

31
35

1324

Коп. м

К

С. В. Коршунъ.

(Изъ института экспериментальной терапіи проф. Эрлиха во Франкфуртъ на Майнъ и бактериологическаго института Харьковскаго Медицинскаго Общества).

О БЮХИМИЧЕСКОЙ СВЯЗИ

МЕЖДУ

ТОКСИНАМИ И ЭНЗИМАМИ

(примѣнительно къ теоріи Эрлиха).



750

ХАРЬКОВЪ.

Паровая Типографія и Литографія М. Зильбербергъ и С-вья.

Рыбная улица, домъ № 30-й.

1903.



Копм 1324

21/35

С. В. Коршунъ.

(Изъ института экспериментальной терапіи проф. Эрлиха со Франкфуртъ на Майнъ и бактериологическаго института Харьковскаго Медицинскаго Общества).

7 - НОЯ 2012

616-093 : 577.15

К-70

О БЮХИМИЧЕСКОЙ СВЯЗИ

МЕЖДУ

ТОКСИНАМИ И ЭНЗИМАМИ

N12517

1947

(примѣнительно къ теоріи Эрлиха).

НАУЧНАЯ БИБЛИОТЕКА
1-го Харьк. Мед. Института

Диссерт.

Н. С. БОКАРИУС.



ХАРЬКОВЪ. 1215.
Паровая Типографія и Литографія М. Зильбербергъ и С-вья.
Рыбная улица, домъ № 30-й.
1903.



перечет
1966 г.

1950

Переучет-60

7 - НОЯ 2012

Дозволено цензурою. Харьковъ, 29-го Марта 1903 года.

Отдѣльные оттиски изъ „Трудовъ Харьковскаго Медицинскаго Общества“.

Положенія къ диссертациі

С. В. Коршуна.

1. Безуспѣшность леченія бактерицидными сыворотками зависитъ главнымъ образомъ отъ недостатка подходящихъ комплементовъ въ крови человѣка.

2. При иммунизациі животныхъ съ цѣлью полученія лечебныхъ сыворотокъ слѣдуетъ старательно избѣгать значительныхъ общихъ и мѣстныхъ болѣзненныхъ разстройствъ, предпочитая частыя впрыскиванія умеренныхъ дозъ токсина и бактерійныхъ культуръ большимъ количествамъ послѣднихъ, впрыскиваемымъ сравнительно рѣже.

3. Желательно учрежденіе правительственнаго контроля надъ достоинствомъ сыворотокъ, примѣняемыхъ съ лечебной цѣлью въ предѣлахъ Россіи. Этотъ контроль долженъ быть порученъ учрежденію, при которомъ не производится приготовления лечебныхъ сыворотокъ и во главѣ котораго поставлено компетентное лицо съ бактериологическимъ образованіемъ.

4. Новый способъ Ehrlich'a опредѣленія силы противодифтерійной сыворотки заслуживаетъ предпочтенія предъ всѣми остальными.

5. Бактеріологическое изслѣдованіе имѣетъ громадное значеніе въ ряду мѣръ, направленныхъ противъ распространенія дифтеріи.

6. При дѣтскихъ больницахъ должно быть устроено отдѣленіе для выздоравливающихъ, откуда пациенты могутъ быть выписываемы лишь по исчезновеніи дифтерійныхъ бациллъ изъ зѣва.

7. Вопросъ объ идентичности стрептококковъ при различныхъ заболѣваніяхъ долженъ быть рѣшенъ на основаніи новѣйшихъ экспериментальныхъ данныхъ въ отрицательномъ смыслѣ.

На основаніи опредѣленія Медицинскаго Факультета 21-го Апрѣля 1903 года печатать разрѣшается.

Деканъ факультета М. Ломиковскій.

Харьковъ. Типографія и Литографія М. Зильбербергъ и С-вья.

ОГЛАВЛЕНІЕ.

Стр.

Глава I. Сущность взаимодействія между токсинами и антитоксинами. Спектръ дифтерійнаго яда по Ehrlich'y. Строеніе частицы токсиновъ по Ehrlich'y.	5
Глава II. Происхожденіе антитоксиновъ и другихъ анти-тѣлъ въ кровяныхъ сывороткахъ по Ehrlich'y. Способъ дѣйствія токсиновъ въ связи съ ученіемъ Ehrlich'a о рецепторахъ (теорія „боковыхъ цѣпей“). Преципитины. Бактерицидныя, гемолитическія и цитотоксическія сыворотки; способъ ихъ дѣйствія по Ehrlich'y. Гемо- и бактерио-агглютинины. Анти-антитѣла. Токсины и энзимы	24
Глава III. На чемъ основана способность лошадиной сыворотки задерживать створаживаніе молока подъ влияніемъ сычужнаго фермента: на присутствіи въ ней специфическаго антитѣла или же на связы-ванні ею солей кальція	57
Глава IV. Полученіе „анти-антиляба“ посредствомъ имму-низации	70
Глава V. О второмъ факторѣ лошадиной кровяной сыво-ротки, задерживающемъ дѣйствіе сычужнаго фер-мента на молоко. (Псевдо-антилябъ)	77
Глава VI. О строеніи частицы сычужнаго фермента	94

ЗАМѢЧЕННЫЯ ОПЕЧАТКИ.

Написано.	Слѣдуетъ читать.
Стр. 7, строка 1 сверху которое нужно	которые нужны
Стр. 18, строка 12 сверху погибаетъ	погибнетъ
Стр. 36, строка 18 сверху молекулу пепсина	молекулу пепсина“
Стр. 63, строка 7 снизу ни	не

О біохимической связи между токсинами и энзимами

(примѣнительно къ теоріи Эрлиха).

Спеціально подѣ токсинами понимаютъ въ настоящее время специфическіе микробные яды, вызывающіе определенное специфическое заболѣваніе. Они суть истинные продукты жизнедѣятельности микробовъ, выделяемые послѣдними въ окружающую среду. (Buchner) ²⁴.

Однако бываютъ и такіе токсины, которые остаются постоянно тѣсно связанными съ протоплазмой и появляются въ свободномъ состояніи лишь послѣ распада тѣла бактерий (*b. typhi*, *v. cholerae*). Въ этомъ отношеніи токсины вполне сходны съ энзимами, которые также продуцируются живыми клѣтками въ свободномъ состояніи (пепсинъ, трипсинъ и т. д.) или же остаются прочно связанными съ клѣточной протоплазмой (дрожжи).

Токсины играютъ громадную роль въ патологіи: въ послѣднее же время они получили важное практическое значеніе, благодаря своей способности вызывать въ организмѣ животнаго образованіе специфическихъ антитоксиновъ. На этомъ свойствѣ токсиновъ основана серотерапія, давшая намъ могучее средство для борьбы со страшнымъ бичемъ человѣчества—инфекционными болѣзнями. Отсюда понятенъ тотъ интересъ, который представляетъ изученіе токсиновъ. Къ сожалѣнію, однако, въ этомъ направленіи сдѣлано пока очень мало, такъ какъ большая чувствительность токсиновъ

ко всевозможнымъ внѣшнимъ факторамъ (термическимъ и химическимъ) лишаетъ насъ возможности имѣть ихъ въ чистомъ видѣ.

Такимъ образомъ, мы не имѣемъ никакого представленія о химическомъ строеніи токсиновъ, не знаемъ даже принадлежатъ они къ бѣлковымъ веществамъ или нѣтъ. Единственный путь, который остается намъ при изученіи токсиновъ,—это методъ біологическаго изслѣдованія. И дѣйствительно, все, что мы знаемъ о токсинахъ, добыто лишь такимъ путемъ.

Но и здѣсь мы встрѣчаемъ большія затрудненія, такъ какъ приходится имѣть дѣло со сложнымъ животнымъ организмомъ, гдѣ мы не можемъ создать условія опыта по своему усмотрѣнію. Поэтому рано явились попытки при изученіи свойствъ и способа дѣйствія токсиновъ обойтись безъ организма животныхъ. Первые попытки въ этомъ направленіи принадлежатъ Эрлиху и его ученику Madsen'у.

Тѣ же соображенія побудили и меня обратиться къ энзимамъ, пользуясь планомъ и методомъ, выработаннымъ Эрлихомъ для токсиновъ. Въ энзимахъ мы имѣемъ вещества, которыя по своимъ свойствамъ и происхожденію не только аналогичны, но даже прямо родственны токсинамъ. Въ то же время энзимы имѣютъ объектомъ своего дѣйствія мертвый субстратъ, почему мы можемъ изучать дѣйствіе ихъ въ пробиркѣ, обходясь такимъ образомъ безъ организма животнаго.

Выясненіе сущности взаимодѣйствія между сычужнымъ ферментомъ и его антиферментомъ, равно какъ вопросъ о строеніи частицы сычужнаго фермента, сдѣлались предметомъ моего настоящаго изслѣдованія.

Вторая часть моей работы, касающаяся строенія частицы энзима, представила мнѣ чрезвычайныя трудности, которыя, главнымъ образомъ, зависѣли отъ крайней нестойкости сычужнаго фермента. Однако, несмотря на всю трудность работы съ сычужнымъ ферментомъ, я остановился именно на немъ, такъ какъ мы имѣемъ пока только для него

одного простой и весьма чувствительный способъ (Morgenroth'a) количественнаго опредѣленія ферментативнаго дѣйствія. Кромѣ того въ нормальной кровяной сывороткѣ лошади я могъ безъ труда имѣть въ любомъ количествѣ специфическое антитѣло.

Эта работа была начата въ институтѣ экспериментальной терапіи проф. Ehrlich'a во Франкфуртѣ на Майнѣ, а окончена въ бактериологическомъ институтѣ Харьковского Медицинскаго Общества.

Считаю долгомъ выразить свое чувство признательности Харьковскому Медицинскому Обществу, которое дало мнѣ средства для занятій въ одной изъ лучшихъ лабораторій Европы, а также постановило напечатать мою работу въ своихъ „Трудахъ“.

ГЛАВА I.

Сущность взаимодействия между токсинами и антитоксинами. Спектр дифтерийного яда по Ehrlich'у. Строение частицы токсинов по Ehrlich'у.

Въ 1890 году Behring ⁵ обнаружилъ свое знаменитое открытіе, что кровяная сыворотка животныхъ, иммунизированныхъ ядомъ дифтеріи, обладаетъ лечебнымъ и предохранительнымъ дѣйствіемъ противъ зараженія дифтерійными бактеріями. Затѣмъ въ томъ же году Behring и Kitasato ⁶ показали, что кровяная сыворотка кролика, иммунизированнаго ядомъ тетануса, заключаетъ въ себѣ вещество, нейтрализующее тетаническій ядъ въ пробиркѣ. Если къ опредѣленному количеству яда, превышающему въ нѣсколько разъ смертельную дозу, прибавить достаточное количество иммунной сыворотки, то получается смѣсь совершенно индифферентная для животнаго.

Вскорѣ послѣ этого Эрлихъ ⁴⁵ получилъ аналогичные результаты, иммунизируя животныхъ рициномъ и абриномъ, а въ 1894 году Phisalix et Bertrand ¹²⁹ и, независимо отъ нихъ Calmette ^{28, 29, 30} нашли тоже самое по отношенію къ змѣиному яду.

Такимъ образомъ, было установлено, что не только токсины, но также растительные токсальбумины, какъ рицинъ, абринъ, и яды животнаго происхожденія, какъ змѣиный ядъ, способны при постепенномъ введеніи ихъ въ организмъ животнаго вызывать въ послѣднемъ образованіе специфическихъ тѣлъ, получившихъ названіе антитоксиновъ. Какъ выше было упомянуто, характернымъ признакомъ антитоксической сыворотки служить ея способность нейтрализовать, какъ въ организмѣ животнаго, такъ и въ пробиркѣ ядъ, употреблявшійся для иммунизации животнаго.

Въ чемъ же заключается сущность антитоксического дѣйствія иммунной сыворотки?

Первоначально Берингъ, а вмѣстѣ съ нимъ и Эрлихъ думали, что антитоксинъ, содержащійся въ сывороткѣ, непосредственно разрушаетъ токсинъ. Однако, накопившіеся постепенно факты заставили этихъ авторовъ существенно измѣнить свой взглядъ. Въ настоящее время Эрлихъ признаетъ, что антитоксинъ, благодаря своему сродству къ токсину, вступаетъ съ послѣднимъ въ химическое соединеніе, образуя индифферентное для организма тѣло. На этомъ свойствѣ, по его мнѣнію, основано нейтрализующее дѣйствіе антитоксина, какъ *in vitro*, такъ и *in vivo*. Къ этому взгляду Эрлиха присоединился Берингъ и большинство современныхъ нѣмецкихъ ученыхъ. Наоборотъ, другая группа авторовъ во главѣ съ Buchner'омъ и Roux утверждаютъ, что антитоксинъ дѣйствуетъ на токсинъ не непосредственно, а лишь косвенно, при участіи живыхъ клѣтокъ организма. Поэтому, если смѣшать въ пробиркѣ токсинъ и антитоксинъ, то оба они остаются въ смѣси въ неизмѣненномъ видѣ.

Мечниковъ,¹⁰³ считая мнѣніе Эрлиха доказаннымъ по отношенію къ дѣйствію антитоксина на токсинъ въ пробиркѣ, отказывается въ то же время признать, что тѣ же условія существуютъ и для дѣйствія антитоксина въ организмѣ животнаго.

Въ виду чрезвычайной важности вопроса о способѣ дѣйствія антитоксина на токсинъ для всего ученія Эрлиха объ иммунитѣ, я считаю нелишнимъ изложить здѣсь главные факты, приводимые различными авторами въ пользу того и другого изъ вышеупомянутыхъ мнѣній.

Buchner²³ нашелъ, что если приготовить въ пробиркѣ вполнѣ нейтральную для бѣлыхъ мышей смѣсь тетанического токсина съ антитоксиномъ, то такая, будучи впрыснута подъ кожу морскимъ свинкамъ, вызываетъ у послѣднихъ типичную картину болѣе или менѣе тяжелаго тетануса.

При этомъ, несмотря на присутствіе антитоксина, для морскихъ свинокъ достаточно тѣхъ же количествъ токсина,

вычисленнаго на кило вѣса, которое нужно для полученія того же эффекта у бѣлыхъ мышей.

Roux и Veillard¹³¹ подтвердили опыты Buchner'a и кромѣ того показали, что смѣсь тетанического токсина и специфической сыворотки, индифферентная для нормальныхъ свинокъ, способна вызвать болѣзненные явленія у такихъ, которымъ раньше было впрыснуть вибрионъ Массовы.

Далѣе тѣ же авторы впрыскивали очень большое количество антитоксической сыворотки, значительно превышающее то, которое достаточно для предохраненія животныхъ отъ отравленія токсиномъ, съ одной стороны нормальнымъ свинкамъ, а съ другой такимъ, которыя раньше были заражены различными микробными культурами, но которыя ко времени опыта совершенно оправились. Если затѣмъ, немного спустя, животныя получали подъ кожу смертельную дозу тетанического токсина, то нормальныя свинки оставались совершенно здоровыми, тогда какъ у вторыхъ развивалась типичная картина тетануса.

Аналогичные факты Roux и Veillard наблюдали со смѣсью дифтерійнаго токсина и антитоксина.

Въ 1895 году Calmette³¹ опубликовалъ опыты съ ядомъ гремучей змѣи и его антитоксиномъ. Онъ показалъ, что змѣиный ядъ, находившійся въ его распоряженіи, обладалъ значительной теплостойкостью, выдерживая безъ ослабѣванія 10-ти минутное нагреваніе при 68°, тогда какъ антитоксическое дѣйствіе сыворотки при этихъ условіяхъ совершенно уничтожалось. Затѣмъ Calmette приготовлялъ такую смѣсь змѣиного яда и антитоксической сыворотки, которая при подкожномъ впрыскиваніи не вызывала у кроликовъ никакихъ болѣзненныхъ явленій. Если же эта смѣсь нагревалась 10 минутъ при 68° С., то она снова пріобрѣтала ядовитыя свойства и кроликъ погибалъ чрезъ нѣсколько часовъ.

Отсюда Calmette заключаетъ, что антитоксинъ дѣйствуетъ на змѣиный ядъ только въ организмѣ животнаго и что поэтому не можетъ быть и рѣчи о химическомъ воздѣйствіи между токсинами и антитоксинами.

Wasserman¹⁴⁴ нашелъ, что токсинъ *b. pyocyaneus* не разрушается даже при кипяченіи, въ то время какъ антитоксинъ, образующійся въ сывороткѣ животныхъ при иммунизации, вполне разрушается при тѣхъ же условіяхъ.

Опредѣливъ количество иммунной сыворотки, потребное для нейтрализаціи въ пробиркѣ даннаго количества токсина *b. pyocyanei*, онъ приготовлялъ соотвѣтственную смѣсь и доводилъ ее до кипѣнія.

Животныя, получавшія нагрѣтую смѣсь, погибали, а ненагрѣтую оставались живыми. На основаніи этихъ опытовъ Вассерманъ¹⁴⁴ приходитъ къ тому же выводу, что и Calmette, т. е. онъ отрицаетъ химическое взаимодействіе между токсиномъ и антитоксиномъ въ пробиркѣ.

Никопоровъ¹⁴⁹ нашелъ, что помощью 10% раствора уксуснокислой мѣди можно изъ индифферентной смѣси токсина съ антитоксиномъ получить осадокъ, обладающій антитоксическими свойствами.

Marenghi⁹⁵ сдѣлалъ наблюденія, аналогичныя Calmette и Wasserman'у. Онъ приготовлялъ смѣсь дифтерійнаго токсина и антитоксина, индифферентную для животныхъ, и подвергалъ ее нагрѣванію выше 60°. При этихъ условіяхъ токсинъ разрушался и смѣсь получала антитоксическія свойства, которыя можно было снова нейтрализовать новыми порціями токсина. Вотъ главные факты, говорящіе противъ прямого дѣйствія антитоксиновъ на токсины въ пробиркѣ. Посмотримъ насколько они доказательны.

Что касается опытовъ Buchner'a и Roux, то ихъ доказательность подрывается тѣмъ соображеніемъ, что авторы могли имѣть въ своемъ распоряженіи не вполне нейтральную смѣсь токсина и антитоксина. Избытокъ перваго недостаточный для того, чтобы быть обнаруженнымъ на менѣе воспріимчивыхъ бѣлыхъ мышахъ, оказывалъ свое дѣйствіе на болѣе чувствительныхъ морскихъ свинокъ или же на животныхъ, сдѣлавшихся болѣе воспріимчивыми, благодаря предварительнымъ впрыскиваніямъ микробныхъ продуктовъ. Последнее допускается самимъ Roux, который въ одной изъ

своихъ работъ объясняетъ наблюдаемую иногда чрезвычайную воспріимчивость лошадей къ дифтерійному токсину перенесеніемъ ими ранѣ какой нибудь инфекціонной болѣзни.

Опыты Calmette, Marenghi и особенно Вассермана не могутъ служить доказательствомъ противъ химическаго взаимодействія между токсиномъ и антитоксиномъ, такъ какъ извѣстно, что высокая t^0 сама по себѣ является факторомъ, способнымъ разрушить въ нѣкоторыхъ случаяхъ истинныя химическія соединенія.

Кромѣ того, Martin и Cherry⁹⁸ вполне заслуженно посылаютъ по адресу всѣхъ вышеупомянутыхъ авторовъ тотъ упрекъ, что въ ихъ опытахъ были упущены изъ вниманія такіе факторы, какъ время, температура и концентрація взаимодействующихъ тѣлъ, т. е. факторы, которые имѣютъ преимущественное значеніе на ходъ химическихъ процессовъ.

Дѣйствительно, Эрлихъ и Кноррь^{*)} показали, что 1) антитоксинъ нейтрализуетъ токсинъ въ слабыхъ растворахъ медленно, чѣмъ въ концентрированныхъ и что 2) низкая t^0 замедляетъ, а болѣе высокая ускоряетъ нейтрализацію токсина антитоксиномъ.

Что касается вліянія времени, то въ этомъ отношеніи особенно интересны результаты, добытые Martin и Cherry, къ работѣ которыхъ мы еще вернемся ниже.

Очень важнымъ доводомъ въ пользу „химическаго“ взгляда на взаимодействіе токсиновъ и антитоксиновъ служитъ „Gesetz der Multiplum“, законъ прямой пропорціональности, установленной Эрлихомъ⁴⁵ еще въ 1891 году при его изслѣдованіяхъ о *ricin'ѣ* и *abrin'ѣ*. Онъ заключается въ томъ, что для нейтрализаціи удвоеннаго, утроеннаго и т. д. количества токсина потребно всегда соотвѣтственно удвоенное, утроенное и т. д. количество антитоксина.

Если, положимъ, для нейтрализаціи X количества токсина нужно количество антитоксина, которое мы примемъ за

*) Knorr. Das Tetanusgift und seine Beziehungen zum tierischen Organismus. Münch. med. Woch. 1898. p. 321.

единицу, то для нейтрализаціи $\frac{1}{4}X$, $\frac{1}{2}X$, $2X-3X$ и т. д. нужно $\frac{1}{4}$ единицы $\frac{1}{2}$, $2-3$ и т. д. единицъ антитоксина.

Изъ экспериментальныхъ данныхъ, подтверждающихъ прямое дѣйствіе антитоксина на токсинъ по типу химическихъ соединеній я укажу на слѣдующія.

Еще Denys и von de Velde ^{36, 37} показали, что сыворотка животныхъ, иммунизированныхъ противъ стафилококка, способна нейтрализовать *in vitro* т. е. безъ участія живыхъ клѣтокъ, своеобразный токсинъ, вырабатываемый стафилококкомъ, который von de Velde называетъ leucocidine. Этотъ токсинъ, будучи прибавленъ къ экссудату, богатому лейкоцитами, растворяетъ въ короткое время протоплазму бѣлыхъ кровяныхъ шариковъ, щадя ихъ ядро.

Когда же вышеупомянутые авторы приготавливали въ пробиркѣ смѣсь изъ лейкоцидина и антилейкоцидической сыворотки, то бѣлые кровяные шарики оставались неизмѣненными втеченіе продолжительнаго времени.

Эти факты были подтверждены Bail'емъ,³ Георгіевскимъ⁶⁸, Neisser'омъ и Wechsberg'омъ¹¹⁶.

Вскорѣ послѣ открытія антилейкоцидина Denys и von de Velde Konthack ⁷⁶ демонстрировали въ физиологическомъ Обществѣ въ Лондонѣ трубочки, въ которыхъ створаживающее кровь дѣйствіе яда змѣи кобры было задержано специфической противоядной сывороткой.

Эрлихъ⁴⁷ еще болѣе наглядно показалъ, что антитоксины способны нейтрализовать дѣйствіе токсиновъ внѣ организма, безъ всякаго участія живыхъ клѣтокъ.

Для этого Эрлихъ воспользовался открытымъ Kobbert'омъ свойствомъ ricin'a агглютинировать красные шарики дефибринированной крови *in vitro*. Если въ пробирку, содержащую красные кровяные шарики, прибавить определенное количество раствора ricin'a, то послѣдніе собираются въ комочки, которые затѣмъ садятся на дно сосуда, а жидкость надъ ними проясняется. Можно опредѣлить минимальное количество даннаго раствора ricin'a необходимое для полной агглютинаціи опредѣленнаго количества кровяныхъ шариковъ.

Это дѣлается такимъ образомъ, что въ рядъ пробирокъ, содержащихъ убывающее количество раствора рицина, прибавляются по равному количеству красные кровяные шарики, напр., по 1 каплѣ цѣльной дефибринированной крови или по 1 к. с. 5% эмульсіи изъ красныхъ кровяныхъ шариковъ въ физиологическомъ растворѣ поваренной соли. Если послѣ тщательнаго взбалтыванія оставить пробирки на нѣкоторое время въ спокойномъ состояніи, то можно наблюдать, какъ постепенно проясняется ихъ содержимое вслѣдствіе того, что красныя кровяныя тѣльца склеиваются между собою въ комочки и въ такомъ видѣ осѣдаютъ на дно. Реакція значительно ускоряется, если пробирки помѣстить при 37—40° С. Спустя нѣкоторое время, видно, что въ пробиркахъ съ большимъ количествомъ ricin'a наступило полное осѣданіе красныхъ кровяныхъ тѣлецъ, которыя при взбалтываніи поднимаются со дна сосуда въ видѣ болѣе или менѣе крупныхъ комочковъ, быстро осѣдающихъ снова, если пробирку оставить въ спокойномъ состояніи. Въ пробиркахъ съ меньшимъ содержаніемъ ricin'a наблюдается частичная агглютинація, т. е. часть кровяныхъ шариковъ осѣла на дно въ видѣ комочковъ, тогда какъ другая, болѣе или менѣе значительная, осталась во взвѣшенномъ состояніи. Наконецъ, въ послѣднихъ пробиркахъ съ наименьшимъ содержаніемъ рицина не наблюдается и слѣдовъ агглютинаціи.

