakterii testowej. Na powierzchni agaru ustawiano cylinderki szklane o średnicy 5 mm i wysokości 5 mm; przygotowany przesącz bezbakteryjny nalewano do cylinderek i szalki przenoszono do termostatu o temperaturze 25° i 34°C. Obserwacje

wyników robiono po 24 godzinach. Doświadczenia wykonane na przesączach czterech szczepów bakterii wykazały, że przesącze dwóch szczepów posiadały bardzo małą aktywność antybiotyczną (małe strefy hamowania wzrostu mikroorganizmów testowych). Największy efekt antybiotyczny otrzymano z przesączem szczepu C₄; przesącz ten wykazywał czynność antybiotyczną przy rozcieńczeniu wodą destylowaną w stosunku 1 do 1,5. Na podstawie własności antybiotycznych bakterii zestawionych w tablicy Nr I i doświadczeń z przesączami hodowli bakteryjnych wybrano dla produkcji substancji antybiotycznej szczep C₄.

Szczep C₄ jest to pałeczka gramujemna, niesporowa, bardzo ruchliwa, o urzęsieniu peritrychialnym. W jednodniowej kolonii na szalce z agarem obserwuje się w mikroskopie pod trójką ruch bakterii (swarming) charakterystyczny dla bardzo ruchliwych bakterii. Bakteria ta jest fakultatywnym anaerobem, występuje pojedynczo i w łańcuszkach. Za życia wymiary jej wynoszą 0,6—0,8 × 2,0—7,0 mikronów. Na szalkach z pożywką (glukoza 2%, pepton 1%, agar 1,5%, woda wodociągowa pH 6,8) wyrastają na drugi dzień kolonie płaskie, szarobiałe z połyskiem, o brzegu lekko pofałdowanym. Bakteria ta nie rozrzedza żelatyny, zakwasza mleko i wykazuje rozwój średni na marchwi i kartoflu. Na 2% wodzie peptonowej rośnie obficie, wytwarza indol i siarkowodór, na powierzchni powstaje cienki kożuszek. Po dziesięciu dniach hodowli wodę peptonową alkalizuje do pH 8,2. W stosunku do olejku gorczycznego, który występuje w cebuli, wykazuje odporność; koncentracja olejku gorczycznego do 0,5% w pożywce nie hamuje rozwoju tej bakterii.

Bakterię tę według B e r g e y a zidentyfikowano jako należącą do rodzaju *Proteus*, lecz przynależności gatunkowej nie udało się ustalić z powodu różnic we własnościach biochemicznych z opisanymi gatunkami w literaturze. Wydaje się, że bakteria C₄ jest najbliższej spokrewniona z *Proteus morgani* i być może jest jego biochemicznym wariantem. Różni się od gatunku *Proteus morgani* tym, że występuje w krótkich łańcuszkach, wytwarza siarkowodór, mleko słabo zakwasza i fermentuje maltozę; od gatunku *Proteus vulgaris* różni się ogólnym pokrojem i połyskiem kolonii i niezdolnością rozrzedzania żelatyny. Są to tylko różnice międzygatunkowe rodzaju *Proteus*.

Wyodrębnianie substancji antybiotycznych

Dalsze badanie własności substancji antybiotycznych wymagało ustalenia korzystnych warunków powstawania tych substancji. W tym celu szczep C_4 hodowano na następujących pożywkach płynnych:

I. glukoza	— 2 ^o / _o	II. glukoza	— 2 ^o / _o
pepton	— 1 ^o / _o	pepton	— 1 ^o / _o
woda wodociągowa		wyciąg drożdżowy	
		woda wodociągowa	
III. NH_4NO_3	— 0,1 ^o / _o	IV. NH_4NO_3	— 0,1 ^o / _o
K_2HPO_4	— 0,1 ^o / _o	K_2HPO_4	— 0,1 ^o / _o
$MgSO_4 \cdot 7aq$	— 0,05 ^o / _o	$MgSO_4 \cdot 7aq$	— 0,05 ^o / _o
glukoza	— 2 ^o / _o	glicerol	— 2 ^o / _o
woda wodociągowa		woda wodociągowa.	

Wszystkie pożywki doprowadzono do pH 6,8. Hodowle przeprowadzano w temperaturze 28^o i 18^oC w ciągu dziewięciu dni. Tylko przesącze z hodowli bakterii C_4 na pożywce I i II posiadały własności hamowania mikroorganizmów testowych; przesącze z hodowli bakterii C_4 na pożywkach III i IV (pożywki mineralne) były nieczynne antybiotycznie. Po wielu próbach izolowania substancji antybiotycznej z hodowli płynnych, metodami adsorpcji na węglu aktywowanym i wodorotlenku glinu, ekstrakcji odczynnikami organicznymi zastosowano metodę ekstrakcji eterem etylowym. Ekstrakcję wykonywano z płynnych hodowli bakteryjnych, a nie z przesączów, przy pH 4—4,5, tj. przy końcowym pH hodowli, jak i przy pH 2. Do zakwaszenia hodowli w tym przypadku stosowano kwas solny. Aby otrzymać większą ilość substancji, ekstrakcję przeprowadzano w aparacie do ekstrakcji ciągłej przez 30 godzin. Z ekstraktu oddestylowano eter do 1/20 początkowej objętości. Pozostałość tę przelewano do krystalizatora i pozostawiano w temperaturze pokojowej pod wyciągiem.

Po całkowitym odparowaniu eteru w pozostałości ekstrakcyjnej z hodowli bakterii na pożywce I i II stwierdzono dwie substancje:

- I. substancję krystaliczną i bezbarwną,
- II. substancję ciekłą o zabarwieniu ciemnożółtym i ostrym zapachu niższych kwasów organicznych.

W ekstrakcie z hodowli bakterii C_4 na pożywkach III i IV stwierdzono tylko „ślady“ substancji żółtej, choć rozwój bakterii na tych pożywkach był bardzo obfity.

Otrzymane substancje rozdzielono i poddano dalszemu oczyszczaniu. Substancję krystaliczną przemywano kilka razy eterem etylowym, następnie rozpuszczono w eterze etylowym w temperaturze 30°C i pozostawiono w lodówce do krystalizacji. Substancję ciekłą oddzielono od resztek substancji krystalicznej za pomocą sączenia na małym filtrze Schotta. W hodowli na pożywce I i II powstawały zbliżone ilości obydwóch substancji; z jednego litra hodowli otrzymano około 100—120 mg substancji krystalicznej I i około 120—150 mg substancji ciekłej II. W hodowlach bakterii C_4 w temperaturze 18° i 28°C nie stwierdzono różnic w ilościach powstałych substancji, krystalicznej i ciekłej, jedynie wzrost bakterii w temperaturze 28°C odbywał się szybciej niż w temperaturze 18°C .

Z obserwacji hodowli szczepu C_4 na pożywce płynnej (glukoza 2%, pepton 1%, woda wodociągowa, pH 6,8) w termostacie w temperaturze 28°C zauważono, że jeśli hodowle przeprowadzamy w kolbie okrągłej z tubusem zwróconym pionowo do góry, to rozwój bakterii rozpoczyna się od dna kolby i równomiernie rozprzestrzenia się do powierzchni cieczy. Jeśli zaś tubus kolby pochylimy odpowiednio pod pewnym kątem do poziomu, to rozwój bakterii zaczyna się i osad bakteryjny gromadzi się po stronie pochylenia tubusa. Po przeciwległej stronie rozwój jest słabszy i po pewnym czasie można zauważyć wyraźną granicę oddzielającą obfity rozwój bakterii, charakteryzujący się zmętnieniem pożywki, od strefy klarownej, w której bakterie nie rosną obficie. Zjawisko to wskazywałoby na pewną zależność rozwoju tych mikroorganizmów od składu atmosfery znajdującej się nad pożywką w kolbie.

W celu zbadania wpływu dwutlenku węgla na ilość substancji antybiotycznej, produkowanej przez bakterie, przeprowadzono następujące doświadczenie: cztery kolby jednolitrowe z pożywką (jak wyżej) zaszczepiono bakteriami C_4 ; do dwóch z tych kolb wprowadzono z aparatu Kippa dwutlenek węgla na głębokość jednego cm pod powierzchnię płynnej hodowli, dwie pozostawiono w innym pokoju bez doprowadzania CO_2 ze sztucznego źródła. Doświadczenie przeprowadzono w tempera-

turze pokojowej. Po ośmiu dniach kolby ekstrahowano i w ekstrakcie oznaczono zawartość substancji krystalicznej i ciekłej. Wyniki przedstawia tablica Nr II.

Tablica Nr II. Wpływ dwutlenku węgla na ilość wytworzonej substancji krystalicznej i ciekłej

Substancja krystaliczna		Substancja ciekła
z dopływem	136,4 mg	150,8 mg
CO ₂	130,1 mg	140,2 mg
bez	121,0 mg	140,1 mg
CO ₂	124,3 mg	156,7 mg

Z doświadczenia wynika, że ilość substancji krystalicznej jest większa w wypadku dopływu dwutlenku węgla do hodowli bakterii ze sztucznego źródła, niż bez dopływu dwutlenku węgla.

Badanie in vitro substancji antybiotycznych

Po wyodrębnieniu substancji przystąpiono do oznaczenia ich działania antybiotycznego oraz ich własności specyficznych w stosunku do pewnych typów bakterii. Badania in vitro wykonano na następujących mikroorganizmach testowych: *Bacillus mycoides*, *Bacterium coli*, *Mycobacterium 279* (szybko rosnące ze zbiorów amerykańskich), *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*. Oznaczenie antybiotycznego działania wykonano metodą cylinderkową (13) na stałej pożywce I. Do 7 ml pożywki wylewanej na szalkę szczepiono 0,05 ml 24-godzinnej kultury płynnej mikroorganizmów próbnych, a w wypadku *Mycobacterium 279* 0,05 ml 48-godzinnej kultury. Roztwory substancji wyekstrahowanych wykonywano używając wody destylowanej. Wyniki doświadczeń przedstawione są na tablicy III i IV.

Tablica Nr III. Aktywność antybiotyczna substancji krystalicznej in vitro

Stężenie substancji	Bakterie próbne				
	<i>Bacillus mycoides</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Bacterium coli</i>	<i>Mycobact. 279</i>	<i>Staphyl. aureus</i>
1 : 1000	+	+	+	+	+
1 : 1250	—	—	—	+	—
1 : 1500	—	—	—	—	—

Tablica Nr IV. Aktywność antybiotyczna substancji ciekłej in vitro

Stężenie substancji	Bakterie próbne				
	Bacillus mycoides	Bacillus subtilis	Bacterium coli	Mycobact. 279	Staphyl. aureus
1 : 3000	+	+	+	+	+
1 : 4000	+	+	+	+	—
1 : 5000	—	—	—	—	—