Если же въ пробирки, содержащія определенное количество рицина прибавлять возрастающее количество антирициновой сыворотки и затѣмъ красные кровяные шарики, то замѣчается сначала замедленіе агглютинаціи, и, наконецъ, при достаточномъ количествѣ сыворотки полное прекращеніе ея.

При этихъ опытахъ Эрлихъ нашелъ, что для нейтрализаціи ядовитаго дѣйствія рицина на организмъ животного нужно смѣшивать его съ антирициновой сывороткой въ тѣхъ же количественныхъ отношеніяхъ, какъ и для нейтрализаціи агглютинирующаго дѣйствія рицина на красные кровяные шарики въ пробиркѣ.

То же самое нашелъ позже Kossel⁸⁰, иммунизируя животныхъ сывороткой угря. Онъ доказалъ: 1) что приготовленная имъ антитоксическая сыворотка обладаетъ способностью нейтрализовать въ пробиркѣ гемолитическое дѣйствіе сыворотки угря и 2) ядовитое дѣйствіе сыворотки угря на организмъ животного уничтожается при смѣшиваніи ея съ антитоксической сывороткой въ тѣхъ же количественныхъ отношеніяхъ, которыя нужны для нейтрализаціи ея гемолитическаго дѣйствія въ пробиркѣ. Martin и Cherry⁹⁸ представили новыя экспериментальныя доказательства въ пользу того, что антитоксины дѣйствуютъ на токсины непосредственно безъ участія жизненныхъ процессовъ организма. При этомъ они пользовались чисто физическимъ методомъ изслѣдованія, заключающимся въ слѣдующемъ.

Еще въ 1896 году одинъ изъ авторовъ нашелъ, что посредствомъ фильтрованія чрезъ фарфоровыя свѣчи можно раздѣлить одно отъ другого два вещества, находящіяся въ растворѣ и отличающіяся другъ отъ друга различной величиной своихъ молекулъ. Фильтрованіе производится подъ давленіемъ въ 50 атмосферъ чрезъ Chamberland'овскія свѣчи, пропитанныя желатиной.

Авторы убѣдились, что при этихъ условіяхъ дифтерійный токсинъ проходитъ чрезъ свѣчу, претерпѣвая лишь ничтожное ослабленіе, тогда какъ дифтерійный антитоксинъ не проходитъ совсѣмъ.

Затѣмъ они приготовляли растворъ дифтерійнаго токсина, который содержалъ въ 1 к. с. 8 смертельныхъ дозъ токсина для килограмма вѣса морской свинки. Къ этому раствору они прибавляли антитоксической сыворотки въ такомъ количествѣ, чтобы въ смѣси получился нѣкоторый избытокъ антитоксина.

Эта смѣсь помѣщалась на два часа при 30° С и затѣмъ фильтровалась указаннымъ способомъ чрезъ желатиновый фильтръ. Оказалось, что фильтратъ, вырынутый морскимъ свинкамъ въ количествѣ до 4 к. с. на килограммъ вѣса (слѣдовательно 36 смертельныхъ дозъ), не вызывалъ у животныхъ ни малѣйшихъ болѣзненныхъ разстройствъ.

Конечно, если бы въ смѣси съ антитоксиномъ токсинъ находился въ свободномъ состояніи, то онъ прошелъ бы чрезъ фильтръ благодаря меньшему объему своихъ частицъ и, такимъ образомъ, былъ бы отдѣленъ отъ антитоксина. Но такъ какъ этого не произошло, то авторы заключаютъ, что здѣсь дѣло идетъ о прочномъ соединеніи между обѣими составными частями раствора.

Далѣе Martin и Cherry, повторивъ опыты съ нагрѣваніемъ индифферентной смѣси змѣйнаго яда и специфической антитоксической сыворотки, получили результаты совершенно противоположныя Calmette. Выясняя причину противорѣчія своихъ опытовъ съ опытами Calmette, авторы нашли, что результаты опытовъ бываютъ весьма различны и даже противоположны въ зависимости отъ измѣненія условій, при которыхъ происходитъ взаимодѣйствіе между токсиномъ и антитоксиномъ, со стороны температуры, времени и количественныхъ отношеній взаимодействующихъ тѣлъ.

Слѣдующая таблица всего лучше иллюстрируетъ сказанное. Въ этомъ опытѣ температура оставалась постоянной (20—23° С.) и измѣнялось время и количественныя отношенія взаимодействующихъ тѣлъ (змѣйнаго яда, т. е. токсина и антитоксина).

Количество токсина и антитоксина на кило вѣса		Контроль чистый змѣиный ядъ	Время взаимодѣйствія между токсиномъ и антитоксиномъ. Температура 20—23° С.					
Анти-токсинъ.	Токсинъ.		2 минут.	5 минут.	10 минут.	15 минут.	30 минут.	Ненагрѣтая смѣсь вырынутая чрезъ 8 минутъ.
1 куб. с.	2 смерт. дозы.	Смерть черезъ 15 час.	Сильно болѣлъ 2 дня.	Болѣлъ 1 день.	Здоровъ	Здоровъ	Здоровъ	Здоровъ
1 куб. с.	3 смерт. дозы.	Смерть черезъ 12 час.	Смерть черезъ 20 час.	Смерть черезъ 28 час.	Болѣлъ 2 дня	Болѣлъ 1 день	Здоровъ	Здоровъ
1 куб. с.	4 смерт. дозы.	Смерть черезъ 9 час.	Смерть черезъ 13 час.	Смерть черезъ 15 час.	Смерть черезъ 23 час.	Сильно болѣлъ 2 дня	Здоровъ	Здоровъ

Постановка опыта была слѣдующая. Змѣиный ядъ и антитоксическая сыворотка смѣшивались въ указанныхъ въ таблицѣ пропорціяхъ. Черезъ различные промежутки времени пипеткой бралось нѣкоторое количество смѣси, которое быстро нагрѣвалось на водяной банѣ до 68° С. Послѣ 10 минутнаго нагрѣванія жидкость охлаждалась и впрыскивалась животному. Черная линія въ таблицѣ ограничиваетъ умершихъ животныхъ отъ оставшихся въ живыхъ.

Изъ этого опыта видно, что прочное соединеніе ток-сина съ антитоксиномъ наступало лишь черезъ 30 минутъ, хотя въ ненагрѣтой смѣси нельзя было открыть свободного ток-сина уже черезъ 8 минутъ послѣ ея приготовленія.

Намъ кажется, что это явленіе должно быть объяснено такимъ образомъ, что хотя антитоксинъ уже очень скоро—черезъ нѣсколько минутъ—вступаетъ въ соединеніе съ ток-синомъ, но связь между ними вначалѣ бываетъ весьма непрочная и легко нарушается подъ вліяніемъ высокой температуры.

Этимъ мы заканчиваемъ обзоръ литературы, посвященной вопросу о сущности взаимодѣйствія между токсиномъ и антитоксиномъ. Намъ кажется несомнѣннымъ, что убѣдительность экспериментальныхъ данныхъ и сила доводовъ на сторонѣ защитниковъ химическаго соединенія токсиновъ съ антитоксинами.

Даже главный противникъ химической теоріи Эрлиха—Мечниковъ признаетъ этотъ фактъ при дѣйствіи антитоксиновъ на токсины внѣ организма—въ пробиркѣ. Всѣ возраженія его заключаются лишь въ отрицаніи подобнаго дѣйствія антитоксиновъ на токсины въ организмѣ животныхъ.

Изложеніе доводовъ Мечникова, на основаніи которыхъ онъ принимаетъ такую точку зрѣнія, завело бы насъ слишкомъ далеко въ сторону. Желаящимъ подробнѣе познакомиться съ этимъ вопросомъ мы укажемъ на прекрасныя монографіи Мечникова „L'Immunité dans les maladies infectieuses“ и Aschoff „Ehrlich's Seitenkettentheorie und ihre Anwendung auf die Künstlichen Immunisirungsprocesse“.

Мы же ограничимся замѣчаніемъ, что среди доводовъ Мечникова нѣтъ ни одного, который бы дѣйствительно противорѣчилъ химической теоріи Эрлиха и не могъ бы быть легко объяснимъ съ точки зрѣнія послѣдняго.

Факты, добытые позднѣе при изученіи гемолизиновъ и антиферментовъ, послужили дальнѣйшимъ подтвержденіемъ химической теоріи Эрлиха. Но объ этомъ позже.

Теперь же я перехожу къ ученію Эрлиха^{46 и 49} о токсинахъ и о строеніи дифтерійнаго яда, послужившихъ дальнѣйшимъ шагомъ къ уясненію сущности взаимодѣйствія между токсинами и антитоксинами. На немъ я останавлиюсь нѣсколько подробнѣе, такъ какъ оно послужило фундаментомъ, на которомъ Эрлихъ воздвигъ свою теорію естественнаго и искусственнаго иммунитета, занимающую столь выдающееся положеніе въ современной біологіи.

Я начну съ условныхъ обозначеній и терминовъ, которыми я буду пользоваться при дальнѣйшемъ изложеніи.

Простой или минимальной смертельной дозой дифтерійнаго яда Эрлихъ называетъ такую, которая при подкожномъ впрыскиваніи убиваетъ всякую безъ исключенія морскую свинку вѣсомъ въ 250 граммъ на 4—5 день. Эта доза иногда можетъ убивать особенно чувствительныхъ животныхъ черезъ 36—48 час.

Однократною (einfach) антитоксическою сывороткой по Берингу называется такая, которая въ количествѣ 0,1 к. с. вполне нейтрализуетъ 10 простыхъ смертельныхъ дозъ ток-сина. По предложенію Bhering'a условились принимать, что 1 к. с. такой сыворотки заключаетъ въ себѣ 1 иммунизирующую единицу, (Immunitätseinheit) антитоксина. Слѣдовательно, 1 иммунизирующая единица антитоксина, которую для краткости принято обозначать I. E., нейтрализуетъ 100 простыхъ смертельныхъ дозъ дифтерійнаго яда.

Для характеристики дѣйствія дифтерійнаго ток-сина Эрлихъ предлагаетъ опредѣлять 2 дозы его. Первая, которую онъ называетъ L₀ (limes нуль), представляетъ дозу яда, которая точно нейтрализуется сывороткой, такъ что въ смѣси

не остается ни одного свободного элемента ни токсина, ни антитоксина. Эта смесь совершенно нейтральна для животного и, будучи впрыснута под кожу морской свинки весомъ въ 250 граммъ, не вызываетъ у нея ни мѣстныхъ, ни общихъ разстройствъ.

Вторая доза дифтерійнаго яда $L +$ (limes смертъ) убиваетъ въ смеси съ I. E. свинку, весомъ въ 250 граммъ въ 4—5 дней.

Слѣдовательно, въ смеси $L + 1$ I. E. токсиномъ связаны всѣ элементы антитоксина и кромѣ того остается свободной 1 простая смертельная доза токсина.

Величину L_0 и $L +$ можно выразить посредствомъ числа заключающихся въ нихъ простыхъ смертельныхъ дозъ.

Въ дальнѣйшемъ изложеніи мы, по примѣру Madsen'a, будемъ обозначать простую смертельную дозу дифтерійнаго яда (T).

Разницу между числомъ смертельныхъ дозъ въ $L +$ и L_0 , т. е. $L + - L_0$, Эрлихъ обозначаетъ буквою D.

Для избѣжанія путаницы понятій мы будемъ называть дифтерійнымъ токсиномъ специфическое ядовитое начало дифтерійныхъ бациллъ въ неизмѣненномъ состояніи, т. е. не превращенное въ токсиды (см. ниже), и дифтерійнымъ ядомъ—жидкость, обыкновенно питательный бульонъ, который содержитъ въ растворѣ, какъ токсинъ въ собственномъ смыслѣ, такъ и его производныя и другіе продукты жизнедѣятельности дифтерійныхъ бациллъ.

Послѣ этихъ общихъ замѣчаній я могу перейти къ дальнѣйшему изложенію.

Еще при своихъ работахъ съ ядомъ тетануса въ 1893 г. Эрлихъ⁵⁰ могъ замѣтить, что нейтрализующая способность яда по отношенію къ антитоксину и его абсолютная токсичность не стоятъ между собою въ прямой связи. Посредствомъ обработки сѣрнымъ углеродомъ бульона, содержащаго въ себѣ тетаническій токсинъ, Эрлихъ могъ сравнительно быстро обезвредить его настолько, что бѣлыя мыши переносили безъ замѣтнаго вреда подкожныя впрыскиванія

по 0,5—1,0 к. с. Тѣмъ не менѣе такія мыши уже на 8 день послѣ впрыскиванія приобрѣтали прочный иммунитетъ.

Далѣе Эрлихъ и Hübener⁵¹ показали, что ядъ тетануса, ослабленный указаннымъ способомъ, сохраняетъ свою способность связывать антитоксины, какъ въ пробиркѣ, такъ и въ организмѣ животного. Тогда еще, по словамъ Эрлиха, у него являлась мысль о существованіи неядовитой, но обладающей специфической связывающей способностью по отношенію къ антитоксину разновидности токсина.

Позднѣйшіе опыты съ различными дифтерійными ядами^{46, 93} вполне подтвердили его предположеніе. Именно, прямой связи между „токсичностью“ и нейтрализующей способностью дифтерійнаго яда не оказалось и здѣсь.

Такъ, у дифтерійныхъ ядовъ различнаго происхожденія количество простыхъ смертельныхъ дозъ въ L_0 колебалось между 20 и 120. Особенно же интересно слѣдующее наблюденіе Эрлиха.

Для одного свѣжаго дифтерійнаго яда, приготовленнаго обычнымъ способомъ изъ 22-хъ дневной бульонной культуры, онъ опредѣлилъ $L_0 = 0,31$ к. с.

Простая же смертельная доза (T) этого яда равнялась 0,003 к. с., слѣдовательно, L_0 —доза заключала въ себѣ ровно 100 простыхъ смертельныхъ дозъ. Когда же этотъ ядъ былъ изслѣдованъ Эрлихомъ спустя $\frac{3}{4}$ года, то простая смертельная доза его была опредѣлена равной 0,009, т. е. ослабѣвшей въ 3 раза, а L_0 осталась безъ измѣненія. Такимъ образомъ, $\frac{2}{3}$ токсиновъ превратились въ неядовитый продуктъ „токсиды“, какъ назвалъ ихъ Эрлихъ, которые въ полной мѣрѣ удержали свою способность связывать антитоксины.

Эти опыты и соображенія привели Эрлиха къ заключенію, что бактерійные токсины имѣютъ двѣ различно функционирующія атомныя группы: 1) гаптофорную, имѣющую специфическое сродство къ антитоксину, и 2) токсифорную—носительницу собственно ядовитаго дѣйствія. Первая группа болѣе устойчива по отношенію къ различнымъ физическимъ

64657 15969

и химическимъ факторамъ и можетъ существовать самостоятельно послѣ того, какъ вторая, менѣе устойчивая, разрушена.

Мы видѣли, какъ опредѣляется L_0 доза какого либо дифтерійнаго яда, и знаемъ, что $L_0 + 1$ I. E. (такъ наз. L_0 —смѣсь) представляетъ изъ себя такую смѣсь, гдѣ всѣ единицы антитоксина насыщены элементами токсина или его производныхъ—токсоидовъ—въ такой мѣрѣ, что въ ней не остается ни тѣхъ, ни другихъ въ свободномъ состояніи. Слѣдовало бы ожидать, что если къ L_0 смѣси (т. е. L_0 доза яда + 1 I. E.) прибавить одну простую смертельную дозу яда, то животное, получившее эту новую смѣсь, погибаетъ на 4—5 день. Однако этого обыкновенно не бываетъ, но, чтобы животное дѣйствительно погибло въ указанный срокъ, нужно прибавить къ L_0 смѣси значительно большее количество дифтерійнаго яда. Такимъ образомъ, $(L_+ - L_0) = D$ никогда не равняется 1 (Т).

Только однажды Эрлихъ нашелъ $D = 1,7$, обыкновенно же оно колебалось между 5—10, восходя въ отдѣльныхъ случаяхъ до 28 простыхъ смертельныхъ дозъ.

Какъ объяснить это явленіе?

Приходится принять (Эрлихъ)⁴⁶, что въ дифтерійномъ ядѣ кромѣ токсиновъ и токсоидовъ, имѣющихъ съ первыми равное сродство къ антитоксину, содержатся вещества неядовитыя и, хотя также связывающія антитоксинъ, но обладающія къ нему меньшей степенью сродства, чѣмъ токсины.

Первоначально Эрлихъ относилъ ихъ также къ группѣ токсоидовъ, но затѣмъ пришелъ къ убѣжденію, что это совершенно особое вещество, названное имъ „токсономъ“, которое вырабатывается дифтерійными бациллами наряду и независимо отъ токсиновъ и отличается отъ нихъ, кромѣ меньшаго сродства къ антитоксину, своимъ дѣйствіемъ на животныхъ. Именно, оно не убиваетъ животныхъ, но вызываетъ у нихъ некрозъ на мѣстѣ выпрыскиванія, исхуданіе и поздніе параличи (на 2—4 недѣлѣ). Я уже упомянулъ, что къ смѣси $L_0 + 1$ I. E. нужно прибавить не одну, а нѣсколько

(Т), чтобы она могла убить животное въ 4—5 дней, т. е. превратилась въ L_+ .

Однако, „зона свободныхъ токсонотъ“, т. е. смѣсь токсина и антитоксина въ предѣлахъ $L_0 + 1$ I. E. до $L_+ + 1$ I. E. не индифферентна, а характеризуется вышеуказаннымъ дѣйствіемъ на животныхъ, благодаря присутствію въ ней свободныхъ токсонотъ.

Главные факты, побудившіе Эрлиха отдѣлнить токсоноты отъ токсиновъ и токсоидовъ, это—нахожденіе токсонотъ въ самыхъ свѣжихъ дифтерійныхъ культурахъ и неизмѣняемость ихъ количества при храненіи дифтерійнаго яда, несмотря на болѣе или менѣе далеко зашедшее разложеніе токсиновъ, а также ихъ своеобразное дѣйствіе на организмъ животныхъ, о которомъ сказано выше.

Чтобы легче уяснить себѣ вліяніе токсонотъ на величину L_+ , мы приведемъ слѣдующій примѣръ. Допустимъ, что нашъ ядъ состоитъ изъ смѣси равныхъ количествъ единицъ токсина и токсона. Тогда въ L_0 дозѣ, заключающей въ себѣ 100 единицъ токсина, будетъ находиться еще 100 единицъ токсона; послѣ прибавленія 1 I. E. антитоксина, мы получаемъ вполне индифферентную смѣсь, т. е. насыщаемъ антитоксиномъ всѣ элементы токсина и токсона, такъ что

$$L_0 + 1 \text{ I. E.} = 100 \text{ токсиновъ—антитоксиновъ} + 100 \text{ токсонотъ—антитоксиновъ.}$$

Если къ этой смѣси мы прибавимъ такое количество дифтерійнаго яда, которое заключаетъ въ себѣ 1 смертельную дозу токсина, то, такъ какъ нашъ ядъ наряду съ токсиномъ содержитъ, какъ было принято, равное количество токсонотъ, мы введемъ вмѣстѣ съ токсиномъ также одну единицу токсона и наша формула выразится слѣдующимъ образомъ:

$$101 \text{ токсинъ—антитоксинъ} + 99 \text{ токсонотъ—антитоксинотъ} + 1 \text{ токсонотъ (освободившійся изъ соединенія съ антитоксиномъ)} + 1 \text{ токсонотъ (добавленный вмѣстѣ съ 1 токсиномъ).}$$

Понятно, что, въ силу большаго сродства къ антитоксину, всякая новая свободная единица токсина, добавленная

къ смѣси, будетъ вытѣснять единицу токсона изъ его соединения съ антитоксиномъ и сама становится на его мѣсто подобно тому, какъ болѣе сильная кислота вытѣсняетъ болѣе слабую изъ ея соединений съ металломъ.

Итакъ, мы можемъ получить свободную единицу токсона только въ томъ случаѣ, если весь токсонъ предварительно вытѣсненъ изъ его соединения съ антитоксиномъ, т. е. должны прибавить 101 единицу токсона, чтобы получить 1 свободную единицу, нужную для того, чтобы убить животное въ 4—5 дней.

Наша формула выразится слѣдующимъ образомъ:

100 токсиновъ—антитоксиновъ (первоначальныхъ)+
100 токсиновъ—антитоксиновъ (прибавленныхъ)+
100 токсоновъ свободныхъ (первоначальныхъ)+
101 токсонъ свободный (прибавленный)+
1 токсинъ свободный (прибавленный).

Откуда:

$L + 1 \text{ I. E.} = 200 \text{ токсиновъ—антитоксиновъ} + 201 \text{ токсонъ свободный} + 1 \text{ токсинъ свободный.}$

Такимъ образомъ удастся доказать присутствіе токсиновъ въ дифтерійномъ ядѣ. Ихъ количество въ любомъ ядѣ можно вычислить по слѣдующей формулѣ, предложенной Эрлихомъ:

$$Z = \frac{200\beta}{\alpha + \beta}$$

гдѣ Z = количество токсоновъ

$$\beta = D - 1$$

α = количество (Т).

Итакъ, можно считать вполне доказаннымъ, что въ дифтерійномъ ядѣ существуютъ различныя вещества—токсины и токсоны, обладающія неодинаковымъ сродствомъ къ антитоксину.

Возникаетъ вопросъ, какое измѣненіе въ своемъ химическомъ сродствѣ къ антитоксину претерпѣваютъ токсины при своемъ превращеніи въ токсоиды, и второе—все ли

элементы токсона, находящіеся въ данномъ ядѣ, обладаютъ одинаковымъ сродствомъ къ антитоксину.

Этотъ вопросъ Эрлихъ пытался рѣшить съ помощью своеобразнаго метода, который онъ назвалъ методомъ „частичнаго насыщенія“ (partielle Sättigung).

Методъ этотъ состоитъ въ слѣдующемъ. Къ опредѣленному постоянному количеству дифтерійнаго яда, именно къ его L_0 дозѣ (см. выше), прибавляютъ не все количество антитоксина, потребное для полной нейтрализаціи токсона, т. е. не 1 I. E., а части послѣдней, на примѣръ $1/100 = 1/10 = 1/4 = 1/2$ и т. п.

Понятно, что при условіи частичнаго насыщенія антитоксиномъ связываются сначала элементы, имѣющіе къ нему наибольшее сродство. Такимъ способомъ можно расчленивъ разнородныя элементы, входящіе въ данную смѣсь, по степени ихъ сродства къ антитоксину.

Пользуясь этимъ методомъ, Эрлихъ приходитъ къ слѣдующимъ выводамъ:

1) Дифтерійный бациллъ продуцируетъ два различныя вещества: токсины и токсоны, обладающіе неодинаковымъ сродствомъ къ антитоксину.

2) Токсины могутъ быть подраздѣлены на 3 группы, которыя отличаются другъ отъ друга степенью сродства къ антитоксину, именно: прототоксины, дейтеротоксины и тритоксины. Первые обладаютъ наибольшимъ, послѣдніе наименьшимъ сродствомъ къ антитоксину, но сродство всѣхъ ихъ къ антитоксину больше, чѣмъ таковое токсона.

3) Токсины могутъ претерпѣвать измѣненія, переходя въ неядовитую разновидность—„токсоиды“, при чемъ токсоиды удерживаютъ ту же степень сродства къ антитоксину, какую имѣли раньше тѣ элементы токсона, изъ которыхъ они произошли.

4) Токсинъ и каждая изъ его разновидностей въ отдѣльности состоятъ изъ двухъ модификацій α и β съ равнымъ сродствомъ къ антитоксину, но отличающіяся между собою различной степенью устойчивости по отношенію къ темпе-

ратурнымъ и другимъ вліяніямъ. Изъ нихъ модификація α очень легко переходитъ въ токсины, что иногда начинается уже въ термостатѣ во время роста бациллъ на бульонѣ.