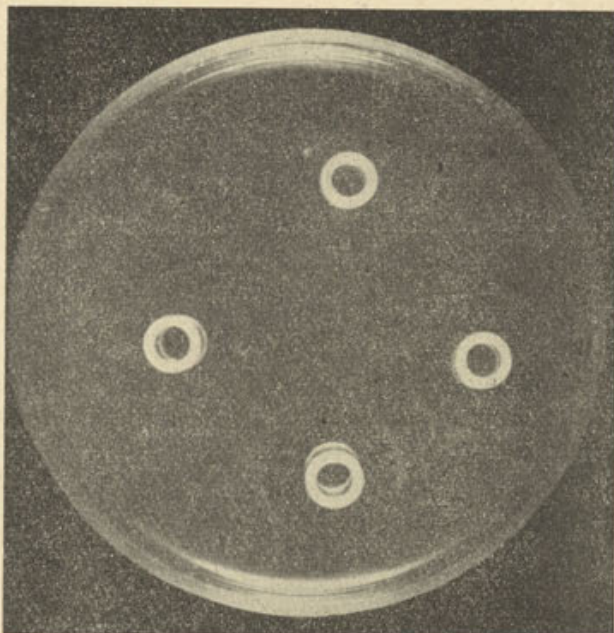
+ oznacza zahamowanie wzrostu bakterii próbnych

— oznacza brak zahamowania wzrostu bakterii próbnych

Z zestawienia danych tablicy III i IV okazało się, że aktywność substancji ciekłej w stosunku do czterech rodzajów bakterii jest czterokrotnie większa niż substancji krystalicznej, a w stosunku do *Mycobacterium 279* około trzykrotnie. Selektowności działania antybiotycznego nie stwierdzono. Fotografie Nr 3 i 4 ilustrują działanie antybiotyczne substancji krystalicznej, hamujące wzrost *Mycobacterium 279* i *Bacterium coli*.



Fot. 3. Antybiotyczne działanie substancji krystalicznej na *Mycobacterium 279*



Fot. 4. Antybiotyczne działanie substancji krystalicznej na *Bacterium coli*

Badanie in vivo substancji antybiotycznej

W dalszym ciągu zajęto się badaniem własności antybiotycznych substancji krystalicznej in vivo. Substancję ciekłą II, żółtą pozostawiono do dalszego badania in vivo i określenia jej charakteru chemicznego.

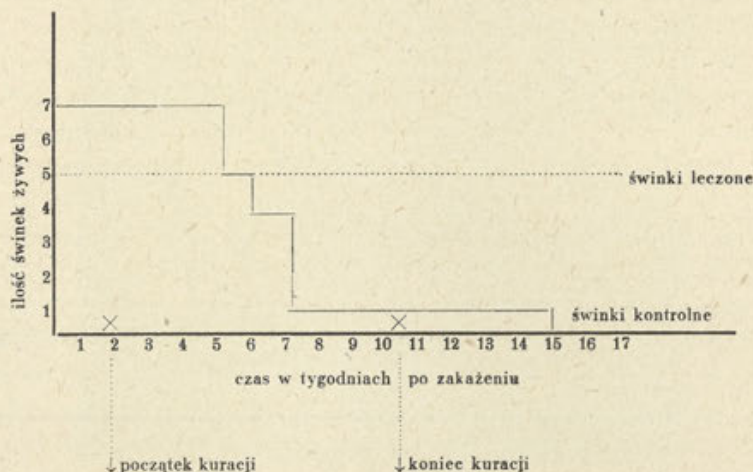
Wstępem do badań in vivo było przeprowadzenie prób wrażliwości zwierząt doświadczalnych na działanie substancji krystalicznej I. Świnkom morskim wstrzykiwano do mięśnia roztwór substancji krystalicznej w 0,85% roztworze wodnym NaCl w ilościach po 20 i 30 mg w jednym zastrzyku. Substancję wstrzykiwano w ciągu dwóch tygodni co drugi dzień. Następnego dnia po zastrzyku w miejscu wstrzyknięcia powstawało opuchnięcie, które częściowo ustępowało po 48 godzinach. U badanych zwierząt nie zaobserwowano żadnych innych widocznych zmian.

Przeprowadzone doświadczenia nad antybakteryjnym działaniem substancji krystalicznej *in vitro* wykazały, że aktywność tej substancji w stosunku do bakterii kwasoodpornej *Mycobacterium 279* jest większa niż w stosunku do pozostałych mikroorganizmów próbnych (*Bacterium coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus mycoides*).

W celu zbadania czynności antybakteryjnej substancji krystalicznej *in vivo* w stosunku do bakterii kwasoodpornych przeprowadzono doświadczenie na świnkach morskich zakażonych bakteriami gruźlicy. Do doświadczenia użyto 12 świnek morskich, każda o wadze około 300 do 350 g. Świnki zostały zakażone szczepem gruźlicy ludzkiej H 37 Rv. Każdej śwince wstrzyknięto 1 ml zawiesiny bakterii gruźlicy domięśniowo w nogę w okolicy pachwiny. Zawiesinę bakterii wykonano w następujący sposób: do flakonika odważono masę bakteryjną z hodowli H 37 Rv. na kartoflu, dodano tyle 0,9% roztworu NaCl, ażeby 1 ml zawierał 0,2 mg bakterii i za pomocą perełek szklanych roz tarto. Zwierzęta zakażone 6. VI. 1950 r. pozostawały w jednym pomieszczeniu. W drugim tygodniu zaobserwowano powiększenie gruczołów pachwinowych u wszystkich zwierząt. Po dwóch tygodniach rozdzielono je na dwie partie — pierwsza partia składająca się z pięciu świnek poddana została leczeniu, druga składająca się z siedmiu świnek stanowiła kontrolę. Do iniekcji sporządzono roztwór substancji krystalicznej w 0,85% roztworze NaCl sterylizowanym; 1 ml roztworu zawierał 5 mg substancji krystalicznej. Iniekcje robiono świnkom poddanym leczeniu trzy razy tygodniowo. Każda świnka leczona otrzymała do mięśnia w udo zastrzyk 2 ml roztworu, tj. 10 mg substancji krystalicznej jednorazowo. U świnek leczonych obserwowano w kilkanaście sekund po zastrzyku kaszel i lekki wstrząs. Na drugi dzień po zabiegu w miejscu wstrzyknięcia substancji powstawało opuchnięcie, z tego powodu następny zastrzyk wykonywany był do drugiej nogi. Wstrzykiwanie substancji na przemian, raz do lewej, drugi raz do prawej nogi, trwało od 20.VI. do 11.VIII. 50 r. — ogółem zrobiono 24 zastrzyki każdej śwince poddanej leczeniu. W szóstym tygodniu od dnia zakażenia świnki kontrolne zaczęły umierać; w ciągu dwóch tygodni padło 6 sztuk, ostatnia świnka kontrolna padła 21. IX.