Модификаціи β прото-дейтеро и тритоксиновъ имѣютъ также неодинаковую устойчивость. Наименьшей устойчивостью отличается модификація β тритоксина.

Однако, превращеніе ея въ токсины никогда не бываетъ полнымъ. Всегда остается нѣсколько неизмѣнишагося токсина, и именно, въ отношеніяхъ 3:7, 2:8 или 1:10.

Прототоксины гораздо болѣе устойчивы и превращаются въ прототоксины лишь въ ядѣ, сохраняющемся въ теченіи многихъ мѣсяцевъ.

Модификація β дейтеротоксина наиболѣе устойчива и сохраняется иногда, особенно при условіи правильнаго храненія, въ теченіи годовъ.

Согласно вышесказанному, Эрлихъ даетъ слѣдующій спектръ токсина.

Спектръ дифтерійнаго яда по Эрлиху.

	прото	дейтеро	трито	
α	токсинъ	токсинъ	токсинъ	ТОКСОНЪ
β	токсинъ	токсинъ	токсинъ	

Всѣ сейчасъ изложенные факты, касающіеся строенія дифтерійнаго яда, очень легко объясняются, если допустить, что каждый элементъ дифтерійнаго токсина имѣетъ двѣ самостоятельныя атомныя группы, изъ которыхъ одна—гаптоформная—обладаетъ исключительно фиксаторной способностью, а другая—токсоформная—токсическою въ собственномъ смыслѣ этого слова.

Послѣдняя группа получаетъ возможность воздѣйствовать на клѣтки организма только въ томъ случаѣ, если она фиксируется на таковыхъ помощью гаптоформной группы.

О практическомъ значеніи спектра дифтерійнаго яда для опредѣленія силы противодифтерійной сыворотки см. мою статью въ „Русскомъ Врачѣ“ за 1903 г. „Нѣмецкій способъ опредѣленія силы противодифтерійной сыворотки и его теоретическія основанія“.

ГЛАВА II.

Происхождение антитоксиновъ и другихъ антитѣлъ въ кровяной сывороткѣ животныхъ по Ehrlich'y. Способъ дѣйствія токсиновъ на протоплазму въ связи съ учениемъ Ehrlich'a о рецепторахъ („теорія боковыхъ цѣпей“). Преципитины. Бактерицидные, гемолитическія и цитотоксическія сыворотки; способъ ихъ дѣйствія по Ehrlich'y. Гемо— и бактерио-агглютнины. Анти-антитѣла. Токсины и энзимы.

Въ предыдущей главѣ мы видѣли,

1) что подѣ влияніемъ систематическаго введенія различныхъ ядовъ бактерійнаго, растительнаго и животнаго происхожденія въ крови животнаго появляются специфическія тѣла, обладающія способностью нейтрализовать *in vitro* и *in vivo* соотвѣтствующіе яды.

2) Эти тѣла, извѣстныя подѣ общимъ названіемъ антитѣлъ или антитоксиновъ, отличаются въ большинствѣ случаевъ строгой специфичностью, такъ что ихъ дѣйствіе обыкновенно бываетъ направлено только противъ яда, послужившаго для иммунизации животнаго.

3) Антитоксины нейтрализуютъ токсины, вступая съ ними въ прочное химическое соединеніе и, такимъ образомъ, образуя индифферентное для организма тѣло.

4) Способность токсиновъ вступать съ антитоксинами въ химическое соединеніе основано на присутствіи въ нихъ особой атомной группы, такъ называемой „гантофорной“.

Теперь возникаетъ вопросъ о способѣ возникновенія антитоксиновъ въ организмѣ. По этому предмету существуютъ два противоположныхъ мнѣнія.

Buchner, а съ нимъ вмѣстѣ Gruber и отчасти Мечниковъ принимаютъ, что токсины захватываются клѣтками,

гдѣ они подвергаются переработкѣ и снова появляются въ крови въ видѣ клѣточного секрета (выдѣленія).

Специфичность антитоксиновъ, по мнѣнію названныхъ авторовъ, зависитъ отъ того, что каждый изъ антитоксиновъ происходитъ изъ соотвѣтственнаго ему токсина.

Напротивъ, Эрлихъ думаетъ, что антитоксины по своему происхожденію не имѣютъ ничего общаго съ токсинами. По его толкованію антитоксины, равно какъ и всѣ прочія антитѣла, суть нормальная составная часть клѣтки и появляются въ крови въ свободномъ состояніи подѣ влияніемъ регенерирующей функціи клѣтки (см. ниже).

Въ настоящее время накопилось много экспериментальныхъ данныхъ, исключаящихъ возможность принять мнѣніе Buchner'a о происхожденіи антитоксиновъ изъ токсиновъ. Roux и Veillard ¹³² показали, что посредствомъ повторныхъ кровопусканій можно взять у животнаго, иммунизированнаго противъ тетануса, объемъ крови равный всему количеству крови, которое имѣло животное, и, тѣмъ не менѣе, регенерированная кровь имѣла ту же самую или почти ту же антитоксическую силу.

Кромѣ того, животное ежедневно теряетъ массу антитоксиновъ съ мочою и молокомъ и все таки антитоксическая сила его сыворотки не ослабѣваетъ.

Salomonsen и Madsen ¹³⁷ усиливали продукцію дифтерійнаго антитоксина посредствомъ впрыскиванія пилокарпина. Кноррь ⁷⁴ показалъ, что одна единица токсина производитъ около 100,000 антитоксина.

Мы ⁷⁷ на очень большомъ матеріалѣ могли наблюдать, что количество антитоксина въ крови иммунизируемыхъ лошадей не стоитъ въ прямомъ отношеніи къ количеству впрыснутого токсина.

Важнымъ фактомъ, говорящимъ противъ происхожденія антитоксиновъ изъ токсиновъ, представляется намъ нахожденіе антитоксиновъ въ крови нормальныхъ животныхъ.

Вассерманъ ¹⁾ первый нашелъ дифтерійный антитоксинъ въ кровяной сывороткѣ людей, завѣдомо не болѣвшихъ дифтеріей.

Meade, Balton, Cobbett ¹⁾ и другіе доказали нахожденіе дифтерійнаго антитоксина въ крови нормальныхъ лошадей.

Подобное же нахожденіе разнообразныхъ антитѣлъ въ крови нормальныхъ животныхъ, гдѣ можно вполне исключить возможность искусственнаго образованія ихъ, были наблюдаемы весьма многими авторами.

Такъ v. Dungern ⁴³ нашелъ, что нормальная кровяная сыворотка кроликовъ обладаетъ въ сильной степени способностью нейтрализовать ядъ *Asterias glacialis*, имѣющій гемолитическое и спермотоксическое дѣйствіе.

Эрлихъ ⁴⁸ нашелъ антитетанолизинъ въ нормальной кровяной сывороткѣ лошади, а Neisser и Wechsberg ¹¹⁶ антистафилолизинъ въ сывороткѣ людей и нѣкоторыхъ другихъ животныхъ.

О нахожденіи различныхъ антиферментовъ въ кровяной сывороткѣ нормальныхъ животныхъ будетъ сказано ниже.

„Это означало бы возвращеніе къ старымъ временамъ натурфилософіи, говорить Эрлихъ, если бы мы приписали организму, такъ сказать, изобрѣтательную дѣятельность, которая дѣлала бы его способнымъ, смотря по потребности, созидать новыя группировки атомовъ. Соотвѣтственно знаніямъ о функціи клѣтки особенно же о синтетическихъ процессахъ въ организмѣ, мы гораздо скорѣе должны принять, что при образованіи антитѣлъ дѣло идетъ не о созиданіи совершенно новыхъ группировокъ атомовъ, а о продуктахъ нормальной дѣятельности клѣтки. Въ организмѣ resp. его клѣткахъ должны находиться группы, аналогичныя специфическимъ гаптоформнымъ группамъ антитѣлъ“. (Die Werthbemessung des Diphtherieheilserums u. s. w. Klin. Jahrbuch VI. 1897. s. 14).

¹⁾ Цитировано по Marschal und Morgenroth: „über Anticoplemente und Antiamboceptoren normaler Sera und pathologischer Exudate“. Zeitsch. f. Klin. Medic. Bd. 47 H. 3 und 4.

Къ тому же логическому выводу нужно придти при разсмотрѣніи судьбы токсиновъ въ организмѣ животнаго.

Какъ извѣстно, токсины суть весьма нестойкія вещества растительнаго или животнаго происхожденія. Ихъ химическая характеристика невозможна, такъ какъ до сихъ поръ не удалось получить ихъ въ чистомъ видѣ.

Поэтому мы судимъ о принадлежности даннаго вещества къ токсинамъ по слѣдующимъ двумъ біологическимъ признакамъ: по ихъ своеобразному ядовитому дѣйствію и по ихъ способности при подходящихъ условіяхъ вызывать въ животномъ организмѣ образованіе специфическихъ антитоксиновъ. Эта послѣдняя способность не принадлежитъ ни одному изъ до сихъ поръ извѣстныхъ ядовъ съ опредѣленной химической структурой.

Что касается ядовитаго дѣйствія большинства токсиновъ, то оно, въ отличіе отъ другихъ ядовъ, характеризуется инкубаціоннымъ періодомъ, который остается, несмотря на любое увеличеніе дозы токсина. Нѣкоторые вещества, которые дѣйствуютъ безъ инкубаціоннаго періода, относятся къ группѣ токсиновъ главнымъ образомъ вслѣдствіе ихъ способности образовывать въ организмѣ животнаго антитѣла (змѣиный ядъ, ядовитыя вещества кровяныхъ сыворотокъ).

На основаніи этихъ своеобразныхъ свойствъ токсиновъ нужно придти къ заключенію, что ихъ дѣйствіе на организмъ животнаго существенно отличается отъ дѣйствія другихъ ядовъ. Именно, основнымъ условіемъ ядовитаго дѣйствія токсина на организмъ нужно признать ихъ способность вступать въ прочное химическое соединеніе съ протоплазмой клѣтокъ. Хотя мы знаемъ среди нѣкоторыхъ другихъ ядовъ, напримѣръ алкалоидовъ (стрихнинъ, кураре), такіе, которые обладаютъ какъ бы избирательнымъ сродствомъ по отношенію къ строго опредѣленнымъ клѣточнымъ группамъ, однако эти яды никогда не образуютъ съ паренхимой послѣднихъ сколько-нибудь прочнаго соединенія; почему они легко могутъ быть извлечены изъ органовъ простымъ вымываніемъ. Скопленіе же ихъ въ опредѣ-

ленныхъ мѣстахъ организма чаще всего зависитъ отъ присутствія здѣсь нѣкоторыхъ химическихъ веществъ, благоприятствующихъ ихъ растворенію или образующихъ съ ними слабое содиненіе (*lockere Bindung*) и такимъ образомъ задерживающихъ ихъ въ опредѣленныхъ мѣстахъ.

Такъ Overton ¹⁾ доказалъ, что скопленіе нѣкоторыхъ ядовъ въ центральной нервной системѣ зависитъ отъ присутствія здѣсь лецитина и ему подобныхъ образованій.

Благодаря своей способности вступать въ прочное соединеніе съ протоплазмой, токсинъ быстро исчезаетъ изъ крови, какъ это показали опыты Bomstein'a ¹⁰ и Brunner'a ²⁰ относительно дифтерійнаго токсина, и, спустя короткое время, уже не можетъ быть отдѣленъ отъ протоплазмы.

Dönitz ³⁹ полагаетъ, что уже въ періодъ инкубаціи тетанический токсинъ прочно связанъ гдѣ то въ организмѣ. Поэтому онъ не могъ спасти животныхъ отъ смерти, несмотря на впрыскиваніе значительныхъ дозъ антитоксина, спустя лишь нѣсколько минутъ послѣ впрыскиванія тетаническаго токсина.

Только посредствомъ очень большихъ дозъ антитоксина можно въ предѣлахъ опредѣленнаго времени расторгнуть соединеніе токсина съ протоплазмой клѣтокъ; слѣдовательно, здѣсь дѣло идетъ о леченіи уже существующей интоксикаціи.

Опыты Dönitz'a по своимъ результатамъ вполне аналогичны опытамъ Madsen'a ⁹¹, который доказалъ, что помощью большихъ дозъ антитоксина возможно отнять и обезвредить тетанилизинъ, уже связанный съ красными кровяными шариками.

Свойство токсиновъ вступать въ прочное соединеніе съ протоплазмой, по мнѣнію Эрлиха, сближаетъ ихъ съ такъ называемыми „ассимилируемыми“ веществами, которые также издавна характеризуются способностью давать устойчивыя соединенія съ живой протоплазмой.

¹⁾ Цитировано по Schlussbetrachtungen von Ehrlich ⁵⁰.

Обычно къ ассимилируемымъ веществамъ относятъ небольшую группу, такъ называемыхъ, питательныхъ веществъ.

Теперь, по Эрлиху, остается сдѣлать только одинъ дальнѣйшій шагъ, чтобы уяснить себѣ способъ дѣйствія токсиновъ.

Достаточно принять, что токсины, которые по своему происхожденію и химическимъ свойствамъ близко стоятъ къ бѣлковымъ веществамъ и ихъ дериватамъ, такъ же, какъ и питательныя вещества въ собственномъ смыслѣ слова, имѣютъ атомныя группы, благодаря которымъ происходитъ соединеніе ихъ съ „рецепторами“ клѣтокъ.

Атомныя группы, при посредствѣ которыхъ происходитъ соединеніе частицъ токсиновъ и питательныхъ веществъ съ протоплазмой, равно какъ и токсина съ антитоксиномъ, Эрлихъ называетъ „гаптоформными“.

Ученіе Эрлиха объ аналогіи между способомъ прикрѣпленія къ протоплазмѣ питательныхъ веществъ и способомъ дѣйствія токсина нашло себѣ подтвержденіе въ позднѣйшихъ работахъ о такъ называемыхъ коагулинахъ или преципитинахъ.

Въ 1897 году Kraus ⁸¹ сдѣлалъ открытіе, что при прибавленіи специфическихъ иммунныхъ сыворотокъ къ фильтратамъ соотвѣтственныхъ бактерійныхъ культуръ образуется сначала помутнѣніе, а затѣмъ обильный характерный осадокъ.

Въ 1899 г. Bordet ¹⁴ нашелъ, что, если повторно впрыскивать молоко кролику въ полость брюха, то по истеченіи нѣкотораго времени кровяная сыворотка этого кролика приобретаетъ способность створаживать соотвѣтствующее молоко.

Такъ, если въ пробирку, содержащую нѣкоторое количество (напр. 3 к. с.) сыворотки иммунизированнаго кролика, прибавить 15 капель молока, то образуются сначала мелкіе комочки, которые затѣмъ быстро формируются въ крупныя хлопья.

Wassermann ¹⁴⁶ показалъ, что при иммунизации различными сортами молока (человѣка, козы, коровы) въ крови животныхъ образуются коагулины, дающіе осадки только съ

тѣмъ сортомъ молока, которое служило для иммунизации животныхъ.

Чистовичъ ¹⁴² и затѣмъ Bordet ¹⁶ нашли, что, если животному одного вида впрыскивать кровяную сыворотку другого вида, то сыворотка 1-го получить способность образовывать осадки въ сывороткѣ второго животного.

Myers ¹⁰⁴ такимъ же способомъ получилъ сыворотку, дающую осадки въ растворахъ кристаллическаго бѣлка, глобулина и пептона Witte.

Интересно, что добытыя такимъ образомъ сыворотки обладали почти абсолютной специфичностью, дѣйствуя только на то вещество (видъ молока, яичный бѣлокъ отъ различныхъ птицъ, видъ бѣлка и пр.), которое служило для иммунизации животного. (Uhlenhuth, ^{155, 156, 158} Wassermann Schütze ¹⁴⁶ и др.).

Такимъ образомъ, доказана возможность вызвать въ организмъ животного образование специфическихъ антитѣлъ при помощи веществъ, которыя ни въ какомъ случаѣ не могутъ быть причислены къ ядамъ, а принадлежать къ обыкновеннымъ питательнымъ веществамъ.

Эти факты явились новымъ чрезвычайно важнымъ доказательствомъ въ пользу правильности взглядовъ Эрлиха, поставившаго дѣйствіе токсиновъ въ одинъ рядъ съ обычными ассимиляционными процессами.

Тѣ атомныя группы живой протоплазмы, которыя обуславливаютъ своимъ присутствіемъ захватываніе яда и такимъ образомъ дѣлаютъ организмъ воспримчивымъ къ дѣйствію его („Receptibilität“), Эрлихъ назвалъ „рецепторами“, т. е. „воспринимателями“.

Еще въ 1885 году въ своей монографіи „Ueber das Sauerstoffbedürfnis des organismus“ Эрлихъ доказывалъ, что клѣточная протоплазма состоитъ изъ ядра (Leistungskern—руководящее ядро), которое своимъ присутствіемъ обуславливаетъ своеобразную, только ей свойственную, функцію клѣтки, и изъ большого числа другихъ разнообразныхъ атомныхъ группъ, которыя въ видѣ боковыхъ цѣпей группируются

около главнаго ядра. Последнія играютъ подчиненную роль и назначены, главнымъ образомъ, для питанія протоплазмы.

Эти боковыя цѣпи и есть рецепторы по новой терминологіи Эрлиха.

Согласно своему представленію о строеніи клѣточной протоплазмы и о способѣ дѣйствія токсиновъ, Эрлихъ слѣдующимъ образомъ объясняетъ появленіе антитоксиновъ въ крови иммунизированныхъ животныхъ. Частица токсина, введенная въ организмъ животного, вступаетъ при участіи своей гаптофорной группы въ прочное соединеніе съ „приходящимся“ къ ней рецепторомъ клѣточной протоплазмы.

Благодаря этому, протоплазма лишается нѣкоторыхъ рецепторовъ, которые служили ей для питанія, и функція ея нарушается. Поэтому она стремится регенерировать утраченные элементы. При этомъ, на основаніи закона, формулированнаго Weigert'омъ ¹⁵¹, протоплазма не ограничивается воспроизведеніемъ только утраченныхъ ею элементовъ, но производитъ ихъ въ избыточномъ количествѣ.

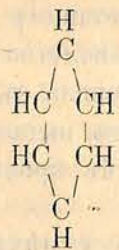
Получается перепроизводство рецепторовъ, которые въ концѣ концовъ теряютъ связь съ клѣточной протоплазмой и, какъ ненужный балластъ, выталкиваются въ кровь. Такіе свободно циркулирующіе въ крови рецепторы и есть антитоксины.

Вслѣдствіе того, что у нихъ порвана связь съ главнымъ ядромъ протоплазмы, химическое сродство свободныхъ рецепторовъ къ токсинамъ возрастаетъ, что согласно съ аналогичными фактами изъ области химіи. Поэтому свободные рецепторы въ состояніи улавливать (почему Эрлихъ называетъ ихъ общимъ именемъ „гаптины“) и приковывать къ себѣ попадающіе въ кровь элементы токсина, отвлекая ихъ такимъ образомъ отъ важныхъ для жизни центровъ.

Процессъ иммунизации по Эрлиху заключается въ томъ, что протоплазма постоянно получаетъ новый импульсъ для производства рецепторовъ и, такимъ образомъ, какъ бы тренируется въ этомъ направленіи.

Здѣсь я считаю умѣстнымъ напомнить, что представ-
леніе Эрлиха о строеніи протоплазмы цѣликомъ взято изъ
органической химіи. Для поясненія этого я приведу обще-
принятую гипотезу о строеніи бензола.

Молекула бензола состоитъ изъ шести группъ (CH),
которыя образуютъ кольцеобразную систему. Для образова-
нія такой системы изъ шести атомовъ углерода достаточно
двѣнадцати единицъ сродства, слѣдовательно, въ системѣ,
состоящей изъ шести группъ (CH), изъ которыхъ каждая
обладаетъ тремя единицами сродства, имѣется 6 лишнихъ
единицъ сродства. Эти послѣднія служатъ для прямой бо-
лѣе тѣсной связи шести группъ (CH), составляющихъ си-
стему, другъ съ другомъ и связь эта отличается отъ обыкно-
венной связи въ открытыхъ цѣпяхъ. Этимъ отличіемъ обу-
словлены нѣкоторыя особенности бензольныхъ производныхъ,
напримѣръ стойкость группы, состоящей изъ шести атомовъ
углерода, которые составляютъ такъ называемое ядро.



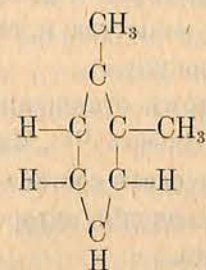
формула бензола.

Каждый атомъ водорода въ формулѣ бензола можетъ
быть замѣненъ различными атомными группами, въ резуль-
татѣ чего получаютъ различныя циклическія соединенія
(соединенія ароматическаго ряда). Эти вводимыя новыя
группы называются „боковыми цѣпями“. При введеніи нѣ-
сколькихъ одинаковыхъ или различныхъ боковыхъ цѣпей
можетъ имѣть мѣсто такъ называемая изомерія по положе-
нію. При одинаковыхъ цѣпяхъ мы получаемъ тѣла хотя
тождественныя между собой по составу, но отличающіяся
по своимъ свойствамъ въ зависимости отъ того, какіе
атомы водорода замѣнены въ формулѣ бензола. Такъ, при

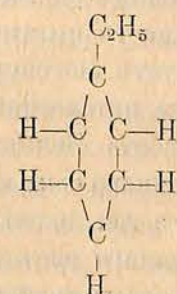
введеніи двухъ боковыхъ цѣпей изъ бензола получаютъ
три изомера:



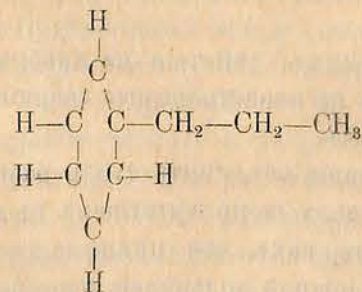
Кромѣ того можетъ имѣть мѣсто изомерія другого рода,
зависящая отъ числа боковыхъ цѣпей или отъ строенія
ихъ. Такъ диметилбензолъ, имѣющій двѣ боковыя цѣпи
(CH₃), изомеренъ съ этилбензоломъ, заключающимъ одну бо-
ковую цѣпь (C₂H₅); пропилбензолъ изомеренъ съ изопропил-
бензоломъ и т. д.



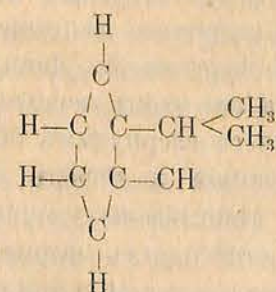
диметилбензолъ



этилбензолъ



пропилбензолъ



изопропилбензолъ.

Боковыя цѣпи сохраняютъ характеръ тѣхъ соединеній,
остатками которыхъ онѣ являются. Такъ, если цѣпь—оста-

токъ непредѣльнаго соединенія, она сохраняетъ способность къ реакціямъ присоединенія и пр. Напр.: фенилэтиленъ $\text{CH}_2=\text{CH}-\text{C}_6\text{H}_5$ прямо соединяется съ бромомъ. При извѣстныхъ условіяхъ боковыя цѣпи болѣе или менѣе легко отщепляются отъ бензольнаго ядра и разрушаются. Бензольное же ядро можетъ быть разрушено или расщеплено лишь съ большимъ трудомъ.

Ученіе Эрлиха о протоплазмѣ, какъ состоящей изъ главнаго ядра и массы различныхъ боковыхъ цѣпей, нашло себѣ послѣдователей.

Verworn¹⁵¹ представляетъ себѣ клѣточную протоплазму состоящей изъ біогенныхъ молекулъ (Biogenmolekül).

„Распаденіе біогеновъ и созиданіе ихъ вновь“, говоритъ онъ, „образуетъ основной путь жизненнаго процесса всякой живой клѣтки“.

Но при распадѣ біогеновъ уцѣлѣваетъ „остатокъ“, который воспринимаетъ питательныя вещества и, такимъ образомъ, регенерируетъ біогенную молекулу.