50 r. po 107 dniach. Wszystkie świnki leczone przeżyły świnki kontrolne.

Tablica V. Śmiertelność świnek zakażonych szczepem *Mycobacterium tuberculosis* H 37 Rv, leczonych substancją krystaliczną I i kontrolnych



Analiza chemiczna substancji I krystalicznej

W celu ustalenia budowy i zidentyfikowania wyizolowanej substancji wykonano analizę chemiczną. Oczyszczona substancja występuje w bezbarwnych, pryzmatycznych, jednośkośnych kryształach; rozpuszcza się w wodzie, eterze etylowym, alkoholu etylowym, acetonie i chloroformie; nie rozpuszcza się w eterze naftowym i benzenie, ma odczyn kwaśny, topi się w temperaturze 185°C; roztwór wodny tej substancji daje z chlorkiem żelazowym żółty osad.

Ogrzewanie roztworu wodnego tej substancji w temperaturze 100°C nie niszczy jej własności antybiotycznej.

Analiza elementarna węgla i wodoru wykazała skład: C — 40,84%, H — 5,30%, C — 40,42%, H — 5,20%, reszta stanowi tlen, ponieważ analiza chemiczna jakościowa wykazała, że substancja krystaliczna innych pierwiastków nie zawiera.

Na podstawie analizy elementarnej co do procentowej zawartości węgla, wodoru i tlenu stosunek tych pierwiastków w substancji krystalicznej wynosi C — 1,0; H — 1,5; O — 1,0.

Analiza wykonana metodą Zeissla wykazała, że badana substancja nie zawiera grup alkoksylowych i własności redukujących nie posiada.

Na podstawie miareczkowania substancji badanej metodą potencjometryczną wynika, że z jednym wodorem kwasowym tej substancji związany jest ciężar 58,6. Ciężar cząsteczkowy tej substancji oznaczony metodą ebulliometryczną przy użyciu acetonu jako rozpuszczalnika wynosi w trzech próbach odpowiednio — 110, 118 i 112. Wobec tego badana substancja musi być kwasem dwukarbonowym. Porównanie własności chemicznych i fizycznych badanej substancji z własnościami kwasów dwukarbonowych doprowadziło do zidentyfikowania badanej substancji jako kwasu bursztynowego. Oznaczenie punktu topnienia mieszaniny równych ilości kupnego czystego kwasu bursztynowego i substancji badanej nie wykazało depresji punktu topnienia.

D y s k u s j a

Wyizolowana bakteria z gnijącej cebuli, chociaż dla produkcji kwasu bursztynowego nie ma znaczenia, bo otrzymuje się go na drodze chemicznej, jest jednak ważnym ogniwem w całości zagadnienia. Ponadto jej hodowla na różnych pożywkach rzuca światło na powstawanie w hodowli tej bakterii kwasu bursztynowego, który stanowi o jej własnościach antybiotycznych.

W roku 1936 H. G. Wood i C. H. Werkman (18, 19) dowiedli, że bakterie kwasu propionowego — *Propionibacteria* — mogą wprowadzać dwutlenek węgla w związki organiczne. Wykazali oni: 1) że poza kwasem propionowym w fermentacji propionowej powstają pewne ilości kwasu bursztynowego, oraz 2) że kwas bursztynowy w tej fermentacji powstaje tylko w obecności dwutlenku węgla. Wood i Werkman badania swoje przeprowadzali z bakteriami fermentacji propionowej na pożywkach: I — glukoza — 3%, CaCO_3 — 1,4%, ekstrakt drożdżowy — 0,5%; II — glicerol — 3%, CaCO_3 — 2%, ekstrakt drożdżowy — 0,4%, w warunkach beztlenowych i w obu wypadkach otrzymywali kwas bursztynowy. W pracy niniejszej, jak powyżej podano, bakteria wyizolo-

wana hodowana była na pożywkach: I — glukoza 2%, pepton — 1%; II — glukoza — 2%, pepton — 1%, ekstrakt drożdżowy; kwas bursztynowy w tych hodowlach otrzymano. Natomiast w hodowlach bakterii wyizolowanej na pożywkach syntetycznych: III — mineralna z glukozą, IV — mineralna z glicerolem kwas bursztynowy praktycznie nie powstał. Fakt ten wskazuje na to, że w pożywce syntetycznej — pożywka III i IV — brak jest pewnego związku chemicznego, którego bakteria nie może syntezować z azotu mineralnego i bez którego nie powstaje w hodowli kwas bursztynowy. Substancja ta, być może warunkująca tworzenie się enzymu, w obecności którego powstaje kwas bursztynowy, źródło swe mieć powinna w peptonie. W ostatnich latach wykazano, że biotyna jest konieczna dla przeprowadzenia reakcji włączania dwutlenku węgla w cząsteczkę kwasu pirogronowego (9, 14). Zużywanie dwutlenku węgla przez bakterie dla powstawania kwasu bursztynowego nie jest ograniczone do grupy *Propionibacteria*. Do tego typu należałaby wyizolowana i opisana w tej pracy bakteria C₁, zidentyfikowana jako rodzaj *Proteus*.