Особенно же интересной въ этомъ отношеніи представляется намъ работа Ненцкаго и Зиберъ¹¹⁷ „Матеріалы къ изученію желудочнаго сока и химическаго состава энзимовъ“.

Я приведу здѣсь вкратцѣ заключенія авторовъ, касающіяся интересующаго насъ предмета.

Въ желудочномъ сокѣ намъ пока извѣстны три функціи:

1) петонизирующее дѣйствіе;

2) сычужное дѣйствіе и

3) открытое А. Данилевскимъ дѣйствіе на альбумозы, которыя при этомъ переходятъ въ нерастворимыя соединенія, сходныя со свернутымъ бѣлкомъ.

Ненцкій и Зиберъ склонны объяснить столь разнообразное дѣйствіе желудочнаго сока не присутствіемъ въ немъ трехъ отдѣльныхъ ферментовъ, какъ это принималось до сихъ поръ, а одной и той же сложной молекулой пепсина, которая обладаетъ разнообразной ферментативной функціей, благодаря присутствію въ ней 3-хъ различныхъ группъ атомовъ.

Авторы разсуждаютъ слѣдующимъ образомъ.

Подъ молекулой, по опредѣленію Макевеля, подразумѣвается нѣкоторая вещественная часть матеріи, которая способна передвигаться, какъ нѣчто цѣлое, по отношенію къ средней точкѣ всей массы. Внутри молекулы имѣется еще другое движеніе составныхъ частей атомовъ по отношенію къ средней точкѣ. Бѣлковая молекула отличается особенно значительной величиной и состоитъ изъ многихъ тысячъ атомовъ.

Подъ вліяніемъ самыхъ слабыхъ реагентовъ, какъ вода, слабая кислота и т. п., бѣлковая молекула распадается на цѣлый рядъ болѣе простыхъ, но все еще сложныхъ молекулъ.

Нужно, слѣдовательно, допустить, что для того, чтобы бѣлковая молекула существовала, какъ одно цѣлое, въ ней долженъ существовать одинъ главный центръ, вокругъ котораго происходитъ движеніе сложныхъ молекулъ бѣлка, лецитина, пентозы, фосфорной кислоты и т. д.

Кромѣ того имѣется нѣсколько центровъ 2-го, 3-го, 4-го и т. д. разрядовъ, около которыхъ движутся отдѣльные атомы этихъ сложныхъ молекулъ.

Эти „боковыя“ молекулы ничто иное, какъ боковыя цѣпи Эрлиха.

„Въ виду того, что гигантская молекула пепсина при нагреваніи желудочнаго сока до кипѣнія распадается на нуклеопротендъ, альбумозу, лецитинъ и соляную кислоту, мы можемъ разсматривать эти соединенія, какъ боковыя молекулы или отдѣльныя частичныя молекулы перваго разряда. Нуклеопротендъ при кипяченіи съ кислотой распадается на бѣлокъ, пентозу и аллоксуровыя основанія; лецитинъ въ свою очередь распадается на жирныя кислоты, глицеринъ, фосфорную кислоту и нейринъ.“

Эти продукты разложенія должны быть отнесены къ частямъ молекулы 2-го разряда и т. д. Потребность въ такого рода опредѣленіи сложныхъ молекулъ для объясненія сложныхъ фізіолого-химическихъ процессовъ побудила, очевидно, Эрлиха построить теорію строенія тѣлъ съ боковыми цѣпиями. Въ гигантской молекулѣ отдѣльныя (частичныя) составляющія ее молекулы разнороднаго порядка могутъ пред-

ставляться въ разнообразной конфигураціи и, слѣдовательно, выполнять совершенно различныя функціи. Мы знаемъ, на примѣръ, относительно простѣйшихъ амидокислотъ, что онѣ въ одномъ случаѣ являются, какъ основанія, въ другомъ—какъ кислоты. Можно себѣ представить, что одна и та же гигантская молекула въ одной своей боковой молекулѣ, боковой цѣпи, обладаетъ гидролизующимъ дѣйствіемъ на бѣлокъ, а въ другой—сычужнымъ дѣйствіемъ. Этимъ, конечно, мы не хотимъ сказать, чтобы не было и такихъ энзимъ, которыя бы проявляли всей своей сложной молекулой только одно специфическое ферментативное дѣйствіе. Между такими простѣйшими энзимами и, такъ называемой, живой протоплазмой, которая, какъ одна цѣлая гигантская молекула, проявляетъ разнообразнѣйшія ферментативныя функціи, находятъ себѣ мѣсто молекулы, обладающія разностороннимъ ферментативнымъ дѣйствіемъ.

Именно къ этой категоріи энзимъ слѣдуетъ отнести молекулу пепсина (стр. 65 Ненцкій и Зиберъ).

Свою теорію „боковыхъ цѣпей“ Эрлихъ создалъ сначала лишь для объясненія происхожденія антитоксиновъ въ крови животныхъ. Однако, постепенно накопились новые факты, которые показали, что взглядъ Эрлиха вполне примѣнимъ въ широкой области иммунитета вообще.

По мѣрѣ того, какъ увеличивалось число наблюдений, росли и наши знанія относительно средствъ и способовъ борьбы организма съ разнообразными вредящими ему факторами; вмѣстѣ съ тѣмъ теорія Эрлиха также развивалась и, такъ сказать, совершенствовалась въ своихъ деталяхъ. Поэтому, прежде чѣмъ продолжать ея изложеніе, я считаю необходимымъ представить въ общихъ чертахъ важнѣйшіе моменты изъ исторіи развитія нашихъ знаній объ иммунитѣ.

Въ этомъ отношеніи особенно важное значеніе имѣло открытіе бактерицидныхъ и цитолитическихъ свойствъ нормальныхъ и иммунныхъ кровяныхъ сыворотокъ.

Бактерицидныя свойства нормальныхъ кровяныхъ сыворотокъ сдѣлались извѣстны еще со времени работъ Nut-

tal'я ¹²¹, Nissen'a ¹²⁰ и Buchner'a ²². Тогда же обнаружилось, что способностью убивать бактеріи внѣ организма обладаетъ лишь свѣже добытая кровяная сыворотка. При храненіи и особенно при нагрѣваніи до 54—56° С., это свойство сыворотки легко уничтожается.

Въ 1890 году Behring и Nissen ⁷ нашли, что бактерицидное дѣйствіе кровяной сыворотки по отношенію къ Мечниковскому вибриону увеличивается при иммунизации животныхъ соответственными культурами.

Въ 1894 году были опубликованы работы Pfeiffer'a и Исаева, ^{123, 124} имѣющія важное принципиальное значеніе. Эти авторы, иммунизируя животныхъ живыми или убитыми посредствомъ нагрѣванія культурами холернаго вибриона, получили сыворотку, обладающую слабымъ бактерициднымъ дѣйствіемъ *in vitro*.

Эффектъ получался гораздо сильнѣе, если культура холернаго вибриона впрыскивалась съ примѣсью небольшого количества иммунной сыворотки въ полость брюха нормальной свинки. Въ такомъ случаѣ, уже спустя нѣсколько минутъ, вибрионы, добытые изъ полости брюха свинки помощью капиллярной трубки, представлялись характерно измѣненными. Они потеряли свою прежнюю подвижность и по большей части превратились въ шары неправильнаго очертанія, среди которыхъ попадались сильно разбухшіе вибрионы, приблизительно сохранившіе свою первоначальную форму запятой. Позже вибрионы собирались въ кучки и подвергались зернистому распаду. Въ концѣ концовъ, они исчезали изъ полости брюха, постепенно рассасываясь, или, какъ утверждаетъ Мечниковъ, захватываясь и уносясь лейкоцитами.

Вскорѣ послѣ опубликованія работъ Pfeiffer'a и Исаева, Мечниковъ ¹⁰⁰ показалъ, что феноменъ Pfeiffer'a можно наблюдать внѣ организма животного. Для этого готовится висячая капля изъ кровяной сыворотки иммуннаго животного, лишенной своего бактерициднаго дѣйствія посредствомъ нагрѣванія; затѣмъ прибавляется капелька перитонеальнаго эксудата нормальной свинки, который также не-

способенъ самъ по себѣ произвести феноменъ Pfeiffer'a. Однако, если въ эту смѣсь двухъ порознь индифферентныхъ веществъ внести нѣсколько культуры холерныхъ вибрионовъ, то наблюдается быстрое наступленіе феномена Pfeiffer'a.

Bordet ^{11,12} сообщилъ новые факты, имѣющіе важное значеніе для пониманія описываемаго явленія. Онъ нашелъ, что совершенно свѣжая кровяная сыворотка иммунизированныхъ противъ холеры животныхъ обладаетъ, вопреки заявленію Pfeiffer'a, весьма сильными бактерицидными свойствами.

Послѣ нагрѣванія или при продолжительномъ храненіи она ихъ теряетъ, но снова пріобрѣтаетъ послѣ прибавленія сыворотки нормальныхъ свинокъ. На основаніи этого опыта Bordet принимаетъ, что въ бактерицидномъ дѣйствіи иммунной сыворотки принимаютъ участіе два фактора.

Одинъ изъ нихъ, выдерживающій нагрѣваніе до 68—70° С., находится въ крови и перитонеальной жидкости иммунизированныхъ животныхъ, а другой, разрушающійся при 55—56° С., содержится въ тѣхъ же жидкостяхъ нормальныхъ животныхъ.

Позже Bordet ¹³ нашелъ новое доказательство правильности своего взгляда. Онъ повторно впрыскивалъ въ полость брюха морскихъ свинокъ дефибрированную кровь кроликовъ. Сыворотка иммунизированныхъ такимъ образомъ свинокъ получила способность энергично растворять въ пробиркѣ красные кровяные шарики кроликовъ. Это явленіе, по мнѣнію Bordet, служитъ выраженіемъ общаго закона, который онъ формулируетъ такъ: „сыворотка одного индивидуума вида А, которому производились внутри—брюшныя, подкожныя или внутривенныя впрыскиванія эритроцитовъ индивидуума вида В, получаетъ новое свойство растворять въ пробиркѣ кровяныя тѣльца вида В.“

Далѣе Bordet доказалъ, что гемолитическое дѣйствіе иммунной сыворотки свинки уничтожается послѣ получасоваго нагрѣванія при 55° С. Но, если къ такимъ образомъ инактивированной сывороткѣ прибавить нѣсколько свѣжей сыворотки нормальной свинки, то раствореніе кровяныхъ

шариковъ наступаетъ снова. Слѣдовательно, въ гемолитической иммунной сывороткѣ, подобно тому, какъ въ бактерицидной, находятся два вещества:

1) термостабильное вещество, выдерживающее нагрѣваніе до 55°, (la substance sensibilisatrice) и

2) термолабильное (alexine), которое легко разрушается подѣ влияніемъ внѣшнихъ воздѣйствій, какъ нагрѣваніе, свѣтъ, храненіе и т. п.

Первое создается въ организмѣ животного при иммунизации, а второе существуетъ въ нормальной сывороткѣ и лишено специфическаго значенія.

Изслѣдованіе законовъ гемолиза, благодаря замѣчательной аналогіи, существующей между гемолизинами и бактериолизинами кровяныхъ сыворотокъ, получило громадный интересъ и значеніе для бактериологовъ. Объектомъ наблюденія сдѣлались красные кровяные шарики, о гибели которыхъ можно было судить простымъ глазомъ по наступленію гемолиза, почему методика изслѣдованія весьма упростилась. Благодаря этому, удалось выяснитъ много темныхъ сторонъ изъ области такъ называемаго бактерициднаго иммунитета. Отсюда понятно, почему главное участіе въ разработкѣ ученія о гемолизахъ принадлежитъ бактериологамъ.

Въ чемъ же заключается сущность гемолитическаго дѣйствія сыворотокъ естественныхъ и полученныхъ посредствомъ иммунизации?

Въ своей работѣ „Zur Physiologie und Pathologie der roten Blutscheiden“ Эрлихъ показалъ, что раствореніе красныхъ кровяныхъ шариковъ наступаетъ подѣ влияніемъ всѣхъ факторовъ (механическихъ, термическихъ и химическихъ), которые умерщвляютъ протоплазму. Тогда же Эрлихъ предположилъ, что въ красныхъ кровяныхъ шарикахъ имѣется своеобразная протоплазма, названная имъ „дископлазмой“, главная функція которой состоитъ въ томъ, чтобы препятствовать выходу гемоглобина. Какъ скоро дископлазма умерщвлена, наступаетъ диффузія гемоглобина въ окружающую среду и получается лаковая кровь.

Выше мы видѣли, что, по теоріи Эрлиха, токсическое дѣйствіе извѣстной группы ядовъ зависитъ отъ способности ихъ вступать въ прочное соединеніе съ протоплазмой. Поэтому послѣ открытія Bordet представлялось интереснымъ изслѣдовать отношенія, которыя существуютъ между протоплазмой кровяныхъ шариковъ и гемолизинами сыворотокъ. Опыты, произведенные Эрлихомъ совместно съ Morgenroth'омъ⁵³, показали слѣдующее. Если красные кровяные шарики, освобожденные отъ сыворотки центрофугированіемъ и повторнымъ промываніемъ физиологическимъ растворомъ поваренной соли, оставить на нѣкоторое время въ соприкосновеніи съ нагрѣтой, т. е. инактивированной сывороткой, то, какъ выше было сказано, гемолиза не наступало. Но, если затѣмъ къ такимъ шарикамъ, освобожденнымъ отъ избытка инактивной иммунной сыворотки, прибавить нѣкоторое количество сыворотки нормальныхъ животныхъ, то они растворялись. То же самое наблюдалось, если кровяные шарики оставить часа на 2—3 при 0° въ соприкосновеніи съ ненагрѣтой—активной—специфической сывороткой и затѣмъ освободить ихъ отъ послѣдней посредствомъ центрофугированія и промыванія поваренною солью. При 0° гемолиза не происходитъ, но, если къ отмытымъ кровянымъ шарикамъ прибавить нормальной кровяной сыворотки и поставить на нѣкоторое время въ термостатъ при 38—40°, то кровяные шарики быстро растворялись. Съ другой стороны, слитая послѣ центрофугированія съ кровяныхъ шариковъ гемолитическая сыворотка была лишена своего дѣйствія на новыя порціи кровяныхъ шариковъ и для того, чтобы наступилъ гемолизъ, нужно было прибавить къ ней небольшое количество нагрѣтой иммунной сыворотки.

Эти опыты особенно хорошо удаются, если дѣлать ихъ слѣдующимъ образомъ. Предварительно опредѣляютъ минимальное количество иммунной сыворотки, нужное для того, чтобы растворить извѣстное количество красныхъ кровяныхъ шариковъ. Затѣмъ найденное количество сыворотки прибавляютъ къ тому же объему красныхъ кровяныхъ шариковъ и смѣсь, тщательно охлажденную, держать 2—3 часа при 0°.

Если затѣмъ красные кровяные шарики отцентрофугировать и, послѣ взбалтыванья съ новой порціей поваренной соли, добавить къ нимъ нормальной сыворотки, то наступаетъ ихъ полное раствореніе. Слитая же съ нихъ жидкость снова получаетъ способность растворять красные кровяные шарики, если къ ней добавлено опредѣленное количество инактивной специфической сыворотки.

Посредствомъ этого опыта (Bindungsversuch) Эрлихъ и Morgenroth доказали, что первый изъ двухъ компонентов иммунной гемолитической сыворотки (substance sensibilisatrice Bordet или Immunkörper Эрлиха) связывается въ извѣстныхъ количественныхъ отношеніяхъ красными кровяными шариками, тогда какъ другой (алексинъ Bordet и Buchner'a или комплементъ Эрлиха) остается въ присутствіи послѣднихъ свободнымъ. Слѣдовательно, нужно признать, что красный кровяной шарикъ посредствомъ своего рецептора соединяется съ гаптофорной группой Immunkörper'a. Съ другой же стороны, фиксировавши на себѣ иммунное тѣло, онъ получаетъ способность привлекать къ себѣ алексинъ или, какъ называлъ его Эрлихъ, по его функціи дополнять гемолитическое дѣйствіе иммуннаго тѣла, „комплемента“. Такимъ образомъ, иммунное тѣло должно имѣть по крайней мѣрѣ двѣ гаптофорныя группы: одну, обладающую сродствомъ къ кровяному тѣльцу, цитофильную, и другую—къ комплементу—комплементафильную. Поэтому Эрлихъ для специфически дѣйствующей составной части гемолизина—Immunkörper—предложилъ названіе амбоцепторъ. Понятно, что амбоцепторъ не можетъ самостоятельно образоваться въ крови. Онъ также происходитъ отъ протоплазмы. Слѣдовательно, въ клѣточной протоплазмѣ должны существовать такіе рецепторы, которые обладаютъ двумя связывающими группами. Появленіе ихъ въ свободномъ состояніи въ крови при иммунизации объясняется точно такимъ же образомъ, какъ и появленіе антитоксиновъ.

Все, что было сказано о гемолитическихъ амбоцепторахъ, примѣнимо и къ бактерициднымъ.

Здѣсь также мы имѣемъ предъ собою обнаруженіе процесса нормальной жизнедѣятельности клѣтки.

Такъ какъ я имѣю въ виду въ настоящей статьѣ лишь намѣтить главные пункты развитія идей Эрлиха о причинахъ искусственнаго и естественнаго иммунитета, то я совершенно уклоняюсь отъ изложенія обширной литературы о гемолизинахъ, имѣющей столь громадный теоретическій и практический интересъ.

Мнѣ остается еще сказать нѣсколько словъ о родственныхъ гемолизинамъ по своему происхожденію и способу дѣйствія, такъ называемыхъ, цитолизинахъ и цитотоксинахъ.

Уже а priori нужно было допустить, что способность вызывать появленіе въ крови свободныхъ амбоцентовъ не принадлежитъ исключительно краснымъ кровянымъ тѣльцамъ и бактеріямъ. Дѣйствительно, посредствомъ иммунизации животныхъ различными клѣточными образованиями удалось сообщить кровяной сывороткѣ специфическое ядовитое дѣйствіе, направленное противъ тѣхъ видовъ клѣтокъ, которыя служили для выпрыскиванія животному. Эти ядовитыя для клѣтокъ вещества, накапливающіяся при иммунизации въ крови животного, Мечниковъ называлъ цитотоксинами. Сюда должны быть, конечно, отнесены и гемолизины.

Изъ цитотоксическихъ сыворотокъ до сихъ поръ извѣстны: противъ мерцательнаго эпителия (v. Dungern⁴²), противъ сперматозоидовъ (Landsteiner,⁸⁴ Мечниковъ¹⁰², Moxter¹⁰⁸), противъ почечнаго эпителия (Линдеманъ^{87, 88}, Нефедьевъ¹¹⁸), противъ лейкоцитовъ (Delezenne³⁵, Мечниковъ¹⁰¹, Funck⁶⁶), противъ надпочечниковъ (Bigard et Bernard⁹), противъ печеночныхъ клѣтокъ (Delezenne³³, Deutsch³⁸), противъ Pankreas (Surmont¹⁴¹), противъ нервныхъ клѣтокъ (Delezenne³⁴), противъ gl. Thyreoidea (Маньковский⁹⁴).

Дѣйствующее начало всѣхъ цитотоксическихъ сыворотокъ, подобно гемолизинамъ, имѣетъ сложное строеніе, состоя изъ амбоцента и комплемента. Что касается происхожденія цитотоксиновъ, то и сюда вполне приложимо то, что выше было сказано о происхожденіи антитоксиновъ и гемолизиновъ.

Противниками теоріи боковыхъ цѣпей Ehrlich'a не разъ цитировался фактъ, найденный Мечниковымъ¹⁰², что кастрированные животныя способны вырабатывать спермотоксины. Но если принять вмѣстѣ съ Ehrlich'омъ, что соотвѣтственными рецепторами обладаютъ не одни только spermatozoid'ы, а также и другія клѣтки организма, то этотъ фактъ не будетъ стоять въ противорѣчій съ теоріей Ehrlich'a. Въ этомъ отношеніи интересно, что спермотоксическая сыворотка обладаетъ въ то же время гемолитическими свойствами. Слѣдовательно, красные кровяные шарики имѣютъ рецепторы, соотвѣтствующіе гаптоформнымъ группамъ сперматозоидовъ.

Издавна извѣстно, что многія кровяныя сыворотки нормальныхъ, не иммунизированныхъ животныхъ, обладаютъ гемолитическимъ дѣйствіемъ.

Въ новѣйшее же время въ нормальныхъ сывороткахъ были найдены тѣла, дѣйствующія спермотоксически.

Спрашивается, имѣютъ-ли естественные гемолизины и цитотоксины то же строеніе и тотъ же способъ дѣйствія, какъ и искусственные?

Buchner отвѣчаетъ на этотъ вопросъ отрицательно. По его мнѣнію, какъ гемолитическое, такъ и бактерицидное дѣйствіе нормальныхъ сыворотокъ зависитъ отъ присутствія въ нихъ особаго тѣла alexin'a, не имѣющаго строго специфическаго характера и дѣйствующаго одинаково противъ всѣхъ постороннихъ элементовъ, такъ или иначе проникающихъ въ организмъ и способныхъ вредить послѣднему. Алексинъ имѣетъ простое строеніе и принадлежитъ къ ферментамъ. Однако многочисленными работами Ehrlich'овской школы и др. (Ehrlich и Morgenroth⁵⁴, Ehrlich и Sachs⁶⁰, Sachs¹³⁵, Müller¹⁰⁹, Лондонъ⁸⁹, Neisser und Döring¹¹⁴, Meltzer⁹⁹ и др.) доказано, что положеніе Buchner'a неправильно и что гемолизины нормальныхъ сыворотокъ имѣютъ то же строеніе, что и полученные посредствомъ иммунизации.

То же было доказано Straus'омъ и Wolff'омъ¹⁴⁰ относительно гемолизиновъ въ трансудатахъ и эксудатахъ, Moxter'омъ¹⁰⁷, Neisser'омъ и Wechsberg'омъ¹¹⁵, Wechsberg'омъ¹⁴⁹

для бактерицидных веществ, а Ландоном⁹⁰ и Sachs¹⁸²

для спермотоксинов нормальных сыворотов.

Наконец, я должен упомянуть об агглютинациях—

этих своеобразных тьлах, которые могут находиться в нормальных кровяных сыворотках, а также образовываться путем иммунизации. Способность нормальных сыворотов агглютинировать красные кровяные шарики уже давно описывается, между прочим Landois⁸⁵, как явление, сопровождающее растворение кровяных шариков под влиянием чуждых ему сыворотов.

Bordet¹⁸ получил гемогглютинины посредством иммунизации животных одного вида дефибринованною кровью другого.

Gruber и Durham⁶⁹ нашли, что сыворотка животных, иммунизированных культурами брюшного тифа и холеры, получается способностью типичным образом собирать в комочки соответственные микроорганизмы.

Bordet¹⁴ нашел, что некоторые нормальные кровяные сыворотки могут также обладать агглютинирующим действием на бактерии. Так, нормальная лошадиная сыворотка довольно энергично агглютинирует культуры *V. cholerae*, *b. typhi* abd. *b. coli* и *b. tetani*.

Агглютины вызывают натравление выше 60° и начинают разрушаться лишь около 70°. Разъ гудучи разрушены, они не могут быть восстановлены прибавлением сывей нормальной сыворотки.

Eisenberg и Volk^{61, 62} показали, что под влиянием нагрвания при 70°, равно как посредством прибавления кислорода, формалина или мочевины, агглютины претерпевают изменение подобного тому, которое мы видим у токсина. Именно, они не агглютинируют ботве бактерий, но сохраняют способность вступать с ними в соединение. По аналогии с токсинами измененные таким образом агглютины получили название агглютиноидов.

В самое последнее время Shiga¹⁸⁹ доказал присущие агглютиноидов в своей догто хранившейся про-

живоизентерийной сыворотки. Его агглютиноиды обладали тинным, почему Shiga называет их протгглютиноиды.

Опыты Eisenberg'a и Volk'a и Shiga доказали, что агглютины имьют двъ разновидности групп: одну гаптоформу, благодаря которой они вступают в соединение с протоплазмой бактериальной клетки, и другую—цимоформу, отъ присущества которой зависит специфическое действие агглютинации на бактерии.