Kwas bursztynowy występuje bardzo powszechnie w naturze. Znajduje się przede wszystkim w bursztynie, skąd go otrzymano na drodze chemicznej, w węglu brunatnym, w glonach, grzybach, porostach, w roślinach wyższych żyjących i kopalnych. Zawierają go takie rośliny, jak np. burak cukrowy, rabarbar, pomidor, mak, *Atropa belladonna* L., *Chelidonium maius* L. i wiele innych. Występuje w tarczycy, grasicy i śledzionie u bydła. Kwas bursztynowy powstaje jako produkt metabolizmu mikroorganizmów z cukrów, alkoholi, aminokwasów i białka. W fermentacji cukrów spowodowanej przez drożdże obficie występuje kwas bursztynowy, jeśli w pożywce znajduje się kwas glutaminowy. Bakterie gnilne fermentują winian amonowy, kwas asparaginowy i asparaginę na kwas bursztynowy. Kwas ten powstaje również w procesach gnilnych kazeiny i mięsa (2).

Czy powstawanie kwasu bursztynowego w hodowli bakterii C₁ odbywa się w reakcji włączania CO₂ do kwasu pirogronowego lub innego kwasu trójwęglowego, czy kwas ten powstaje z pośrednich produktów rozkładu peptonu przez bakterie C₁, np. z asparaginy, nie zostało stwierdzone.

Kwas bursztynowy ma zastosowanie w leczeniu: w połączeniu z sulfatiazolem jako sukcylnylsulfatiazol posiada działanie bakteriostatyczne i słabe działanie toksyczne, podawany doustnie jest absorbowany nie więcej jak w 4% doży. Dzięki działaniu bakteriostatycznemu jest stosowany przy dyzenterii i profilaktycznie przy operacjach wewnętrznych. Bursztynian sodu stosowano jako skuteczne antidotum na działanie narkotyków barbiturowych. Dożylny zastrzyk od 2 do 200 ml 30% roztworu bursztynianu sodu wywołuje kaszel w ciągu 15 do 30 sekund, skóra czerwienieje i występuje chwilowe przyśpieszenie oddychania, stosowanie stężonych roztworów osłabia serce. Podskórny zastrzyk 0,1 ml 1% bursztynianu sodu u człowieka zwiększa liczbę leukocytów we krwi od 20 do 70% (15). Limfocyty znajdują się w przeważającej ilości w okresie powrotu do zdrowia organizmu zakażonego gruźlicą. W czasie infekcji w organizmie powstaje potrzeba większej ilości leukocytów, niż normalna — czynnik więc, który zwiększa liczbę leukocytów, a jest jednocześnie nietoksyczny dla organizmu, będzie korzystnie działał w zwalczaniu infekcji przez organizm zwierzęcy (4, 12).

Z doświadczeń *in vitro*, wykonanych w tej pracy, wynika, że kwas bursztynowy wyodrębniony z hodowli bakterii *C₄* nie działa wybitnie selektywnie na pewien typ bakterii, najmocniej jednak hamuje wzrost *Mycobacterium 279*. Wykonane doświadczenia *in vitro* nad czynnością antybiotyczną kwasu bursztynowego, syntetycznie otrzymanego, wykazały, że działanie jego jest prawie równe działaniu kwasu bursztynowego, wyodrębnionego z hodowli bakterii *C₄*. Trochę większa aktywność antybiotyczna *in vitro* kwasu bursztynowego, wyodrębnionego z hodowli bakterii *C₄*, niż kwasu bursztynowego syntetycznie otrzymanego, pochodzi może stąd, że kwas ten w słabym stopniu jest zanieczyszczony substancją żółtą II z ekstraktu eterowego, której działanie antybiotyczne jest około czterokrotnie większe, niż kwasu bursztynowego, wyodrębnionego z hodowli bakteryjnej. Bursztynian wapnia w tych samych warunkach działa antybiotycznie na te same gatunki bakterii o wiele słabiej, niż kwas bursztynowy, a mianowicie tylko w rozcieńczeniu 1 : 400.

Poza tym przeprowadzono doświadczenie nad działaniem antybiotycznym kwasu szczawiowego *in vitro* na *Mycobacterium* 279 w warunkach takich, jak w doświadczeniu z kwasem bursztynowym, a mianowicie na szalkach z agarom (glukoza 2%, pepton 1%, woda wodociągowa) zaszczepionym *Mycobacterium* 279 wykonano dwie równoległe próby metodą cylinderkową. Kwas szczawiowy rozpuszczono w wodzie destylowanej i wykonano rozcieńczenia 1 : 200, 1 : 400, 1 : 600, 1 : 800, 1 : 1000. Doświadczenie wykazało, że kwas szczawiowy działa przy stężeniu 1 : 400. Kwas szczawiowy posiada większą kwasowość aktualną niż kwas bursztynowy, lecz działanie antybiotyczne jest mniejsze niż kwasu bursztynowego. Wnosić stąd można by, że działanie antybiotyczne kwasu bursztynowego związane jest ze strukturą cząsteczki kwasu, a nie z mocą kwasu.