Въ этомъ отношении агглютины имьют полное сходство с токсинами. Такъ какъ къ способу происхождения агглютиновъ примѣнимо то, что выше было сказано относительно агглютиновъ и цитоллизировъ, и ихъ нужно признать за продукты живой протоплазмы, то мы должны признать, что существуетъ еще одинъ видъ рецентовъ съ двумя различными функционирующими группами—гаптофорной и агглютинофорной.

Въ последнее время Klaus и Pirquet⁸³ и Muller¹¹¹ доказали, что преципитины имьют строение совершенно сходное со строением токсиновъ и агглютиновъ.

Итакъ, все до сихъ поръ извѣстны агглютины, какъ образующияся въ организмъ животного некуственно, подъ влияниемъ иммунизации, такъ и существующия въ немъ естественнo, могутъ быть подраздѣлены на три типа:

I. Антиоксинны. Они имьют самое простое строение, состоя изъ одной гаптофорной группы.

II. Агглютинины и преципитины имьют, подобно токсинамъ, двъ функционирующия группы: гаптоформу и цимоформу.

III. Цитоллизины и цитотоксинны состоятъ изъ двухъ гаптофорныхъ группъ.

Соответственно этому, Ehrlich подраздѣляетъ реценты протоплазмы также на три типа.

Реценты первого порядка соответствуютъ по своему строению антиоксинамъ. Ихъ функция въ живомъ организмѣ заключается въ томъ, что они помощью своей гапто-

форной группы прикрѣпляютъ къ протоплазмѣ вещества сравнительно простаго строенія (токсины, ферменты и другія производныя жизнедѣятельности клѣтокъ—Zellsecreten).

Но весьма вѣроятно, что кромѣ этихъ несложныхъ по своему строенію рецепторовъ протоплазма обладаетъ болѣе сложными рецепторами, которые ей нужны для ассимиляціи сложныхъ бѣлковыхъ веществъ. Въ этомъ случаѣ фиксація бѣлковой частицы протоплазмой есть только первая, такъ сказать, предварительная стадія питанія клѣтки. Весьма сложная бѣлковая молекула не можетъ, какъ таковая, ассимилироваться протоплазмой. Она должна быть предварительно разложена на болѣе простыя составныя части, что совершается при помощи различныхъ ферментативныхъ процессовъ.

Этотъ процессъ разложенія мы можемъ легче всего представить себѣ, допустивъ, что та же часть протоплазмы—(„Fang-arm“, какъ образно называетъ ее Ehrlich), которая улавливаетъ питательное вещество, кромѣ своей гаптофорной группы, обладаетъ еще другой, дѣйствующей подобно ферменту.

Рецепторы такого типа Ehrlich называетъ рецепторами второго порядка. Къ нимъ должны быть отнесены агглютинины и преципитины.

Третій типъ рецепторовъ состоитъ изъ двухъ гаптофорныхъ группъ: одной, которая привлекаетъ къ клѣткѣ питательныя вещества, и другой, которая воспринимаетъ изъ крови циркулирующія въ ней вещества, обладающія ферментативной функціей. Только послѣ соединенія съ послѣдними веществами, которыя по ихъ функціи Ehrlich называетъ компонентами (т. е. дополняющими дѣйствіе), рецепторы 3-го порядка получаютъ способность воздѣйствовать на захваченную ими сложную молекулу. По числу гаптофорныхъ группъ Ehrlich называетъ рецепторы 1-го и 2-го порядка унцепторами, 3-го порядка—амбоцепторами.

Въ послѣднее время Ehrlich и Marschal'емъ⁵² принимается 4-й типъ рецепторовъ, которые они называютъ Polyser-tor'ами. Эти послѣдніе, обладая одной гаптофорной группой, обуславливающей ихъ связь съ клѣточнымъ образованіемъ,

напр., эритроцитомъ или бактеріей (такъ называемая цитофильная группа), имѣютъ нѣсколько гаптофорныхъ группъ, предназначенныхъ для улавливанія разнородныхъ компонентовъ (такъ называемыя комплементофильныя группы).

Отождествляя антитоксины, агглютинины, цитотоксины и пр. антитѣла съ рецепторами нормальныхъ клѣтокъ, которые физиологически несутъ на себѣ питательную функцію клѣтки, Ehrlich логически долженъ былъ придти къ признанію чрезвычайнаго разнообразія упомянутыхъ антитѣлъ. Соотвѣтственно этому и амбоцепторы, получающіеся при иммунизации животныхъ кровяными тѣльцами, должны быть весьма разнообразны. Даже при иммунизации однимъ какимъ-нибудь видомъ клѣтокъ (напр., красными кровяными шариками) различныхъ животныхъ, хотя бы одного и того же вида, должны образовываться весьма разнообразные типы амбоцепторовъ, благодаря чрезвычайному разнообразію рецепторовъ у отдѣльныхъ индивидуумовъ. Дѣйствительно, вопреки мнѣнію Безрѣдки⁸, который во всякой данной иммунной сывороткѣ признаетъ существованіе только одного типа амбоцепторовъ, Ehrlich и Morgenroth⁵⁸ доказали разнообразныя типы послѣднихъ. Особенно интересны въ этомъ отношеніи опыты Ehrlich и Morgenroth'a⁵⁵ съ иммунизацией козъ козьими же кровяными шариками. Авторы получили такъ называемую изолитическую сыворотку, которая хотя не дѣйствовала на красныя кровяныя тѣльца того самаго индивидуума, отъ котораго она была добыта, но довольно энергично растворяла красныя кровяныя тѣльца другихъ индивидуумовъ того же вида.

Испытывая дѣйствіе опредѣленнаго изолитина на красныя кровяныя шарики цѣлаго ряда козъ, Ehrlich и Morgenroth нашли, что красныя кровяныя шарики однихъ козъ были къ нему весьма восприимчивы, другихъ меньше и нѣкоторыхъ совершенно невосприимчивы.

Затѣмъ авторы приготовили 13 изолитическихъ сыворотокъ, иммунизируя 13 козъ козьими же кровяными тѣльцами. Оказалось, что всѣ эти сыворотки не были тож-

дественны по своему дѣйствию, иначе говоря, авторы получили 13 различныхъ изолиновъ. Такъ, напр., первая сыворотка растворяла красныя кровяныя тѣльца козъ А и В, вторая С и D, третья А и D и т. д.

Этотъ опытъ показываетъ, что даже у животныхъ одного и того же вида рецепторы могутъ быть весьма разнообразны.

Кромѣ индивидуальныхъ варіацій въ содержаніи рецепторовъ Ehrlich и Morgenroth доказали, что воспримчивость даннаго индивидуума можетъ весьма сильно измѣняться въ теченіи относительно короткаго времени. Они нашли, что коза, которая реагировала на данный изолинъ, дѣлалась невоспримчивой къ нему, спустя нѣсколько недѣль, и показали, что при этомъ рѣчь шла о выпаденіи ранѣе существовавшихъ рецепторовъ.

Изъ другихъ работъ, говорящихъ за разнообразіе амбоцепторовъ въ одной и той же сывороткѣ, назову слѣдующія.

Wechsberg ¹⁴⁹ въ одной бактерицидной сывороткѣ нашелъ по крайней мѣрѣ два различныхъ амбоцептора.

Pfeiffer и Friedberger ¹²⁷ отдѣлили въ нормальной козьей сывороткѣ нѣсколько различныхъ гемолитическихъ амбоцепторовъ. Тоже самое нашелъ Bail ⁴ по отношенію къ сывороткѣ кролика. Neisser ¹¹³ посредствомъ прибавленія мертвыхъ сибирязвенныхъ бациллъ къ сывороткѣ кроликовъ изолировалъ бактерицидные амбоцепторы отъ гемолитическихъ.

Ehrlich и Morgenroth ⁵⁶ доказали присутствіе различныхъ амбоцепторовъ въ нормальныхъ сывороткахъ такимъ образомъ, что они постепенно связывали ихъ различными видами кровяныхъ тѣлецъ, отличавшихся неодинаковой чувствительностью къ гемолитическому дѣйствию данной сыворотки. О томъ, что различныя иммунныя сыворотки имѣютъ различныя амбоцепторы, не можетъ быть, конечно, спора.—Это наглядно доказывается строго специфическимъ дѣйствиемъ такихъ сыворотокъ. Дѣйствительно, въ этомъ пунктѣ согласны между собою все авторы.

Вторая дѣйствующая составная часть гемолизиновъ—комплементы—обладаетъ по Ehrlich'у двумя группами: гапто-

форной, съ помощью которой онъ соединяется съ комплементафильной группой амбоцепторовъ, и цимотоксической, соотвѣтствующей токсифорной группѣ токсиновъ. Въ этомъ отношеніи комплементы вполне аналогичны токсинамъ, что побудило Ehrlich'a и Morgenroth'a ⁵⁷ теоретически допустить возможность образованія изъ комплемента комплементаидовъ, соотвѣтствующихъ по своему строенію токсоидамъ. Дѣйствительно, имъ удалось одновременно съ Müller'омъ ¹⁰⁹ доказать существованіе послѣднихъ такимъ образомъ, что они получили антикомплементы, иммунизируя животныхъ инактивированной посредствомъ нагрѣванія сывороткой.

Если мы вспомнимъ то, что было сказано выше о токсоидахъ и особенно объ иммунизации токсоидами животныхъ, то мы должны будемъ и въ данномъ случаѣ допустить, что при нагрѣваніи была разрушена цимотоксическая группа комплемента и уцѣлѣла гаптофорная.

Гораздо труднѣе доказать присутствіе комплементаидовъ посредствомъ опытовъ въ пробиркахъ. Однако, въ одномъ случаѣ Ehrlich'у и Sachs'у ⁵⁹ удалось достигнуть этого слѣдующимъ образомъ. Они убѣдились, что нормальная собачья сыворотка растворяетъ кровяныя тѣльца морской свинки. Послѣ нагрѣванія при 55° С. гемолитическое дѣйствіе собачьей сыворотки уничтожалось влѣдствіе разрушенія ея комплемента; но его снова можно было возстановить посредствомъ прибавленія извѣстнаго количества нормальной сыворотки морской свинки. Если же авторы поступали такимъ образомъ, что красныя кровяныя шарики морской свинки оставлялись на нѣкоторое время въ соприкосновеніи съ инактивированной собачьей сывороткой и лишь послѣ этого прибавлялся комплемента въ видѣ нормальной сыворотки морской свинки, то гемолиза не наступало совсѣмъ. Единственно возможное объясненіе этого явленія заключается въ слѣдующемъ. При нагрѣваніи собачьей сыворотки комплементы измѣняются въ ней такимъ образомъ, что они утрачиваютъ свою цимотоксическую группу, тогда какъ ихъ гаптофорная группа уцѣлѣваетъ (компле-

ментоидъ). Однако, сродство измененнаго такимъ образомъ компонента къ амбоцептору нѣсколько ослабѣваетъ, такъ что требуется сравнительно большой промежутокъ времени, чтобы между амбоцепторомъ и компонентоидомъ получилось прочное соединеніе. Когда же это произошло, то амбоцепторъ, будучи связанъ компонентоидомъ, не можетъ болѣе соединяться съ свободнымъ компонентомъ для того, чтобы произвести явленіе гемолиза. Если же смѣшиваютъ одновременно красныя кровяныя тѣльца, амбоцепторъ (инактивированная собачья сыворотка) и компонентъ (свѣжая сыворотка морской свинки), то амбоцепторъ вступаетъ въ соединеніе съ компонентомъ благодаря большому сродству къ послѣднему и присутствіе компонентоидовъ остается неоткрытымъ.

Обращая вниманіе на тотъ фактъ, что любая кровяная сыворотка въ состояніи комплементировать цѣлый рядъ различныхъ гемолитическихъ и бактерицидныхъ амбоцепторовъ, Ehrlich и Morgenroth принимаютъ и стараются обосновать экспериментальными данными, что соотвѣтственно этому въ каждой отдѣльной сывороткѣ существуетъ масса разнообразныхъ компонентовъ. Въ этомъ пунктѣ они существенно расходятся съ унитарнымъ взглядомъ Buchner'a, который признаетъ единство алексина въ каждой данной сывороткѣ.

Этотъ вопросъ представляется однимъ изъ труднѣйшихъ въ ученіи объ иммунитѣ и до сихъ поръ далекъ отъ окончательнаго рѣшенія. Унитарный взглядъ Buchner'a ^{25, 26} защищаютъ Bordet ^{16, 17, 18}, Gruber ⁷⁰, Савченко ^{*}, Гусевъ ⁷¹ и другіе.

Наиболѣе интересенъ слѣдующій опытъ Bordet, подтвержденный многими авторами. Bordet обрабатывалъ красныя кровяныя шарики инактивированной специфической сывороткой, благодаря чему они соединялись съ амбоцепторами, и затѣмъ подвергалъ ихъ дѣйствію какой-либо активной сыворотки. Дождавшись конца реакціи, т. е. полного растворенія крас-

^{*}) Савченко и Бердниковъ. Къ ученію объ алексинахъ. Рус. Арх. патол. и т. д. 1902.

ныхъ кровяныхъ шариковъ, онъ прибавлялъ къ той же порціи сыворотки новыя кровяныя шарики или бактеріи, обработанные, какъ и первыя кровяныя шарики, специфической инактивированной сывороткой. Оказалось, что сыворотка была лишена всего своего комплементирующаго дѣйствія, какъ для красныхъ кровяныхъ шариковъ, такъ и для бактерій.

Такимъ образомъ, послѣ однократнаго дѣйствія на „сензибилизированныя“ красныя кровяныя тѣльца активная сыворотка лишается всей своей комплементирующей функціи.

Отсюда Bordet заключаетъ, что разрушеніе различныхъ элементовъ совершается данной сывороткой при помощи одного и того же компонента, который, слѣдовательно, у нея имѣется только одинъ.

Однако, Ehrlich не считаетъ этотъ опытъ доказательнымъ въ пользу унитарнаго взгляда и думаетъ, что отсюда можно вывести лишь то заключеніе, что амбоцепторъ имѣетъ не одну, а много компонентофильныхъ группъ. Благодаря этому, онъ связываетъ не одинъ только компонентъ, который нуженъ для довершенія его функціи („dominantes Komplement“), но также и многіе другіе, не имѣющіе никакого отношенія къ процессу растворенія красныхъ кровяныхъ шариковъ („nicht dominante Komplemente“). Такой типъ амбоцептора названъ былъ Ehrlich'омъ, какъ я уже упомянулъ, „Polyceptor'омъ“.

Въ пользу такого представленія объ амбоцепторѣ Ehrlich и Marschal ⁵² приводятъ интересное наблюденіе, что связываніе остальныхъ компонентовъ (partiale Komplemente) происходитъ лишь послѣ того, какъ съ рецепторомъ краснаго кровяного шарика предварительно связанъ „dominantes Komplement“.

Если же связыванію послѣдняго воспрепятствовать, напр., отклонивъ его отъ клѣтки посредствомъ специфическаго антикомплемента, то всѣ остальные компоненты (nicht dominante) остаются также въ свободномъ состояніи. Въ пользу множественности компонентовъ говорятъ многія экспериментальныя данныя. (Ehrlich und Morgenroth ^{54, 56};

Neisser und Döring¹¹⁴; Wendelstadt¹⁵³; Ehrlich und Sachs⁵⁰; Marschal und Morgenroth⁹⁶; Wassermann¹⁴⁵; Wechsberg¹⁴⁸).

Здѣсь я упомяну еще объ одномъ постулатѣ, логически вытекающемъ изъ теоріи „боковыхъ цѣпей“ Ehrlich'a.

Дѣло въ томъ, что, какъ было выше доказано, всѣ специфическія антитѣла, какъ накапливающіяся въ кровяной сывороткѣ животнаго подъ вліяніемъ иммунизации, такъ и существующія въ ней при естественныхъ условіяхъ, обязаны своимъ дѣйствіемъ присутствію въ нихъ особыхъ гаптофорныхъ группъ. Поэтому нужно допустить, что при введеніи въ организмъ животнаго антитѣла могутъ найти въ клѣточной протоплазмѣ подходящіе рецепторы и такимъ образомъ повести къ образованію новыхъ специфическихъ тѣлъ (анти-антитѣлъ). Особенно легко допустимо это для гаптофорныхъ группъ тѣхъ антитѣлъ, которыя приспособлены для связыванія элементовъ, такъ или иначе входящихъ въ составъ животнаго организма, т. е. прежде всего для гаптофорныхъ группъ гемолитическихъ и цитотоксическихъ амбоцепторовъ. Что же касается антитоксиновъ, агглютининовъ и бактерицидныхъ амбоцепторовъ, то здѣсь труднѣе разсчитывать на то, чтобы ихъ гаптофорная группа, приспособленная для соединенія съ чуждыми организму веществами, какъ бактерійные яды и тѣла бактерій, нашла въ клѣткахъ вышшаго организма подходящіе рецепторы.

Экспериментальныя данныя вполне подтверждаютъ это теоретическое соображеніе.

Kraus и Eisenberg⁸² получили отрицательные результаты при своихъ многочисленныхъ опытахъ съ иммунизацией антидифтерійной сывороткой и тифозными агглютинами.

Также неудачны были попытки получить антибактерицидную сыворотку.

Но въ послѣднее время Pfeiffer und Friedberger'у¹²⁸ удалось слѣдующимъ образомъ получить сыворотку, которая нейтрализовала бактериолитическій амбоцепторъ холеры. Они вприскивали подъ кожу кроликамъ по 10 к. с. сильной

бактериолитической сыворотки, добытой посредствомъ иммунизации козы холернымъ вибриономъ.

Черезъ 3 недѣли вприскиваніе было повторено. Спустя 8 дней послѣ этого у кроликовъ была взята кровь и испытано ея вліяніе на бактериолитическое дѣйствіе холерной иммунной сыворотки (отъ козы). Оказалось, что 0,03 к. с. сыворотки одного изъ иммунизированныхъ кроликовъ нейтрализовали бактериолитическое дѣйствіе 2 миллигр., т. е. около 30 минимальныхъ растворяющихъ дозъ иммунной сыворотки.

Однако, этотъ опытъ встрѣтилъ многочисленныя возраженія и, слѣдовательно, нуждается въ дальнѣйшей провѣркѣ, чего до сихъ поръ не сдѣлано. Поэтому мы должны относиться къ нему съ нѣкоторой осторожностью.

Что же касается антигемолизиновъ, то ихъ удалось получить, посредствомъ иммунизации, цѣлому ряду авторовъ (Bordet^{15, 16}, Ehrlich и Morgenroth^{56, 58}, Müller¹⁰⁹ и др.).

Кромѣ того, присутствіе антигемолизиновъ было доказано во многихъ нормальныхъ кровяныхъ сывороткахъ (Ehrlich и Morgenroth⁵⁸, Müller¹¹⁰, Безрѣдка⁸, Neisser und Wechsberg¹¹⁵ и др.), равно какъ и въ нормальной и патологической сывороткѣ человѣка (Neisser und Döring¹¹⁴, Laquer⁸⁶, Camus et Pagnier³², Marschal und Morgenroth⁹⁷).

Этимъ я заканчиваю изложеніе теоріи „боковыхъ цѣпей“.

Я далекъ отъ мысли утверждать, что Ehrlich'у удалось, наконецъ, найти полное объясненіе всѣхъ чрезвычайно сложныхъ процессовъ, которые происходятъ въ живомъ организмѣ, отстаивающемъ свое существованіе противъ внѣдряющихся въ него вредныхъ агентовъ.

Но во всякомъ случаѣ за теоріей Ehrlich'a нужно признать выдающееся значеніе. До сихъ поръ покрытые таинственностью процессы самозащиты организма она поставила въ тѣсную связь съ физиологическою функціей клѣтокъ и, въ качествѣ рабочей теоріи, не мало способствовала расширенію нашихъ знаній въ одной изъ самыхъ трудныхъ областей біологіи.

Такимъ образомъ, вліяніе идей Ehrlich'a распространилось далеко за область патологіи живого организма. Онѣ наши примѣненіе между прочимъ также въ не менѣ сложномъ и до сихъ поръ еще темномъ вопросѣ о природѣ и способѣ дѣйствія ферментовъ.

Еще Roux и Versin^{133, 134} указывали на то, что между ферментами и токсинами существуетъ большая аналогія. Какъ токсины, такъ и ферменты суть продукты живыхъ клѣтокъ и дѣйствуютъ въ безконечно малыхъ количествахъ; оба они имѣютъ сложное молекулярное строеніе, по всей вѣроятности принадлежатъ къ бѣлковымъ или сходнымъ съ бѣлками веществамъ; оба очень чувствительны къ дѣйствію кислотъ и щелочей и легко разрушаются подѣ вліяніемъ свѣта и высокой температуры.

Что касается способа дѣйствія ферментовъ, то въ этомъ отношеніи чрезвычайно интересны опыты E. Fischer'a,⁶³ который показалъ, что для дѣйствія фермента на опредѣленное тѣло необходимо присутствіе въ послѣднемъ особой атомной группы. Поэтому ферменты могутъ разлагать тѣла различной структуры, если въ таковыхъ имѣется для этого опредѣленная, общая имъ атомная группа. Эта послѣдняя, по образному сравненію Fischer'a, представляетъ изъ себя какъ бы замокъ, къ которому подходитъ только данный ключъ—ферментъ.

Слѣдовательно, между представленіемъ E. Fischer'a о дѣйствіи ферментовъ и теоріей Ehrlich'a о дѣйствіи токсиновъ существуетъ полная аналогія.

Представляется весьма заманчивымъ, говорить Oppenheimer¹²², распространить теорію Ehrlich'a также на дѣйствіе ферментовъ. Для этого нужно было бы только принять, что ферментъ, подобно токсину, имѣетъ гаптофорную группу, при помощи которой онъ соединяется съ опредѣленной атомной группой (рецепторъ) субстрата (крахмалъ, казеинъ и т. д.), и, кромѣ того, другую группу—„цимофорную“, которая подобно „токсофорной“ является носителемъ специфическаго дѣйствія ферментовъ. Какъ скоро ферментъ при по-

средствѣ своей гаптофорной группы пришелъ въ близкое соприкосновеніе съ субстратомъ, онъ начинаетъ развивать свое специфическое дѣйствіе. Хотя, по мнѣнію Oppenheimer'a, нѣсколько рискованно теоретическія соображенія о дѣйствіи токсиновъ, гдѣ дѣло идетъ о чрезвычайно сложной живой молекулѣ, цѣликомъ переносить на ферменты, которые имѣютъ дѣло со сравнительно просто построенными химическими тѣлами, какъ тростниковый сахаръ или амигдалинъ, тѣмъ не менѣ за это имѣется уже достаточно данныхъ.

Такъ,—давно уже извѣстно, что ферментъ прежде, чѣмъ развить свое дѣйствіе, вступаетъ въ соединеніе съ субстратомъ. Особенно свѣжій фибринъ обладаетъ способностью настолько плотно связывать многіе ферменты (пепсинъ, папаинъ, трипсинъ), что ихъ невозможно отдѣлить отъ него простымъ вымываніемъ. Этотъ фактъ можно разсматривать, какъ обоюдостороннее насыщеніе гаптофорныхъ группъ“. (Oppenheimer).

Явленія, наблюдаемыя при гемолизѣ и бактериолизѣ, представляютъ дальнѣйшее доказательство тому, что ферментъ дѣйствуетъ на субстратъ, соединяясь съ нимъ помощью своей гаптофорной группы. Здѣсь, по мнѣнію Oppenheimer'a, несомнѣнно истинный ферментъ (комплемента) дѣйствуетъ на клѣточное образованіе (кровоной шарикъ, тѣло бактерій) при посредствѣ иммуннаго тѣла, образующагося при иммунизации.

Далѣе, если энзимы обладаютъ способностью вступать въ прочное соединеніе съ протоплазмой, то, согласно теоріи „боковыхъ цѣпей“, при повторномъ введеніи въ организмъ животныхъ энзимовъ должно получиться въ крови накопленіе свободныхъ рецепторовъ, т. е. специфическихъ антиэнзимовъ, что и было подтверждено многочисленными изслѣдованіями, какъ мы увидимъ это ниже.

Здѣсь я считаю уместнымъ предпослать нѣсколько самыхъ общихъ замѣчаній о мѣстѣ происхожденія и свойствахъ сычужнаго фермента.