Chociaż wyniki *in vitro* można uważać za wskaźnik do doświadczeń *in vivo*, to jednak nie mogą one decydować o właściwościach terapeutycznych substancji użytej w doświadczeniu. Wyniki *in vitro* oznaczają jedynie to, że substancja antybiotyczna posiada aktywność w warunkach doświadczenia, jeśli się znajduje w bezpośrednim kontakcie z bakteriami w próbówce lub na szalce.

Na czynność antybiotyczną w ciele zwierząt wpływają takie czynniki, jak absorpcja, wędrówka substancji w postaci niezmienionej lub przynajmniej aktywnej do miejsc zainfekowanych, utrzymywanie się na tym miejscu w koncentracji odpowiedniej i przez dostateczny przeciąg czasu.

Znajomość przemiany materii *Mycobacterium tuberculosis* może mieć znaczenie nie tylko dla hodowli tych bakterii, lecz także dla terapii gruźlicy. *Mycobacterium tuberculosis* typu ludzkiego, bydłowego i ptasiego może zużywać tylko nieznaczne proste związki węgla, a mianowicie glukozę, glicerynę i sole kwasu octowego. Wymienione substancje mogą służyć tym bakteriom jako jedyne źródło węgla. Natomiast sole kwasu propionowego, masłowego, mlekowego, bursztynowego, jabłkowego, szczawiowego, winowego, cytrynowego, alkohol metylowy, etylowy, erytrytol, sorbitol, mannitol, dulcytol, fruktoza, laktoza, maltoza, sacharoza i rafinoza nie są asymilowane przez *Mycobacterium tuberculosis* (3). Badania hodowli *Mycobacterium tuberculosis* na pożywkach syntetycznych wykazały nie-

zbędność określonych ilości żelaza dla ich rozwoju (6). Niedostatek w pożywce żelaza powoduje osłabienie wzrostu *Mycobacterium tuberculosis*; dostarczając odpowiednie ilości soli żelaza otrzymano obfity wzrost bakterii (16). *Mycobacterium tuberculosis* jako organizm aerobowy posiada enzymy, które są wrażliwe na działanie HCN, a więc zawierające w grupie czynnej żelazo.

Kwas bursztynowy tworzy z chlorkiem żelazowym sól $\text{OFe}_2(\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_4)_2$ nierozpuszczalną w wodzie, która pozwala stwierdzić obecność tego kwasu w mieszaninie kwasu szczawioowego, winowego i cytrynowego (2). Substancja więc, która tworzy związek nierozpuszczalny z żelazem, może usuwać ten pierwiastek ze środowiska i przez to mogłaby hamować rozwój bakterii.

Jeśli do organizmu zakażonego bakteriami gruźlicy wprowadzimy substancję, która powoduje taką zmianę, że przynajmniej jeden ze składników niezbędnych dla życia *Mycobacterium tuberculosis* będzie wiązany przez tę substancję, to rozwój bakterii zostanie zahamowany. Nie tłumaczy to, rzecz jasna, mechanizmu działania kwasu bursztynowego na *Mycobacterium tuberculosis*.

W ostatnich latach od czasu wyodrębnienia streptomycyny, poznane zostały liczne substancje pochodzenia naturalnego i syntetycznie otrzymane, które posiadają własności antibakteryjne. Wiele z tych substancji nie ma praktycznego zastosowania w lecznictwie, niektóre o charakterze kwasowym, jak kwas para-aminosalicylowy, działają hamująco na rozwój procesu gruźliczego in vivo, działanie innych jest obecnie badane, jak na przykład preparat T_2 (kwas salicylohydroksamowy) zsyntezowany przez T. U r b a ń s k i e g o (17) i preparat Tb I zsyntezowany przez D o m a g k a (15).

Dotychczasowe badania wykazały, że obydwa preparaty (T_2 i Tb I) wywierają lecznicze działanie w eksperymentalnej gruźlicy zwierząt nieco słabsze, niż działanie kwasu para-aminosalicylowego (10).

Działanie antibakteryjne kwasu para-aminosalicylowego wykazał J. L e h m a n n (11) w roku 1946. Kwas para-ami-

nosalicylowy działa antybiotycznie na *Mycobacterium tuberculosis* in vitro w stężeniu 1 : 650 000; aktywność więc jego jest zbliżona do aktywności streptomycyny. Kwas para-aminosalicylowy działa antagonistycznie, jako analogon strukturalny kwasu para-aminobenzoowego, który jest czynnikiem wzrostowym dla bakterii.

G. D o m a g k (5) w pracy nad aktywnością tiosemikarbazonów in vitro i in vivo podaje, że przez zastosowanie bursztynianu wapnia i innych substancji udało mu się eliminować in vitro przynajmniej częściowo szkodliwe działanie kwasu para-aminobenzoowego na aktywność kwasu para-aminosalicylowego na *Mycobacterium tuberculosis*. Czy takie tłumaczenie działania bursztynianu wapnia na *Mycobacterium tuberculosis* jest jedyne, to może być kwestią nierozstrzygniętą. D o m a g k stwierdził działanie antybiotyczne bursztynianu wapnia na *Mycobacterium tuberculosis* in vitro.

Tworzenie nierozpuszczalnej w wodzie soli kwasu bursztynowego z chlorkiem żelazowym, jako podstawa tłumaczenia działania antybiotycznego kwasu bursztynowego, działanie soli sodowej kwasu bursztynowego w organizmie ludzkim, powodujące wzmożoną produkcję leukocytów, nie rozwiązują problemu sposobu działania antybiotycznego kwasu bursztynowego.

Analiza chemiczna nowych substancji antybiotycznych i ich mechanizmu działania, być może, doprowadzi do syntezy substancji działających antybiotycznie na poszczególne bakterie. Omówione własności kwasu bursztynowego i jego soli, doświadczenia D o m a g k a z działaniem solą wapniową kwasu bursztynowego na *Mycobacterium tuberculosis*, wyniki doświadczeń in vitro i wstępne doświadczenia in vivo wykonane w tej pracy na świnkach morskich, których ilość była za małą do krytycznego uogólnienia, świadczą jednak o własnościach antybiotycznych kwasu bursztynowego.

Panu Prof. Dr K. Bassalikowi, z inicjatywy i pod kierunkiem którego praca ta została wykonana, składam serdeczne podziękowanie.

Kolegom Mgr K. Grajnertowi i Mgr J. Ostrowskiemu dziękuję serdecznie za pomoc udzieloną w tej pracy.

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

Z przeprowadzonych badań nad działaniem antybiotycznym metabolitów bakterii gnilnej otrzymano następujące wyniki:

- 1) Wyodrębniono z gnijącej cebuli bakterię, którą zidentyfikowano jako biochemiczny wariant *Proteus morgani*.
- 2) Stwierdzono w hodowli, że bakteria ta posiada zdolność wytwarzania substancji antybiotycznych na pożywce z peptonem i glukozą; na pożywce mineralnej z glukozą substancje antybiotyczne nie powstają.
- 3) Wyodrębniono dwie substancje antybiotyczne: I — krystaliczną bezbarwną, II — ciekłą o barwie ciemnożółtej i ostrym zapachu niższych kwasów organicznych.
- 4) Stwierdzono działanie antybiotyczne obydwóch substancji in vitro na bakterie gramdodatnie, gramujemne i kwasoodporne.
- 5) W doświadczeniu in vitro na świnkach morskich stwierdzono, że świnki morskie zakażone *Mycobacterium tuberculosis* i nie leczone, lecz pozostawione jako kontrolne, w liczbie 7, padły po 107 dniach, świnki zaś zakażone *Mycobacterium tuberculosis* leczone substancją I krystaliczną, w ilości 5, przetrwały ten okres.
- 6) Substancję krystaliczną I zidentyfikowano jako kwas bursztynowy, substancja II, aktywniejsza 3—4-krotnie, wymaga dalszego opracowania.

PIŚMIENNICTWO

1. B a s s a l i k K. et E d e l s z t e i n R., Bacteriose de l'oignon. Sprawozdania z posiedzeń Towarzystwa Naukowego Warszawskiego. W IV. (1933), 95.
2. B e i l s t e i n, Handbuch der organischen Chemie, 2, (1920), 601.
3. B r a u n J., Zur Ernährungsphysiologie der Tuberkelbacillen, Berliner Klinische Wochenschrift. 14, (1935), 703.
4. C r a w f o r d A. M., Presentation of a leucocytic index with a calculator to facilitate its computation. The American Review of Tuberculosis. 31, (1935), 642.
5. D o m a g k G., Investigation on the antituberculous activity of the thiosemicarbazones in vitro and in vivo, The American Review of Tuberculosis. 61, (1950), 8.
6. D u b o s R. J. and M i d d l e b r o o k G., Media for tubercle bacilli. The American Review of Tuberculosis, 56, (1947), 334—345.

7. E d e l s z t e i n R., Bakterioza cebuli jadalnej. Acta Societatis Botanicorum Poloniae. 10, (1933), 495—517.
8. K l e i n G. Handbuch der Pflanzenanalyse. 2, (1932), 418.
9. L a r d y H. A., P o t t e r R. L. and E l v e h j e m C. A., The role of biotin in the bicarbonate utilisation by bacteria, The Journal of Biological Chemistry. 169, (1947), 451.
10. L e g e ż y ń s k i S., S l o p e k S., Badania z zakresu chemoterapii doświadczalnej gruźlicy, Medycyna Doświadczalna i Mikrobiologia. 4, (1949), 611.
11. L e h m a n n J., Para-aminosalicylic acid in the treatment of tuberculosis, Lancet, 250, (1946), 15.
12. M e d l a r E. M., An evaluation of the leucocytic reaction in the blood as found in cases of tuberculosis. The American Review of Tuberculosis. 20, (1929), 312.
13. S c h m i d t W. H., M o y e r A. J., Penicillin — Methods of Assay, Journal of Bacteriology. 47, (1944), 199 .
14. S h i v e W., R o g e r s L. L., Involvement of biotin in the biosynthesis of oxalacetic and α ketoglutaric acids. The Journal of Biological Chemistry. 169, (1947), 453.
15. S o l l m a n n T., A Manual of Pharmacology. (1949), 689.
16. T o p l e y and W i l s o n, Principles of Bacteriology and Immunity. 1, (1948), 434.
17. U r b a ń s k i T., Salicylhydroxamic acid as an antitubercular agent, Nature. 166, (1950), 267.
18. W o o d H. G. and W e r k m a n C. H., The utilisation of CO_2 in the dissimilation of glycerol by the propionic acid bacteria. The Biochemical Journal. 30, (1936), 48.
19. W o o d H. G. and W e r k m a n C. H., Mechanism of glucose dissimilation by the propionic acid bacteria. The Biochemical Journal. 30, (1936), 618.