Тотъ фактъ, что слизистая оболочка четвертаго желудка теленка обладаетъ свойствомъ створаживать молоко, былъ

извѣстенъ въ самой глубокой древности. Но лишь Hammarstén⁷² и Schmidt¹³⁸ впервые доказали, что это дѣйствіе зависитъ отъ присутствія въ слизистой оболочкѣ желудка особаго фермента, который они называли Labferment или Chymosin. Такимъ образомъ, мѣстомъ образованія ляба служитъ слизистая оболочка желудка, въ которой онъ находится или въ видѣ готоваго фермента, или, что чаще, въ видѣ неактивнаго цимогена, переходящаго въ дѣятельную форму подъ вліяніемъ кислотъ. Кромѣ того лябферментъ содержится въ сокѣ многихъ растений (*Galium verum*, *Pinguicula vulgaris*, *Drosera*, *Carica papaya*, *Withania coagulans*, *Ricinis communis*, *Acanthosicyos horrida* и т. д.), а также выделяется многими бактеріями (*bacillus amylobact.*, *bacillus mesentericus vulgaris*, *bacillus prodigiosus*, *vibrio cholerae* и мн. др.).

Лябферментъ не диффундируетъ чрезъ животныя перепонки, разрушается алкоголемъ медленно, трипсиномъ, гнилостными бактеріями, желчью довольно быстро.

Въ нейтральныхъ растворахъ лябъ выдерживаетъ нагреваніе почти до 70° C., въ слабокислыхъ разрушается быстро уже при 63° C. и медленно при 40°. Онъ легко разрушается дистиллированной водой и очень чувствителенъ къ дѣйствію щелочей и свѣта.

Я работалъ съ препаратомъ ляба (1:3.000.000), который я получилъ съ фабрики Witte. Онъ имѣетъ видъ сухого, желтаго порошка съ характернымъ прянымъ запахомъ.

ГЛАВА III.

На чемъ основана способность лошадиной сыворотки задерживать створаживаніе молока подъ вліяніемъ сычужнаго фермента: на присутствіи въ ней специфическаго антитѣла или же на связываніи ею солей кальція.

Свойство нормальной лошадиной сыворотки задерживать створаживаніе молока подъ вліяніемъ сычужнаго фермента, впервые открытое Hammarstén'омъ, было подробно изслѣдовано Röden'омъ¹³⁰, который между прочимъ показалъ, что это свойство сохраняется сывороткой при діализаціи и уничтожается при нагреваніи до 70°. Далѣе, сначала Morgenroth'у¹⁰⁵, а затѣмъ Briot¹⁹, независимо другъ отъ друга, удалось искусственно посредствомъ иммунизации сообщить то же свойство сывороткѣ животныхъ (козъ и кроликовъ), не обладавшихъ имъ совсѣмъ или обладавшихъ лишь въ ничтожной степени.

Возможность иммунизировать животныхъ посредствомъ ляба дали Моргенроту право принять, что дѣйствіе на лябъ нѣкоторыхъ нормальныхъ кровяныхъ сыворотокъ, особенно же лошадиной, обладающей этимъ свойствомъ въ сильной степени, зависитъ отъ присутствія въ нихъ особаго антитѣла, которое, такимъ образомъ, является фізіологическимъ прототипомъ „антиляба“, получаемаго посредствомъ иммунизации.

Это специфическое тѣло, встрѣчающееся въ нормальныхъ кровяныхъ сывороткахъ, а равно получаемое искусственно при иммунизации, мы будемъ, по примѣру нашихъ предшественниковъ, называть „антилябомъ“. Также для краткости мы часто будемъ употреблять нѣмецкій терминъ „лябъ“ вмѣсто русскаго синонима „сычужный ферментъ“.

Принимая во вниманіе то, что было сказано выше о дѣйствіи антитоксина на токсинъ, слѣдуетъ предположить, что „антилябъ“ дѣйствуетъ также непосредственно на „лябъ“,

съ которымъ онъ образуетъ недѣлятельное соединеніе. Дѣйствительно, Briot¹⁹ показали, что смѣсь ляба со специфической сывороткой становится, спустя нѣкоторое время, недѣлятельной. Всѣ его попытки снова получить изъ этой смѣси лябъ въ свободномъ состояніи не увѣнчались успѣхомъ. Однако, въ послѣднее время Fuld и Spirio⁶⁴ высказали относительно способа дѣйствія нормальныхъ сыворотокъ на лябъ взглядъ, который существенно отличается отъ взгляда на этотъ предметъ Briot *) и Моргенрота *). Именно они утверждали, что нормальная кровяная сыворотка препятствуетъ створаживанію молока подъ вліяніемъ ляба, связывая соли кальція молока, необходимыя для образованія сыра. Эту функцію они приписывали псевдоглобулину кровяной сыворотки, который образуетъ съ кальціемъ молока растворимое въ водѣ, но трудно разлагаемое соединеніе. Благодаря этому, параказинъ, образовавшійся въ первой фазѣ дѣйствія ляба на молоко, не можетъ соединиться съ солями кальція для образованія нерастворимаго соединенія (2-я фаза створаживанія молока).

По мнѣнію тѣхъ же авторовъ неспособность діализировать и разрушаемость подъ вліяніемъ высокой температуры не даютъ еще права заключить о принадлежности антиляба къ діастазамъ, такъ какъ псевдоглобулинъ также не выпадаетъ изъ раствора при діализаціи, не проходитъ чрезъ животныя перепонки и температура, при которой онъ створаживается (68—70°), какъ разъ соответствуетъ той, при которой уничтожается дѣйствіе сыворотки на лябъ.

Впослѣдствіи, однако, Fuld и Spirio убѣдились сами въ несостоятельности своего взгляда. По этому поводу одинъ изъ нихъ (Fuld⁶⁵) пишетъ слѣдующее: „Моргенротъ нашелъ, что послѣ впрыскиваній сычужнаго фермента сыворотка нѣкоторыхъ животныхъ пріобрѣтаетъ свойство препятствовать сычужному ферменту дѣйствовать на молоко; независимо отъ него нашелъ то же Briot. Дѣйствіе такимъ образомъ полученной иммунной сыворотки направлено, какъ я могу

*) 1. с.

подтвердить, на самый ферментъ. На томъ же самомъ основано и дѣйствіе нормальныхъ сыворотокъ, какъ это принимаютъ Röden и Morgenroth. Указанное мною и Spirio связываніе солей кальція играетъ во всякомъ случаѣ только второстепенную роль. Я займусь этимъ вопросомъ подробнѣе въ другой разъ, теперь же упоминаю объ этомъ, чтобы по соглашенію со Spirio сдѣлать оговорку по поводу нашихъ старыхъ взглядовъ“.

Если мы, тѣмъ не менѣе, еще разъ возвращаемся къ тому же вопросу, то основаніемъ для этого служить то, что мы думаемъ, что способы, которыми мы пользовались для доказательства принадлежности дѣйствующаго противъ ляба начала кровяныхъ сыворотокъ къ группѣ истинныхъ антитѣлъ, имѣютъ общее значеніе и также не лишены интереса въ другихъ отношеніяхъ.

Кромѣ того, полное разъясненіе этого вопроса представлялось намъ даже необходимымъ, такъ какъ Груберъ⁷⁰ въ своихъ возраженіяхъ противъ теоріи Эрлиха ссылается между прочимъ на вышеупомянутую работу Fuld'a и Spirio⁶⁴.

Но прежде, чѣмъ я перейду къ изложенію своихъ опытовъ, я считаю необходимымъ указать на нѣкоторыя условія, которыя имѣютъ громадное значеніе при работахъ съ сычужнымъ ферментомъ.

1. Качество и происхожденіе молока имѣютъ большое вліяніе на результаты опытовъ. Совершенно свѣжее молоко отъ различныхъ животныхъ, даже одного и того же вида, оказывается въ различной степени воспріимчивымъ къ дѣйствію сычужнаго фермента. Точно также „чувствительность“ молока, т. е. способность створаживаться подъ вліяніемъ ляба, сильно измѣняется при храненіи его при комнатной температурѣ. Поэтому, чтобы имѣть однообразное молоко, я заготавливалъ его 10 литровъ въ одной общей бутылѣ, прибавлялъ къ нему 1% хлороформа и сохранялъ на ледникѣ, часто взбалтывая втеченіе первыхъ сутокъ, чтобы дать возможность хлороформу равномерно смѣшаться съ молокомъ. При соблюденіи этихъ условій, развитіе микроорганизмовъ въ

молоко задерживалось и чувствительность молока к действию ляба не изменялась в течение очень долгого времени.

Таким образом, мне удалось устранить неудобства, вытекающие из чрезвычайного колебания наименьшей створаживающей дозы ляба (см. ниже) в зависимости от различной степени чувствительности молока. Но, тем не менее, все опыты, результаты которых мне приходилось между собою сравнивать, я делал в один и тот же день при всех прочих равных условиях.

2. Неудобства, могущие вытекать из неодинакового содержания антиляба в сыворотках от различных индивидуумов, равно как вследствие ослабления „антиляба“ при хранении сыворотки в жидком состоянии, я устранил следующим образом. Я запасся большим количеством свежей лошадиной сыворотки от одной лошади, наполнял ею маленькие флакончики и сохранял при -10°C . в замороженном состоянии, как это вообще принято в институте экспериментальной терапии во Франкфурте на Майне для подобного рода нестойких веществ.

3. Нестойкость растворов ляба и тот факт, что различные препараты ляба, полученные в разное время даже с одной и той фабрики, представляются неодинаковыми по своим свойствам, побудили меня принять меры, обеспечивающие длительное сохранение раз приготовленного раствора ляба. Это было достигнуто мною следующим образом. 10 грм. порошка ляба смешивались с 100 к. с. 0,85% раствора поваренной соли; смесь энергично взбалтывалась на электрической болтушке в течение 3-х часов, после чего распределялась по 5 к. с. в соответственной величины флакончики и сохранялась в замороженном состоянии при -10°C . По мере надобности я брал по одному флакончику. Содержимое его разводилось 45 к. с. водопроводной воды, взбалтывалось на болтушке в течение 15-ти минут и, наконец, освобождалось от нерастворившихся плотных частиц порошка ляба посредством центрифугирования. Для растворения ляба я предпочитал пользоваться

водопроводной водой, чтобы по возможности избегать присутствия свободной щелочи, которая почти всегда извлекается из стекла растворами поваренной соли и вредно действует на сычужный фермент.

4. В тех же видах я пользовался исключительно пробирками, приготовленными по особому заказу из стекла бѣднаго щелочью.

Таким образом, мне удалось устранить важные неудобства, вытекающие из свойств того материала, с которым мне приходилось работать.

В настоящей работе я пользовался методом, предложенным Моргенротом, в основу которого положено определение минимального количества сычужного фермента, способного еще вызвать полное створаживание данного объема молока. Этот метод отличается от сходных с ним тем, что, после добавления к молоку сычужного фермента, пробирки предварительно помещаются на сутки в ледник при $+8^{\circ}\text{C}$. и затем только в водяную баню при $38-40^{\circ}\text{C}$.

Так как для моих целей представлялось чрезвычайно важным наивозможно точно определить створаживающую способность ляба, а достоинство способа Моргенрота подвергается сомнению со стороны Брю, то я предварительно поставил несколько опытов для выяснения этого вопроса. Эти опыты вполне убедили меня в преимуществе метода Моргенрота перед теми способами, когда пользуются исключительно высокой температурой.

Следующий опыт наглядно показывает, что при обычных способах, когда действие сычужного фермента на молоко происходит все время при $37-40^{\circ}\text{C}$., при чем при малых дозах фермента до наступления створаживания молока проходит несколько часов, действительно уничтожается некоторое количество ляба, сохраняющееся при 8°C ., т. е. при температурѣ, при которой происходит действие фермента на молоко по способу Моргенрота.

В ряд пробирок отмеривался сычужный фермент в убывающих количествах; объем жидкости уравни-

вался (до 2 к. с.) съ помощью водопроводной воды и затѣмъ въ каждую пробирку приливалось по 10 к. с. молока. Одновременно приготавливались два идентичные ряда пробирокъ.

Одна серія пробирокъ помѣщалась непосредственно въ водяную баню при 38—40° С. („прямой способъ“), а другая, согласно указаніямъ Моргенрота, ставилась въ ледникъ (при +8° С.) до слѣдующаго утра и только послѣ этого переносилась въ водяную баню при +40° С. („непрямой способъ“).

Я привожу для примѣра въ таблицѣ № 1 два такихъ опыта:

ТАБЛИЦА № 1-й.

Опредѣленіе минимальной створаживающей дозы ляба.

„Прямой“ способъ		„Непрямой“ способъ Моргенрота		„Непрямой“ способъ Моргенрота		„Прямой“ способъ	
1% растворъ ляба	Результатъ	1% растворъ ляба	Результатъ	1% растворъ ляба	Результатъ	1% растворъ ляба	Результатъ
к. с.		к. с.		к. с.		к. с.	
0,006	+	0,0014	+	0,0013	+	0,006	+
0,0055	+	0,00130	+	0,00125	+	0,0055	+
0,0050	+	0,00125	+	0,00120	+	0,0050	+
0,0045	+	0,00120	+	0,00115	+	0,0045	+
0,0040	+	0,00115	+	0,00110	+	0,0040	+
0,0035	○	0,00110	+	0,00105	+	0,0035	+
0,0030	○	0,00105	+	0,00100	+	0,0030	○
0,0025	○	0,00100	+	0,00095	+	0,0025	○
0,0020	○	0,00095	+	0,00090	+	0,0020	○
		0,00090	=	0,00085	—		
		0,00085	—	0,00080	—		
		0,00080	○	0,00075	○		
		0,00075	○	0,00070	○		
		0,00070	○				
		0,00065	○				
		0,00060	○				
Опытъ первый:				Опытъ второй:			
0,004 : 0,00095 = 4,2				0,004 : 0,00095 = 4,2			
+ полное створаживаніе				— частичное створаживаніе			
= почти полное „				○ створаживанія нѣтъ			

Такимъ образомъ, минимальное количество 1% раствора ляба, нужное для створаживанія 10 к. с. молока, было определено по „прямому“ способу равнымъ 0,004 к. с., а по „непрямому“ способу (Моргенрота) 0,00095 к. с., т. е. въ первомъ случаѣ для достиженія того же эффекта требовалось въ 4,2 раза больше фермента, чѣмъ во 2-мъ.

Что здѣсь дѣйствительно дѣло идетъ объ ослабленіи фермента подъ вліяніемъ вредной для него температуры, видно изъ того, что намъ приходилось наблюдать то же явленіе, если пробирки съ растворомъ ляба предварительно помѣщались на 3—5 часовъ при 37—40° С., затѣмъ прибавлялось молоко и далѣе поступалось согласно указаніямъ Моргенрота.

Теперь я приступаю къ изложенію своихъ опытовъ, которые имѣли цѣлью еще разъ опредѣлить способъ антиферментнаго дѣйствія лошадиной сыворотки.

Если бы положеніе, что дѣйствіе лошадиной сыворотки зависитъ отъ связыванія ею солей кальція, было справедливо, то явленія, наблюдаемая при нейтрализаціи сычужнаго фермента сывороткой, были бы тѣ же самыя, какія мы можемъ наблюдать при прибавленіи къ молоку нѣкоторыхъ химическихъ веществъ, образующихъ съ кальціемъ нерастворимыя или трудно разлагающіяся соединенія, какъ напр. щавелево-кислаго натра. Если къ опредѣленному количеству ляба прибавлять постепенно возрастающія количества щавелево-кислаго натра, то створаживаніе даннаго объема молока—10 к. с.—наступаетъ сначала соотвѣтственно поздне; наконецъ, если количество щавелевокислыхъ солей достаточно для связыванія всѣхъ солей кальція въ данномъ объемѣ молока, послѣднее окончательно теряетъ способность створаживаться, сколько бы ляба мы къ нему ни прибавляли.

Я опредѣлялъ минимальное количество щавелево-кислаго натра, лишшающее молоко способности створаживаться подъ вліяніемъ ляба, слѣдующимъ образомъ.

Въ рядъ пробирокъ, изъ которыхъ каждая содержала 1 к. с. 1% раствора ляба (приблизительно 1400 минимальныхъ створаживающихъ дозъ), прибавлялось различное ко-

личество 1% раствора щавелево-кислого натра и объемъ жидкости доводился водопроводной водой до 2 куб. сант. По истеченіи 15 минутъ приливалось въ каждую пробирку по 10 к. с. молока и эта смѣсь помѣщалась въ водяную баню при 40° С. (см. таблицу № 2-й).

ТАБЛИЦА № 2-й.

1 куб. сант. 1% раствора ляба	
+ 1% щавелево-кислый натръ:	
1) 0,8 куб. сант. О	
2) 0,7 " " О	
3) 0,65 " " О	
4) 0,60 " " —	
5) 0,55 " " +	
6) 0,50 " " +	
7) 0,45 " " +	
+ полное створаживаніе.	
— частичное "	
О нѣтъ створаживанія.	

Ради удобства мы обозначили смѣсь изъ 1,0 к. с. ляба (1%) и 0,65 к. с. 1%-наго щавелево-кислого натра черезъ L_0 . Такимъ образомъ, если къ 10 к. с. молока мы прибавимъ всю L_0 смѣсь, т. е. 1,0 к. с. 1% раствора ляба + 0,65 к. с. щавелево-кислого натра, то молоко останется жидкимъ. Теперь посмотримъ, какъ будетъ относиться тотъ же объемъ молока, если мы будемъ прибавлять къ нему части L_0 смѣси.

Чтобы сдѣлать опытъ возможно доказательнымъ, мы прибавили къ L_0 смѣси нѣкоторый избытокъ щавелево-кислого натра, такъ что за L_0 дозу мы приняли не 0,65 к. с. его, а 0,8 к. с.

Такимъ образомъ, я прибавилъ къ молоку:

1% щавелево-кисл. натра + 1% раствора ляба.	
1) 0,8 к. с. +	1,0 к. с. = L_0
2) 0,4 " +	0,5 " = $0,5 L_0$
3) 0,2 " +	0,25 " = $0,25 L_0$
4) 0,12 " +	0,15 " = $0,15 L_0$
5) 0,08 " +	0,1 " = $0,1 L_0$

Количество жидкости во всѣхъ пробиркахъ уравнивалось и затѣмъ прибавлялось по 10 к. с. молока.

Въ первой пробиркѣ молоко осталось жидкимъ, тогда какъ во всѣхъ остальныхъ быстро створожилось.

Это явленіе совершенно понятно изъ химизма дѣйствія щавелевой кислоты, такъ какъ въ смѣси 1,0 к. с. ляба + 0,8 к. с. щавелево-кислого натра лябъ находится въ свободномъ состояніи и его дѣйствіе на молоко парализовано лишь вслѣдствіе связыванія солей кальція молока щавелево-кислымъ натромъ. При фракціонированіи L_0 смѣси количество щавелево-кислого натра, прибавляемаго къ молоку, уменьшается, благодаря чему нѣкоторая часть солей кальція молока остается въ растворѣ и молоко створаживается, несмотря на соотвѣтственное уменьшеніе количества фермента.

На томъ же основаніи *наступаетъ створаживаніе молока, если къ смѣси 1,0 к. с. ляба + 0,8 к. с. щавелево-кислого натра прибавить не 10 к. с. молока, а больше, напр. 20 или 30 к. с., или, что то же, къ смѣси 1,0 к. с. ляба + 0,8 к. с. щавелево-кислого натра + 10 к. с. молока, которая, какъ мы выше видѣли, остается жидкой, прибавить новыя порціи молока.*

Также понятно, что молоко, къ которому прибавлена вся L_0 смѣсь, *остается жидкимъ, несмотря на дальнѣйшее прибавленіе ляба.* Въ пробирку № 3 таблицы № 2 я прибавилъ сначала 1 к. с., а затѣмъ еще 1 к. с. 1% раствора ляба и молоко осталось совершенно жидкимъ. Только послѣ прибавленія еще 1 к. с. наступило образованіе небольшого свертка, что объясняется присутствіемъ солей кальція въ препаратахъ ляба и въ водопроводной водѣ, съ помощью которой приготавлился растворъ ляба.

Совершенно то же мы должны были бы наблюдать, если бы антиферментное дѣйствіе лошадиной сыворотки зависѣло отъ связыванія солей кальція молока.

Опредѣленіе антиферментнаго дѣйствія лошадиной сыворотки было предпринято мною двоякимъ образомъ. Въ одномъ рядѣ опытовъ бралось въ качествѣ постоянной величины

определенное количество раствора ляба и отыскивалось количество сыворотки, нужное для его нейтрализации. А въ другомъ рядѣ опытовъ какъ постоянная величина бралось определенное количество лошадиной сыворотки и определялась максимальная доза ляба, которая, будучи смѣшана съ сывороткой, не вызывала еще створаживанія молока.

Въ первомъ случаѣ въ пробирки, изъ которыхъ каждая содержала одинаковое количество ляба, я прибавлялъ различные количества лошадиной сыворотки, послѣ чего смѣсь оставлялъ стоять 15 минутъ при комнатной температурѣ и затѣмъ приливалъ къ ней по 10 к. с. молока. Такимъ образомъ, определялась минимальная доза сыворотки, при которой молоко оставалось еще жидкимъ. Подобное определение дѣлалось одновременно съ 0,5 к. с., 0,1 к. с. и 0,05 к. с. раствора ляба.

ТАБЛИЦА № 3-й.

	1% растворъ ляба	Лошадиная сыворотка	Результатъ	1% растворъ ляба	Лошадиная сыворотка	Результатъ	1% растворъ ляба	Лошадиная сыворотка	Результатъ
1	0,5 к.с.	0,8 к.с.	О	0,1 к.с.	0,145 к.с.	О	0,05 к.с.	0,08 к.с.	О
2	0,5 "	0,75 "	О	0,1 "	0,140 "	О	0,05 "	0,075 "	О
3	0,5 "	0,7 "	О	0,1 "	0,135 "	О	0,05 "	0,07 "	О
4	0,5 "	0,65 "	О	0,1 "	0,130 "	О	0,05 "	0,065 "	О
5	0,5 "	0,6 "	+	0,1 "	0,125 "	О	0,05 "	0,06 "	О
6	0,5 "	0,55 "	+	0,1 "	0,120 "	О	0,05 "	0,055 "	+
7	0,5 "	0,5 "	+	0,1 "	0,115 "	+	0,05 "	0,05 "	+
8	0,5 "	0,45 "	+	0,1 "	0,110 "	+	0,05 "	0,045 "	+

— полное створаживаніе.

О нѣтъ "

Изъ таблицы № 3 видно, что для нейтрализаціи 0,5 к. с. 1% раствора ляба требовалось 0,65 к. с. лошадиной сыворотки, для нейтрализаціи 0,1 к. с. ляба—0,12 к. с. сыворотки и для нейтрализаціи 0,05 к. с.—0,06 к. с. сыворотки. Если

мы смѣсь 0,5 к. с. ляба + 0,65 к. с. лошадиной сыворотки обозначимъ черезъ L_0 и примемъ за единицу, то мы видимъ, что части L_0 точно также неспособны створазить молоко, какъ и цѣлое L_0 . Такъ, молоко остается жидкимъ, если мы прибавляемъ къ нему

- 1) $L_0 = 0,5$ к. с. ляба + 0,65 к. с. сыворотки;
- 2) $\frac{1}{5} L_0 = 0,1$ к. с. ляба + 0,125 к. с. сыворотки;
- 3) $\frac{1}{10} L_0 = 0,05$ к. с. ляба + 0,065 к. с. сыворотки.

Такимъ образомъ, существуетъ прямая пропорціональность между даннымъ количествомъ ляба и количествомъ сыворотки, потребной для его нейтрализаціи.

Къ тому же самому результату приходимъ мы, если въ качествѣ постоянной величины беремъ определенное количество сыворотки.

Какъ видно изъ таблицы № 4, мы получили

$L_0 = 0,3$ к. с. лошадиной сыворотки + 0,14 к. с. ляба
и $\frac{1}{2} L_0 = 0,15$ " " " " + 0,074 " " ляба.
Молоко, получившее, какъ первую L_0 смѣсь, такъ и вторую, равную приблизительно $\frac{1}{2} L_0$ смѣси, осталось жидкимъ.

ТАБЛИЦА № 4-й.

	Лошадиная сыворотка	1% растворъ ляба	Результатъ	Лошадиная сыворотка	1% растворъ ляба	Результатъ
1	0,3 к. с.	0,160 к.с.	+	0,15 к. с.	0,082 к.с.	+
2	0,3 "	0,156 "	+	0,15 "	0,080 "	+
3	0,3 "	0,152 "	+	0,15 "	0,078 "	+
4	0,3 "	0,148 "	+	0,15 "	0,076 "	+
5	0,3 "	0,144 "	+	0,15 "	0,074 "	О
6	0,3 "	0,140 "	О	0,15 "	0,072 "	О
7	0,3 "	0,136 "	О	0,15 "	0,070 "	О
8	0,3 "	0,132 "	О	0,15 "	0,068 "	О
9	0,3 "	0,128 "	О	0,15 "	0,066 "	О

— полное створаживаніе

О нѣтъ "

Изъ вышеприведенныхъ опытовъ очевидно, что между количествомъ ляба и количествомъ сыворотки, которое нужно для нейтрализаціи ляба, существуетъ прямая пропорціональность. Нѣкоторое ограниченіе этого закона въ томъ отношеніи, что меньшія количества сыворотки повидимому въ состояніи нейтрализовать относительно большія количества ляба, на самомъ дѣлѣ только кажущееся, такъ какъ минимальный избытокъ ляба, остающійся неопредѣленнымъ при малыхъ дозахъ смѣси, даетъ о себѣ знать, если количество смѣси увеличивается въ нѣсколько разъ *).

Такимъ образомъ, въ противоположность тому, что мы видѣли при связываніи солей кальція щавелево-кислымъ натромъ, части L_0 смѣси, состоящей изъ сычужнаго фермента и лошадиной сыворотки, въ такой же мѣрѣ неспособны створаживать молоко, какъ и L_0 смѣсь, взятая цѣликомъ.

Соотвѣтственно этому L_0 смѣсь, приготовленная съ лошадиной сывороткой, остается индифферентной, независимо отъ того, на какой объемъ молока ей приходится дѣйствовать.

ТАБЛИЦА № 5-й.

0,15 к. с. лошадиной сыворотки.					
	+ лябъ 1%	+ 5 к. с. молока	+ 10 к. с. молока	+ 15 к. с. молока	+ 20 к. с. молока
1	0,07 к. с.	+	+	+	+
2	0,065 "	+	+	+	+
3	0,060 "	+	+	+	+
4	0,055 "	+	+	+	+
5	0,050 "	+	+	+	+
6	0,045 "	○	○	○	○
7	0,040 "	○	○	○	○
8	0,035 "	○	○	○	○
9	0,030 "	○	○	○	○
10	0,025 "	○	○	○	○

*) См. также Ehrlich, Transactions of the Jenner Institute of Preventive Medicine. London, 1899.

Остается еще посмотрѣть, какъ относится молоко, къ которому прибавлена L_0 смѣсь изъ ляба и лошадиной сыворотки, къ добавленію къ нему новыхъ порцій сычужнаго фермента. Для этихъ опытовъ я пользовался тѣми пробирками изъ предыдущаго опыта, въ которыхъ находилась смѣсь ляба съ сывороткой, содержащая лишь весьма небольшой избытокъ антиляба. Такъ наприимѣръ, я бралъ пробирку, соотвѣтствующую № 6 въ таблицѣ № 5, содержимое которой долгое время (5 часовъ) оставалось жидкимъ въ водяной банѣ при 40° , и приливалъ въ нее 0,1 к. с. 1%-наго раствора ляба. Свёртываніе молока наступало въ нѣсколько секундъ. Даже въ тѣхъ пробиркахъ, которыя сравнительно далеко отстояли отъ границы L_0 и содержали значительный избытокъ свободнаго антиляба, молоко быстро створаживалось послѣ прибавленія 0,1 к. с. ляба.

Такимъ образомъ, въ этомъ случаѣ можно L_0 легко перевести въ $L+$ посредствомъ прибавленія весьма небольшого количества ляба, что совершенно противоположно тому, что мы видимъ при опытахъ съ щавелево-кислымъ натромъ, гдѣ L_0 не измѣнялось, несмотря на прибавленіе громаднхъ дозъ ляба.

Итакъ, дѣйствіе лошадиной сыворотки по своей сущности не имѣетъ ничего общаго съ измѣненіемъ количества солей кальція въ молокѣ, что теперь признаютъ также Fuld и Spirio.

Въ 5 главѣ мы увидимъ, что кровяная сыворотка лошадей и другихъ животныхъ можетъ при нѣкоторыхъ условіяхъ развитъ антиферментное дѣйствіе, которое по своему характеру должно быть строго различаемо отъ такого же дѣйствія сыворотокъ, основаннаго на присутствіи въ нихъ антиляба. Однако, это второе, неспецифическое дѣйствіе кровяныхъ сыворотокъ на сычужный ферментъ мы легко можемъ устранить способомъ, о которомъ будетъ рѣчь ниже.

ГЛАВА IV.

Получение „анти-антиляба“ посредством иммунизации.

Мы представили новое важное доказательство въ пользу того, что антилябъ нормальной лошадиной сыворотки дѣйствительно долженъ быть рассматриваемъ, какъ специфическое антитѣло, тѣмъ, что намъ удалось получить анти-антилябъ, иммунизируя животныхъ лошадиной сывороткой, богатой антилябомъ.

Относительно анти-антиферментовъ мы имѣемъ пока только одно наблюдение Wendelstadt'a ¹⁵².

Wendelstadt приготовлялъ изъ головокъ пивовъ экстрактъ, обладавшій свойствомъ задерживать свертываніе крови. Затѣмъ, иммунизируя животныхъ (кроликовъ) этимъ экстрактомъ, онъ получилъ сыворотку, нейтрализующую упомянутое дѣйствіе экстракта на свертываніе крови (первая сыворотка). Далѣе, приготовленную такимъ путемъ иммунную сыворотку (первая сыворотка) онъ впрыскивалъ одной крысѣ подъ кожу и одному кролику въ вену. Кровяная сыворотка послѣднихъ животныхъ (вторая сыворотка) усиливала задерживающее свертываніе крови дѣйствіе пивочнаго экстракта въ присутствіи первой сыворотки, т. е. дѣйствіе второй сыворотки было направлено противъ дѣйствія первой.

Я иммунизировалъ одну козу въ теченіе 70 дней, впрыснувъ ей за 5 разъ 3100 к. с. свѣжей лошадиной сыворотки. На каждое впрыскиваніе я употреблялъ отъ 500 до 700 к. с. сыворотки.

Ходъ иммунизации виденъ изъ слѣдующаго:

- 1) 8. XII. 01. 550 к. с. активной лошадиной сыворотки подъ кожу.
9. XII. Умѣренный инфильтратъ. Самочувствіе животного удовлетворительно.
10. } Инфильтратъ меньше.
12. }
14. На мѣстѣ впрыскиванія небольшой разлитый инфильтратъ.
19. На мѣстѣ впрыскиванія остался небольшой узелочекъ.
21. То же.
- 2) 24. XII. 01. 650 к. с. активной лошадиной сыворотки подъ кожу.
25. Большой инфильтратъ. Самочувствіе хорошее.
27. Инфильтратъ сдѣлался еще больше.
31. Замѣтное рассасываніе инфильтрата.
2. I. 02. Инфильтратъ еще значительный.
4. Инфильтратъ хорошо рассасывается.
6. } Инфильтратъ небольшой.
7. }
- 3) 14. I. 02. 500 к. с. активной лошадиной сыворотки подъ кожу.
15. Большой инфильтратъ. Самочувствіе хорошее.
18. Инфильтратъ еще довольно значительный.
20. Инфильтратъ уменьшается.
23. } Инфильтратъ небольшой.
25. }
- 4) 29. I. 02. 500 к. с. активной лошадиной сыворотки подъ кожу.
30. Большой инфильтратъ.
1. II. Инфильтратъ уменьшается.
3. } Инфильтратъ малый.
4. }
- 5) 18. II. 02. 700 к. с. активной лошадиной сыворотки подъ кожу.
19. Большой инфильтратъ.
20. Самочувствіе хорошее, но инфильтратъ большой.
27. II. Взято 400 к. с. крови.

На девятый день послѣ послѣдняго впрыскиванія была взята у козы кровь и испытано ея дѣйствіе на антилябъ лошадиной сыворотки.

Оказалось, что кровяная сыворотка иммунизированной мною козы обнаруживала ясно выраженную способность ослаблять нейтрализующее дѣйствіе антиляба лошадиной сыворотки на лябъ, какъ это видно изъ слѣдующаго опыта.

Въ рядъ пробирокъ я отмѣривалъ по 0,15 к. с. діализированной лошадиной сыворотки (см. слѣдующую главу) и по 1 к. с. сыворотки моей иммунизированной козы, а спустя 30 минутъ, я добавлялъ туда же въ убывающихъ количествахъ 1% растворъ ляба. Объемъ жидкости во всѣхъ пробиркахъ доводился помощью водопроводной воды до 2 к. с. и смѣсь снова оставлялась на 15 м. при комнатной температурѣ. (Вліяніе свѣта, какъ въ этомъ, такъ и во всѣхъ остальныхъ опытахъ тщательно устранялось). Послѣ этого въ каждую пробирку приливалось по 10 к. с. молока. Одновременно я ставилъ контрольный опытъ, гдѣ при всѣхъ прочихъ равныхъ условіяхъ вмѣсто сыворотки иммунизированной козы бралась сыворотка нормальной козы и фізіологическій растворъ поваренной соли.

ТАБЛИЦА № 6.

0,15 к. с. діализированной лошадиной сыворотки. +					
	1% растворъ ляба	+1,0 к. с. 0,85% раствора повар. соли	+1,0 к. с. нормальной козьей сы- воротки	+ сыворотки иммуни- зированной козы	
				1,0 к. с.	0,5 к. с.
1	0,12	+	+	+	+
2	0,11	+	+	+	+
3	0,10	+	+	+	+
4	0,09	+	+	+	+
5	0,08	+	О	+	+
6	0,075	+	О	+	+
7	0,070	+	О	+	+
8	0,065	+	О	+	+
9	0,060	О	О	+	+

	1% растворъ ляба	+1,0 к. с. 0,85% раствора повар. соли	+1,0 к. с. нормальной козьей сы- воротки	+ сыворотки иммуни- зированной козы	
				1,0 к. с.	0,5 к. с.
10	0,055	О	О	+	+
11	0,050	О	О	+	+
12	0,04	О	О	+	+
13	0,03	О	О	+	+
14	0,02	О	О	+	+
15	0,01	О	О	+	+
16	0,009	О	О	+	О
17	0,008	О	О	+	О
18	0,007	О	О	+	О
19	0,006	О	О	+	О
20	0,005	О	О	О	О
21	0,004	О	О	О	О
22	0,003	О	О	О	О
23	0,002	О	О	О	О
24	0,001	О	О	О	О

+ полное створаживаніе
О нѣтъ

Изъ приведенной таблицы видно, что нейтрализующее лябъ дѣйствіе лошадиной сыворотки подъ вліяніемъ 1,0 к. с. иммунной козьей сыворотки сдѣлалось въ два раза слабѣе.

Минимальная створаживающая доза ляба для 10 к. с. молока была опредѣлена въ этомъ опытѣ (по способу Моргенрота) равной 0,0007 к. с. 1% раствора.

Если нейтрализующее лябъ дѣйствіе лошадиной сыворотки выразить числомъ минимальныхъ створаживающихъ дозъ ляба, связываемыхъ 0,15 к. с. ея, (мы будемъ обозначать минимальную створаживающую дозу ляба черезъ Т), то мы получимъ слѣдующія цифры:

1) 0,15 к. с. лошадиной сыворотки нейтрализуетъ около 86 Т (0,06:0,0007).

2) 0,15 к. с. лошадиной сыворотки + 1,0 к. с. иммунной козьей сыворотки нейтрализуютъ 7 Т (0,005:0,0007).

3) 0,15 к. с. лошадиной сыворотки + 0,5 к. с. иммунной козьей сыворотки нейтрализует 13 Т.

Чтобы изучить отношение анти-антитѣла, содержащагося въ иммунной козьей сывороткѣ, къ температурѣ, мною были поставлены рядъ опытовъ, которые представлены въ таблицѣ № 7.

ТАБЛИЦА № 7.

0,15 к. с. лошадиной сыворотки.						
	+ 1% растворъ ляба	+ 0,85% растворъ пов. соли 0,5 к. с.	+ иммун. козьей сыво- ротки актив. 0,5 к. с.	+ 0,5 к. с. иммунной козьей сыворотки, нагрѣтой при:		
				70° 1 1/2 часа	75° 30 мин.	80° 1 часъ
1	0,12 к. с.	+	+	+	+	+
2	0,11 "	+	+	+	+	+
3	0,1 "	○	+	+	+	+
4	0,09 "	○	+	+	+	○
5	0,08 "	○	+	+	+	○
6	0,07 "	○	+	+	○	○
7	0,06 "	○	+	○	○	○
8	0,05 "	○	+	○	○	○
9	0,04 "	○	+	○	○	○
10	0,03 "	○	+	○	○	○
11	0,02 "	○	+	○	○	○
12	0,01 "	○	+	○	○	○
13	0,009 "	○	○	○	○	○
14	0,008 "	○	○	○	○	○

+ полное створаживаніе.
 ○ нѣтъ

Примѣчаніе. При нагрѣваніи сыворотка разводилась двойнымъ объемомъ водопроводной воды.

Изъ приведенной таблицы видно, что дѣйствіе иммунной козьей сыворотки противъ антиляба при нагрѣваніи въ теченіе 1 1/2 часа при 70° С. значительно ослаблялось, а при нагрѣваніи въ теченіе часа при 80° С. уничтожалось совсѣмъ.

Дѣйствительно, разница между L_0 , опредѣленнымъ безъ иммунной сыворотки, и L_0 опредѣленнымъ съ прибавленіемъ 0,5 к. с. иммунной сыворотки, нагрѣтой при 80° С., настолько ничтожна, что ею можно вполне пренебречь. Именно:

1) $L_0 = 0,15$ к. с. лошадиной сыворотки + 0,1 к. с. 1% раствора ляба; 2) $L_0 = 0,15$ к. с. лошадиной сыворотки + 0,5 к. с. иммунной козьей сыворотки, нагрѣтой 1 час. при 80° С., + 0,09 к. с. 1% раствора ляба.

Такимъ образомъ, нами доказано, что анти-антилябъ представляетъ изъ себя вещество, которое должно быть признано за типичный продуктъ иммунизации также по своему отношенію къ высокой температурѣ.

Мы видѣли, насколько сильно иммунная сыворотка козы ослабляетъ дѣйствіе лошадиной сыворотки на сычужный ферментъ (лябъ). Невольно напрашивается вопросъ, не зависить ли это явленіе отъ способности иммунной козьей сыворотки створаживать молоко, благодаря чему она могла бы усиливать эффектъ ляба. Здѣсь тѣмъ умѣстнѣе поставить этотъ вопросъ, что помимо теоретическихъ соображеній, не исключających такую возможность, существуетъ работа Fuld'a и Spirio, доказывающая, что способностью створаживать молоко обладаетъ также нормальная лошадиная сыворотка и, въ частности, euglobulin, добытый изъ сыворотки посредствомъ осажденія 1/3 объема насыщеннаго раствора сѣрноукслаго аммонія.

Въ виду этого я сдѣлать нѣсколько опытовъ съ цѣлью испытать дѣйствіе на молоко большихъ дозъ иммунной козьей сыворотки. Одновременно были поставлены такіе же опыты съ нормальными козьей и лошадиной сыворотками.

Я получилъ отрицательные результаты, которые изложены въ слѣдующей таблицѣ.

ТАБЛИЦА № 8.

	Молоко	Сыворотка иммунной козы	Сыворотка нормальной козы	Сыворотка нормальной лошади	
1	10 к. с.	1 к. с.	1 к. с.	1 к. с.	Створа- живанія нѣтъ.
2	"	3 "	3 "	3 "	
3	"	5 "	5 "	5 "	
4	2 к. с.	1 "	1 "	1 "	
5	"	2 "	2 "	2 "	
6	"	3 "	3 "	3 "	
7	"	5 "	5 "	5 "	

ВЫВОДЫ.

Изъ моихъ опытовъ, изложенныхъ въ главахъ III и IV, можно вывести слѣдующія заключенія.

1. Существуетъ прямая пропорціональность между количествомъ ляба и количествомъ лошадиной сыворотки, которое требуется для нейтрализаціи дѣйствія ляба на молоко.

2. При опредѣленныхъ количественныхъ отношеніяхъ между лябомъ и лошадиной сывороткой получается совершенно нейтральная смѣсь (L_0 —смѣсь), которая остается недѣятельной для всякихъ количествъ молока въ отличие отъ нейтральной смѣси ляба и щавелево-кислаго натра, которая при прибавленіи новыхъ порцій молока можетъ превратиться изъ L_0 —въ L_+ .

3) Части L_0 —смѣси, приготовленной съ лошадиной сывороткой, такъ же неспособны створаживать молоко, какъ и вся L_0 —смѣсь, взятая цѣликомъ; съ L_0 —смѣсью, приготовленной изъ ляба и щавелево-кислаго натра, мы получаемъ совершенно обратныя отношенія.

4) Молоко, которое остается жидкимъ послѣ прибавленія къ нему L_0 —смѣси изъ ляба и лошадиной сыворотки, быстро створаживается, если къ нему добавляется небольшой избытокъ ляба; это также совершенно противоположно тому, что мы наблюдаемъ при нейтрализаціи дѣйствія ляба помощью щавелево-кислыхъ солей.

5) Если выпрыскивать козѣ подъ кожу большія количества лошадиной сыворотки, то ея кровяная сыворотка получаетъ специфическое, направленное противъ антиляба дѣйствіе, которое уничтожается подъ вліяніемъ высокой температуры (анти-антилябъ).

6) Такимъ образомъ, можно считать вполне доказаннымъ, что въ лошадиной сывороткѣ существуетъ специфическій антилябъ, который дѣйствуетъ непосредственно на лябъ, подобно тому, какъ антитоксины дѣйствуютъ на токсины.

ГЛАВА V.

О второмъ факторѣ лошадиной кровяной сыворотки, задерживающемъ дѣйствіе сычужнаго фермента на молоко. (Псевдо-антилябъ).

Въ предшествовавшихъ главахъ мы видѣли, что въ нормальной лошадиной сывороткѣ находится специфическое тѣло, Antilab, вступающій въ соединеніе съ лябомъ въ строго опредѣленныхъ количественныхъ отношеніяхъ и обладающій біологическими свойствами, сближающими его съ антитоксинами и прочими антитѣлами (Antikörper), искусственно возникающими въ организмѣ животныхъ при ихъ иммунизациі. Послѣ того, какъ этотъ фактъ былъ прочно установленъ, представлялось весьма интереснымъ и важнымъ въ теоретическомъ отношеніи ближе изучить способъ взаимодѣйствія между лябомъ и антилябомъ.

Съ этой цѣлью я поставилъ рядъ опытовъ, приведшихъ меня къ открытію новыхъ фактовъ, разъясняющихъ нѣкоторыя явленія, наблюдаемыя при дѣйствіи нормальной сыворотки на сычужный ферментъ, что, какъ увидимъ ниже, побудило меня измѣнить нѣсколько методику самого изслѣдованія.

Выше было упомянуто, что для измѣренія ферментативнаго дѣйствія ляба на молоко я пользовался способомъ Моргенрота, при чемъ было также разъяснено (см. гл. III), почему я предпочелъ этотъ именно способъ другому, практиковавшемуся раньше, когда дѣйствіе сычужнаго фермента происходило все время при сравнительно высокой температурѣ (38—40° C.).

Но, кромѣ этихъ, есть еще способы измѣренія силы дѣйствія сычужнаго фермента, въ основу которыхъ положенъ законъ обратной пропорціональности между количе-

ством сычужнаго фермента и временем наступленія створаживанія молока.

Этотъ законъ, установленный для небольшихъ дозъ сычужнаго фермента, створаживающихъ молоко втеченіе минуты, былъ распространенъ недавно Фульдомъ⁶⁵ въ сторону самыхъ большихъ дозъ фермента, створаживающихъ молоко въ немного секундъ. При этомъ Фульдъ предложилъ свой способъ, отличающійся простотой и не требующій никакихъ особыхъ приспособленій. Онъ состоитъ въ слѣдующемъ.

Необходимое для опыта число пробирокъ съ 10 к. с. свѣжаго коровьяго молока нагрѣваютъ до 40° въ освальдовской водяной банѣ. Затѣмъ определенное количество ляба отмѣриваютъ пипеткой въ маленькій оловянный сосудикъ, который осторожно опускаютъ въ пробирку съ молокомъ такъ, чтобы онъ плавалъ на поверхности. При одномъ изъ ударовъ метронома, отсчитывающаго секунды, встряхиваютъ пробирку съ молокомъ, такъ что оловянный сосудикъ съ лябомъ падаетъ на дно; затѣмъ, встряхивая каждый разъ пробирку, отсчитываютъ удары метронома, пока не замѣтятъ на стѣнкахъ пробирки появленія комочковъ створоженнаго молока. Для опыта пользуются широкими пробирками, имѣющими въ діаметрѣ около 2½ сант.

Упомянутыя достоинства метода Фульда, именно, его простота и возможность имѣть определенные результаты въ короткій срокъ при затратѣ лишь небольшого количества матеріала, побудили меня испытать его пригодность для моихъ цѣлей.

Я несущественно измѣнилъ методъ Фульда слѣдующимъ образомъ. Двѣ водяныя бани съ температурою 40° С. служили мнѣ для того, чтобы подогрѣвать молоко до 40° С. и затѣмъ втеченіе опыта поддерживать при той же температурѣ смѣсь сычужнаго фермента съ молокомъ.

Для точнаго определенія времени, которое протекало между прибавленіемъ къ сычужному ферменту молока и створаживаніемъ послѣдняго, я пользовался метрономомъ. Опытъ производился слѣдующимъ образомъ. Въ пробирку,

имѣвшую въ діаметрѣ отъ 2½—3 сант., я отмѣривалъ определенное количество раствора сычужнаго фермента и объемъ жидкости доводилъ до 2 куб. с. съ помощью водопроводной воды. Затѣмъ, держа пробирку съ растворомъ сычужнаго фермента въ правой рукѣ, я погружалъ ее въ одну изъ водяныхъ бань и при одномъ изъ ударовъ метронома быстро вливалъ въ нее 10 к. с. подогрѣтаго молока. Эта смѣсь энергично взбалтывалась при каждомъ ударѣ метронома. Теперь я сосчитывалъ удары метронома, пока не замѣчалъ на стѣнкахъ пробирки комочковъ створоженнаго молока.

Этотъ методъ, удобный для количествъ сычужнаго фермента, створаживающихъ молоко во время до 80 секундъ, оказался плохо примѣнимымъ для меньшихъ количествъ, такъ какъ представлялось весьма затруднительнымъ точно подмѣтить первый моментъ появленія плотныхъ комочковъ: таковые были слишкомъ мелки и образовывались постепенно, сначала лишь въ маломъ количествѣ. Это неудобство неблагоприятно отражается на точности результатовъ.

Изъ многочисленныхъ опытовъ я приведу только три, сдѣланныхъ въ различное время и съ различнымъ молокомъ, но съ тѣмъ же самымъ основнымъ растворомъ сычужнаго фермента. Приводить здѣсь всѣ остальные я считаю излишнимъ, такъ какъ они всѣ по своимъ результатамъ совершенно однородны.

ТАБЛИЦА № 9.

	1% растворъ ляба	ВО СКОЛЬКО СЕКУНДЪ МОЛОКО:	
		Створожилось	Должно было бы створожиться
1	2,0 куб. с.	12 секундъ	12 секундъ
2	1,0 "	24 "	24 "
3	0,75 "	36 "	36 "
4	0,50 "	45 "	48 "
5	0,25 "	85 "	96 "
6	0,2 "	110 "	120 "
7	0,1 "	208 "	240 "

ТАБЛИЦА № 10.

	1% растворъ ляба	ВО СКОЛЬКО СЕКУНДЪ МОЛОКО:	
		Створожилось	Должно было бы створожиться
1	2,0 куб. с.	13 секундъ	13 секундъ
2	1,5 "	19 "	19 ^{1/2} "
3	1,0 "	26 "	26 "
4	0,75 "	36 "	35 "
5	0,5 "	52 "	52 "
6	0,25 "	87 "	104 "

ТАБЛИЦА № 11.