M. Фиучек

АНТИБИОТИЧЕСКИЕ ДЕЙСТВИЯ МЕТАБОЛИТОВ ГНИЛОСТНОЙ БАКТЕРИИ РОДА *PROTEUS*

Согласно произведенным исследованиям над антибиотическим действием метаболитов гнилостной бактерии получены следующие результаты:

1. Выизолировано из гниющего лука бактерию, которую отождествлено, как биохимический вариант *Proteus morgani*.

2. Сконстатировано в культуре, что бактерия эта способна на среде с пептоном и глюкозой продуцировать антибиотические субстанции; на среде же минеральной с глюкозой антибиотические субстанции не возникают.

3. Выизолировано две антибиотические субстанции: I — кристаллическую безцветную, II — жидкую темнокжелтого цвета с острым запахом простейших органических кислот.

4. Сконстатировано антибиотическое действие обеих субстанций *in vitro* на бактерии грамположительные, грамотрицательные и кислотоупорные.

5. В опытах *in vivo* над морскими свинками сконстатировано, что 7 морских свинок зараженных *Mycobacterium tuberculosis* и не леченных, но оставленных для контроля, пали по истечении 107 дней, 5 морских-же свинок зараженных *Mycobacterium tuberculosis* и леченных I кристаллической субстанцией перенесло этот период.

6. I кристаллическую субстанцию отождествлено как янтарную кислоту, II-же субстанция более активная в 3—4 раза, требует дальнейшей разработки.

THE ANTIBIOTIC ACTIVITY OF THE METABOLITES OF THE PUTREFACTIVE BACTERIUM GENUS *PROTEUS*

The following results have been obtained on studying the antibiotic activity of the metabolites of the putrefactive bacterium, isolated from the rotting onion and identified as biochemical a variant of *Proteus morgani*.

1. The bacterium shows antibiotic activity while grown on pepton and glucose. No antibiotic substances are produced on mineral medium with glucose.
2. Two antibiotic substances have been isolated: a colourless cristalline substance I, and a dark yellow liquid with a characteristic odour of lower fatty acids II.
3. The antibiotic activity of both substances has been proved on gram-positive, gram-negative and the acid-resistant bacteria.
4. Five gwinea pigs infected with *Mycobacterium tuberculosis* H₃₇Rv survived after intramuscularly application of substance I, while all the 7 control animals died after 107 days.
5. The cristalline substance I has been identified as succinic acid, substance II, 3—4 times more active than substance I, needs more study.

T R E Ś Ć

	str.
J. Szuleta. W sprawie centrosomów w <i>Caprifoliaceae</i>	1
P. Strebeyko. Energetyka fotosyntezy	4
H. Szwejkowski. O tzw. narządach „fagocytarnych“ <i>Dioctophyme renale</i> Goeze	24
Z. Kraczkiewicz. Studia nad chromosomami <i>Lasioptera rubi</i> Heeg. (<i>Cecidomyidae</i>)	58
P. Segal. Pomiarы względnej wielkości obrazów wzrokowych w równowzroczności	61
S. Chodkowska. Zmiany anatomo-patologiczne w przypadkach gruźlicy opon mózgowych leczonej streptomycyną	61
R. Serafin. Niektóre zespoły biochemiczne niedomogi przedniego płata przysadki u dzieci w świetle przypadków własnych	61
J. Czekanowski. Crania Africana	61
M. Gieysztor i K. Tarwid. Polska geografia zoologiczna okresu międzywojennego	61
M. Gedroyć. Antybiotyczne i uodporniające właściwości wolnożyjących pierwotniaków. Badania nad zarazkiem wściekliczny	62
M. Fiuczek. O działaniu antybiotycznym metabolitów bakterii gnilnej, bezsporoowej, rodzaju <i>Proteus</i>	93

C O D E R Ж А Н И Е

	стр.
П. Стребейко. Энергетика фотосинтеза	17
Г. Швейковский. О так называемых „фагоцитарных“ органах у <i>Dioctophyme renale</i> Goeze	50
М. Гедройць. Антибиотические и бактериостатические свойства свободно живущих простейших. (Проблема антибиотиков и ius prioritatis)	79
М. Фиучек. Антибиотические действия метаболитов гнилостной бактерии рода <i>Proteus</i>	112

S U M M A R Y

	p.
P. Strebeyko. The energetics of photosynthesis	20
H. Szwejkowski. About so called „Phagocytic organs“ in <i>Dioctophyme renale</i> Goeze	54
M. Gedroyć. The antibiotic and immunizing properties of free living Protozoa. (The problem of antibiotics and the ius prioritatis)	86
M. Fiuczek. The antibiotic activity of the metabolites of the putrefactive bacterium genus <i>Proteus</i>	113

TABLE 1

Year	Number of cases	Percentage
1990	10	10.0
1991	15	15.0
1992	20	20.0
1993	25	25.0
1994	30	30.0
1995	35	35.0
1996	40	40.0
1997	45	45.0
1998	50	50.0
1999	55	55.0
2000	60	60.0
2001	65	65.0
2002	70	70.0
2003	75	75.0
2004	80	80.0
2005	85	85.0
2006	90	90.0
2007	95	95.0
2008	100	100.0
2009	105	105.0
2010	110	110.0
2011	115	115.0
2012	120	120.0
2013	125	125.0
2014	130	130.0
2015	135	135.0
2016	140	140.0
2017	145	145.0
2018	150	150.0
2019	155	155.0
2020	160	160.0
2021	165	165.0
2022	170	170.0
2023	175	175.0
2024	180	180.0
2025	185	185.0
2026	190	190.0
2027	195	195.0
2028	200	200.0
2029	205	205.0
2030	210	210.0

Cena zł 9.—