	1% растворъ ляба	ВО СКОЛЬКО СЕКУНДЪ МОЛОКО:	
		Створожилось	Должно было бы створожиться
1	2,0 куб. с.	11 секундъ	11 секундъ
2	1,5 "	15 "	16 "
3	1,0 "	22 "	22 "
4	0,75 "	27 "	33 "
5	0,5 "	41 "	44 "
6	0,25 "	69 "	88 "
7	0,1 "	169 "	220 "
8	0,09 "	189 "	242 "

Итакъ, во всѣхъ опытахъ мы наблюдаемъ одно и то же явление: разъ мы вышли за извѣстныя границы, уже не существуютъ строгой обратной пропорціональности между дозой ляба и временемъ наступленія створаживанія молока. Какъ правило, молоко створаживалось раньше, чѣмъ это слѣдовало бы согласно вычисленію. Это явление я склоненъ въ значительной мѣрѣ объяснить неточностью самаго метода, на что я указалъ уже выше. Но тѣмъ не менѣе, я думаю, что и самый законъ обратной пропорціональности справедливъ лишь въ довольно узкихъ рамкахъ, на примѣръ, при уменьшеніи или увеличеніи дозъ фермента

въ 3—4 раза*). То же самое явленіе можно наблюдать и въ одномъ изъ опытовъ Фульда. Такъ при 0,8 к. с. фермента онъ получилъ створаживаніе молока въ 6 секундъ, а при 0,1 к. с. въ 45 секундъ вмѣсто 48.

Но, оставивъ этотъ вопросъ въ сторонѣ, какъ не имѣющій прямого отношенія къ моей задачѣ, я хочу лишь указать на то, что мои опыты убѣдили меня въ непригодности метода Фульда для моей цѣли. Чтобы имѣть сколько нибудь надежные результаты, мнѣ пришлось бы каждый разъ устанавливать контроль съ опредѣленнымъ растворомъ сычужнаго фермента, такъ какъ прямое вычисленіе даетъ цифры, значительно отклоняющіяся отъ дѣйствительныхъ. А это въ значительной мѣрѣ осложнило бы работу.

Это побудило меня предпочесть методъ Моргенрота, съ которымъ я всегда могъ имѣть весьма точные результаты и который кромѣ того давалъ мнѣ абсолютныя цифры, выражающія створаживающую способность ляба безъ отношенія ко времени его дѣйствія (такъ какъ время=24 часамъ оставалось во всѣхъ опытахъ постояннымъ).

Въ дальнѣйшемъ изложеніи мы будемъ обозначать чрезъ L_0 то количество сычужнаго фермента (ляба), которое какъ разъ нейтрализуется опредѣленнымъ, произвольно выбраннымъ количествомъ сыворотки, такъ что въ смѣси не остается ни одного свободного элемента ни ляба, ни антиляба. Въ этомъ отношеніи я слѣдую Эрлиху, который при опредѣленіи силы дифтерійной сыворотки называетъ L_0 дозой такое количество дифтерійнаго яда, которое вполне нейтрализуется опредѣленной, также произвольно выбранной, иммунизирующей единицей антитоксина.

При опредѣленіи L_0 дозы первая задача состоитъ въ томъ, чтобы найти условія, при которыхъ имѣетъ мѣсто полное насыщеніе ляба антилябомъ, но такъ, чтобы при этомъ лябъ не разрушался вслѣдствіе какихъ либо постороннихъ причинъ. Уже поэтому было ясно, что при такъ называемомъ

*) См. также Duclaux: Traité de microbiologie. T. 2. 1899.

„прямымъ способъ“ (см. гл. III), относительно котораго мы подробно показали, что онъ обусловливаетъ разрушеніе нѣкотораго количества ляба, опредѣленіе L_0 дозы дать неправильные результаты. Въ самомъ дѣлѣ мы нашли, что, какъ показываетъ нижеслѣдующая таблица № 12, при пользованіи „прямымъ“ способомъ данное количество сыворотки нейтрализуетъ значительно большее количество сычужнаго фермента, чѣмъ при второмъ „непрямомъ“ способѣ, предложенномъ Моргенротомъ для опредѣленія минимальной створаживающей дозы ляба. Что при этомъ дѣло идетъ не только о разрушеніи фермента высокой температурой, но также и о другомъ факторѣ, мы убѣдились изъ дальнѣйшихъ нашихъ изслѣдованій.

ТАБЛИЦА № 12.

Опредѣленіе L_0 дозы (лябъ + лошадиная сыворотка 15 мин. при комнатной температурѣ).

1% раствора ляба	Лошадиная сыворотка	ОПРЕДѢЛЕНІЕ	
		II „непрямой способъ“ по Моргенроту	I „прямой“ способъ
0,5 к. с.	1,16 к. с.	О	О
„	1,12 „	О	О
„	1,08 „	О	О
„	1,04 „	=	О
„	1,00 „	+	О
„	0,96 „	+	О
„	0,92 „	+	О
„	0,88 „	+	О
„	0,84 „	+	О
„	0,80 „	+	О
„	0,76 „	+	О
„	0,72 „	+	О
„	0,68 „	+	О
„	0,64 „	+	+
„	0,60 „	+	+

+ полное створаживаніе
О нѣтъ

Опытъ ставился слѣдующимъ образомъ. Въ пробирки, содержащія каждая по 0,5 к. с. 1% раствора ляба, прибавляется убывающее количество лошадиной сыворотки и объемъ жидкости доводится помощью водопроводной воды до 2 к. с. Смѣсь оставляется стоять при комнатной температурѣ 15 м., затѣмъ прибавляется въ каждую пробирку по 10 к. с. молока и дальше поступаютъ двоякимъ образомъ, именно: одинъ рядъ пробирокъ помѣщается прямо въ водяную баню при 38—40° С. („прямой“ методъ), а другой такой же ставится до слѣдующаго дня въ ледникъ при +8°, а затѣмъ въ водяную баню при 38—40° („непрямой“ методъ).

Такимъ образомъ, въ зависимости отъ способа, которымъ мы пользовались, были опредѣлены двѣ L_0 смѣси:

1) по „прямому способу“

$$L_0 = 0,5 \text{ ляба} + 0,68 \text{ к. с. лошадиной сыворотки.}$$

2) по „непрямому“ способу

$$L_0 = 0,5 \text{ к. с. ляба} + 1,08 \text{ к. с. лошадиной сыворотки.}$$

Что въ данномъ случаѣ мы имѣемъ дѣло дѣйствительно съ избыткомъ свободного ляба, не обнаруживаемомъ по прямому способу, доказывается слѣдующимъ образомъ. Опредѣляется по „прямому“ способу $L_0 = 0,5 \text{ Lab} + 0,68 \text{ лошади. сыв.}$. Затѣмъ въ пробиркахъ готовится слѣдующая смѣсь:

$$1) L_0 = 0,5 \text{ Lab} + 0,68 \text{ лошади. сыв.}, 2) \frac{1}{2} L_0 = 0,25 + 0,34.$$

$$3) \frac{1}{4} L_0 = 0,125 + 0,17. 4) \frac{1}{8} L_0 = 0,0625 + 0,085.$$

$$5) \frac{1}{16} L_0 = 0,03125 + 0,0425.$$

Послѣ того какъ пробирки со смѣсью ляба и сыворотки простояли 15 минутъ при комнатной температурѣ, въ нихъ прибавляется по 10 к. с. молока и пробирки помѣщаются сначала на ночь въ ледникъ при +8°, а затѣмъ въ водяную баню при 38—40° С. Уже спустя нѣсколько минутъ, молоко створаживается въ первыхъ четырехъ пробиркахъ, тогда какъ въ 5-ой остается жидкимъ.

Такимъ образомъ, въ L_0 по „прямому“ способу оставалось не нейтрализованнымъ болѣе 8 миним. створажив. дозъ ляба.

Чтобы ближе изслѣдовать это явленіе, я поступилъ слѣдующимъ образомъ. Сначала была опредѣлена такая смѣсь

ляба и лошадиной сыворотки (0,5 к. с. 1% раствора ляба + 0,72 к. с. лошадиной сыворотки), которая, будучи прибавлена къ 10 к. с. молока, не створаживала его, если пробирки непосредственно послѣ этого помѣщались въ водяную баню при 38—40° С. Это была L_0 смѣсь, опредѣленная по „прямому“, т. е. 1-му способу. Но эта смѣсь, какъ выше было показано, содержитъ избытокъ свободного ляба, который обнаруживается при пользованіи „непрямымъ“, т. е. Моргенротовскимъ способомъ. Теперь я изслѣдовалъ, остается ли этотъ избытокъ свободного ляба постояннымъ или измѣняется, если лябъ и лошадиная сыворотка остаются во взаимномъ соприкосновеніи болѣе продолжительное время. Для этой цѣли я оставлялъ смѣсь изъ ляба и сыворотки стоять при комнатной температурѣ 16—32—48—64 и 128 минутъ и по истеченіи этого времени изслѣдовалъ ее на присутствіе свободного ляба.

Эта работа была довольно кропотлива. Для каждого отдѣльнаго промежутка времени я приготовлялъ 5 пробирокъ съ указанной выше смѣсью (0,5 к. с. + 0,72 к. с. лошадиной сыворотки). Одна изъ этихъ пробирокъ по истеченіи даннаго промежутка времени тотчасъ же помѣщалась въ ледникъ до слѣдующаго утра. Четыре остальные пробирки служили для того, чтобы опредѣлить, сколько времени нужно было находиться смѣси при 38—40° С., чтобы избытокъ свободного ляба былъ уничтоженъ.

Мы нашли, что для того, чтобы нашу смѣсь сдѣлать также нейтральною при опредѣленіи по способу Моргенрота, ее нужно было нагрѣвать при 40° С. 50 мин., если она простояла при комнатной температурѣ 16 минутъ. Для той же цѣли, смѣсь, простоявшую при комнатной температурѣ 32 минуты, достаточно было нагрѣвать 30 минутъ, простоявшую 64 минуты—15 минутъ, а простоявшую 128 минутъ—всего 6 минутъ. Особый контроль, заключавшійся въ томъ, что пробирки со смѣсью ляба съ сывороткой послѣ пребыванія ихъ въ теченіе опредѣленнаго времени при комнатной температурѣ переносились прямо въ ледникъ (см. 1-й столбецъ таблицы № 13), показалъ, что свободный лябъ, опредѣляемый по спо-

собу Моргенрота, исчезалъ изъ смѣси почти совершенно чрезъ 128 минутъ, такъ что получалось лишь частичное створаживаніе молока. Изъ этого опыта видно, что опредѣленное количество сыворотки нейтрализуетъ съ теченіемъ времени все большее количество ляба, причемъ этотъ процессъ имѣетъ мѣсто уже при комнатной температурѣ, такъ что въ концѣ концовъ результаты, полученные при 38—40° и при комнатной температурѣ, уравниваются между собою.

Эти отношенія еще лучше видны при слѣдующей постановкѣ опыта.

3 ряда пробирокъ съ L_0 смѣсью, опредѣленно по „прямому“ способу, были помѣщены при различной температурѣ, именно, одинъ рядъ при комнатной температурѣ, другой при +32° С. и третій при +40° С. Чрезъ 5—10—16 и т. д. минутъ, какъ то показано въ таблицѣ № 14, изъ каждаго ряда вынималось по одной пробиркѣ, прибавлялось въ нее 10 к. с. молока и смѣсь ставилась въ ледникъ до слѣдующаго дня, а затѣмъ въ водяную баню при 38—40° С.

ТАБЛИЦА № 13.

Время взаимнаго соприкосновенія ляба и лошадиной сыворотки (въ L_0 смѣси) при комнатной температурѣ предъ прибавленіемъ молока	Пребываніе L_0 смѣси въ водяной банѣ при 36—40°С. послѣ прибавленія къ ней 10 к. с. молока				
	0	6 мин.	15 мин.	30 мин.	50 мин.
16 минутъ	+	+	+	±	О
32 „	+	+	±	О	О
48 „	+	±	О	О	О
64 „	+	±	О	О	О
128 „	—	О	О	О	О

+ створаживаніе; ± почти полное створаживаніе; — незначительное створаживаніе; О створаживанія нѣтъ; $L_0 = 0,5$ к. с. 1% раствора ляба + 0,72 к. с. лошадиной сыворотки.

ТАБЛИЦА № 14.

Время взаимнаго соприкосновенія ляба и лошадиной сыворотки въ L ₀ смѣси (0,5 к. с. 1% раствора ляба + 0,72 к. с. лошадиной сыворотки).	При комнатной температур.	При + 32° С.	При + 40° С.
5 минутъ	+	+	О
10 " 	+	+	О
16 " 	+	О	О
32 " 	+	О	О
48 " 	+	О	О
64 " 	+	О	О
128 " 	—	О	О

Такимъ образомъ, при комнатной температурѣ свободный лябъ исчезалъ изъ смѣси черезъ 128 минутъ почти совершенно; при 32° С. черезъ 16 минутъ совершенно и при + 40° С. его не было уже черезъ 5 минутъ. Эти опыты наглядно показали намъ, какое громадное вліяніе на величину L₀ имѣетъ температура и продолжительность соприкосновенія ляба и лошадиной сыворотки. Очевидно, что при этихъ условіяхъ было совершенно немыслимо достигнуть точной нейтрализаціи ляба лошадиной сывороткой.

Въ слѣдующихъ опытахъ мы попытались опредѣлить минимальное количество сыворотки, которое въ состояніи нейтрализовать данное количество ляба при температурѣ 36—40° С.

Для этой цѣли я приготовлялъ 6 серій пробирокъ, изъ которыхъ каждая содержала по 0,5 к. с. 1% раствора ляба и въ убывающемъ количествѣ лошадиную сыворотку. Объемъ жидкости былъ уравниенъ и пробирки поступали въ водяную баню или термостатъ при 37° С. Черезъ 1, 2, 3, 4, 5 и 6 часовъ изъ термостата вынималась одна серія пробирокъ и въ каждую пробирку приливалось по 10 к. с. молока. Затѣмъ эта смѣсь помѣщалась до слѣдующаго утра въ ледникъ (при + 8° С.), а оттуда въ водяную баню при + 38—40° С.

Послѣ часоваго пребыванія въ термостатѣ количество сыворотки, нужное для нейтрализаціи 0,5 к. с. ляба, значительно уменьшалось и достигало 0,42 к. с. вмѣсто 1,08 к. с., опредѣленныхъ чрезъ 15 мин. при комнатной температурѣ. Это уменьшеніе продолжалось, хотя гораздо медленнѣе, въ теченіе слѣдующихъ 2-хъ часовъ, чтобы, наконецъ, обыкновенно къ концу 3-го часа, достигъ постоянной величины, которая не измѣнялась чрезъ 4, 5 и 6 часовъ. Въ этомъ случаѣ L₀ равнялось 0,36 к. с. ляба чрезъ 2 часа и 0,28 чрезъ 3 и 4 часа.

Итакъ, мы имѣли теперь двѣ сравнительно постоянныя величины для L₀: одну, опредѣляемую послѣ кратковременнаго (15 мин.) дѣйствія лошадиной сыворотки на лябъ при комнатной температурѣ, и другую—послѣ 3-хъ часоваго дѣйствія при 37—40° С.

Ключъ для пониманія этого явленія намъ дало изученіе тѣхъ же отношеній съ козьей сывороткой.

Козья сыворотка лишена способности нейтрализовать дѣйствіе ляба, какъ это показали еще Моргенротъ, который работалъ съ непрямымъ способомъ (методъ 2-й).

То же самое могу подтвердить и я на основаніи своихъ опытовъ съ опредѣленіемъ L₀ по принятому мною способу (смѣсь ляба и сыворотки находится 15 мин. при комнатной температурѣ, затѣмъ приливается молоко и пробирки ставятся въ ледникъ до слѣдующаго утра). Напротивъ того, я наблюдалъ, что послѣ трехъ-часоваго дѣйствія козьей сыворотки на лябъ при 37° наступало весьма замѣтное уменьшеніе створаживающей силы ляба. 1 к. с. козьей сыворотки при этихъ условіяхъ нейтрализовалъ 500—700 минимальныхъ створаживающихъ дозъ ляба. Такъ, на примѣръ, въ одномъ изъ опытовъ 1 к. с. козьей сыворотки нейтрализовалъ 0,4 к. с. 1% раствора ляба, минимальная створаживающая доза котораго равнялась 0,0007 к. с.

Козья сыворотка удерживаетъ это свойство также послѣ 2-хъ часоваго кипяченія и теряетъ его совершенно или въ большей части при діализаціи.

Такимъ образомъ, было доказано, что въ козьей сывороткѣ должно существовать другого рода, чѣмъ антилябъ,

уничтожающее лябъ вещество, которое по своимъ свойствамъ существенно отличается отъ типичнаго антиляба, именно: 1) оно устойчиво по отношенію къ дѣйствию высокихъ температуръ и 2) оно легко проходитъ чрезъ животныя перепонки. Поэтому мы назвали его псевдо-антилябъ⁷⁸.

Это второе, направленное противъ ляба вещество, находится также и въ лошадиной сывороткѣ и оно то и обуславливаетъ тѣ осложненія, которыя мы встрѣчаемъ, если заставляемъ дѣйствовать лошадиную сыворотку на лябъ при высокой температурѣ или болѣе долгое время при средней, такъ какъ тогда эффектъ дѣйствія складывается изъ двухъ факторовъ.

Намъ удалось посредствомъ діализаціи устранить изъ лошадиной сыворотки этотъ второй факторъ и мы получили жидкость, которая заключала въ себѣ растворъ только типичнаго антиляба.

Этотъ послѣдній антилябъ характеризуется тремя свойствами:

- 1) дѣйствіе его нейтрализуется посредствомъ анти-антиляба,
- 2) уничтожается подъ вліяніемъ нагрѣванія,
- 3) при опредѣленіи L_0 онъ даетъ устойчивые и вполне надежные результаты.

Мы представимъ здѣсь нѣсколько опытовъ относительно втораго найденнаго мною фактора, парализующаго дѣйствіе ляба (псевдоантиляба).

Лошадиная сыворотка діализировалась въ теченіе 48 часовъ въ проточной водопроводной водѣ. Для задержки развитія бактерій прибавлялось нѣсколько кусочковъ камфоры. Послѣ діализаціи сыворотка освобождалась отъ эуглобулина посредствомъ центрофугированія и въ такомъ видѣ было испытано ея дѣйствіе противъ сычужнаго фермента двоякимъ способомъ: послѣ нахожденія сыворотки въ смѣси съ лябомъ втеченіе 15 минутъ при комнатной температурѣ и втеченіе трехъ часовъ при 37° С. въ термостатѣ.

Параллельно съ этимъ дѣлалось подобнаго же рода опредѣленіе съ недіализированной лошадиной сывороткой.

Въ этихъ опытахъ я бралъ всегда въ качествѣ постоянной величины 0,15 к. с. лошадиной сыворотки и точно опредѣлялъ количество ляба, которое нейтрализуется этимъ количествомъ сыворотки.

При этихъ опытахъ, какъ постоянное явленіе, обнаружилось, что антиферментное дѣйствіе лошадиной сыворотки, испытанное по первому способу, не только не ослабѣвало послѣ діализаціи, но наоборотъ, всегда нѣсколько усиливалось. Такъ, напримѣръ, если 0,15 к. с. недіализированной лошадиной сыворотки нейтрализовали 0,064 к. с. 1% раствора ляба, то послѣ діализаціи то же количество лошадиной сыворотки нейтрализовало 0,075 к. с. ляба.

Совершенно противоположное явленіе наблюдалось при опредѣленіи L_0 по второму способу, т. е. послѣ трехъ часовъ взаимодѣйствія между лябомъ и сывороткой при 37° С. Именно, діализированная сыворотка нейтрализовала гораздо меньшія количества сычужнаго фермента, чѣмъ та же самая сыворотка до діализаціи.

ТАБЛИЦА № 15.

Методъ 1. (Лябъ и сыворотка во взаимномъ соприкосновеніи 15 минутъ при комнатной температурѣ).

Къ недіализированной порціи сыворотки приливалось столько водопроводной воды, насколько увеличился объемомъ діализированной порціи ея.

0,15 к. с. лошадиной сыворотки. +			
1% раствора ляба	Лошадиная сыворотка недіализиро- ванная	Лошадиная сыворотка діализированная	
		euglobulin отцентрофугирован.	euglobulin снова растворенъ
0,07 к. с.	+	+	+
0,065 „	+	+	+
0,060 „	+	+	○
0,055 „	+	○	○
0,050 „	+	○	○
0,040 „	○	○	○
+ створаживаніе		○ створаживанія нѣтъ.	

ТАБЛИЦА № 16.

Методъ 2. (Лябъ и сыворотка во взаимномъ соприкосновении 3 часа при 37° С.).

0,15 к. с. лошадиной сыворотки. +			
1% раствор. ляба	Лошадиная сыворотка недiализиро- ванная	Лошадиная сыворотка дiализированная	
		безъ euglobulin	euglobulin снова растворенъ
0,22 к. с.	+	+	+
0,20 "	+	+	+
0,18 "	О	+	+
0,16 "	О	+	+
0,14 "	О	+	+
0,12 "	О	+	+
0,10 "	О	+	+
0,095 "	О	+	+
0,090 "	О	+	+
0,085 "	О	+	+
0,080 "	О	+	+
0,075 "	О	+	+
0,070 "	О	+	+
0,065 "	О	+	+
0,060 "	О	О	О
0,055 "	О	О	О
0,050 "	О	О	О

+ створаживаніе

О створаживанія нѣтъ.

Теперь возникаетъ вопросъ, выпадало ли вещество, дѣйствующее при температурѣ термостата (+ 37° С.), вмѣстѣ съ euglobulin'омъ при дiализаціи, или же оно проходило чрезъ животную перепонку. Поэтому я ставилъ слѣдующій опытъ. Лошадиная сыворотка дiализировалась втеченіе 48 часовъ, затѣмъ тщательно взбалтывалась съ выпавшимъ осадкомъ и дѣлилась на двѣ порціи. Одна порція подвергалась центрофугированію и осторожно сливалась съ осадка, а въ другой—выпавшій эуглобулинъ снова растворялся прибавленіемъ

0,6% раствора поваренной соли. Оказалось, что обѣ порціи имѣли одинаковое дѣйствіе на лябъ (см. таблицы №№ 15 и 16). Вмѣстѣ съ тѣмъ мы должны придти къ заключенію, что значительная часть вещества, которое дѣйствуетъ на лябъ при 37°, легко проходить чрезъ животныя перепонки.

Мы опредѣлили для L_0 слѣдующія величины (см. таблицы № 15 и 16).

I. Недiализированная лошадиная сыворотка.

По методу 1: $L_0 = 0,04$ к. с. ляба + 0,15 к. с. лошадиной сыворотки.

" 2: $L_0 = 0,18$ " " + 0,15 " " "

II. Дiализированная лошадиная сыворотка.

A. Эуглобулинъ удаленъ.

По методу 1: $L_0 = 0,055$ к. с. ляба + 0,15 к. с. сыворотки.

" 2: $L_0 = 0,06$ " " + 0,15 " " "

B. Эуглобулинъ растворенъ.

По методу 1: $L_0 = 0,06$ к. с. ляба + 0,15 к. с. сыворотки.

" 2: $L_0 = 0,06$ " " + 0,15 " " "

Вмѣстѣ съ тѣмъ сближается доза, опредѣляемая съ дiализированной лошадиной сывороткой послѣ 15 минутнаго взаимодѣйствія между лябомъ и сывороткой при комнатной температурѣ, и доза, опредѣляемая послѣ 3-хъ часовъ такого же взаимодѣйствія въ термостатѣ при 37° С. (0,055 к. с. и 0,06 к. с. ляба по обоимъ методамъ).

Отсюда вытекаетъ чрезвычайно важное требованіе, чтобы при всѣхъ опредѣленіяхъ, касающихся типичнаго антиляба, употреблялась исключительно дiализированная сыворотка.

Далѣе я изслѣдовалъ отношеніе антиферментнаго дѣйствія лошадиной сыворотки къ высокой температурѣ.

Я нагревалъ кровяную сыворотку, разведя ее въ 5 разъ водопроводной водой.

При этомъ представлялось возможнымъ кипятить сыворотку безъ опасенія получить свертываніе бѣлка.

Указаннымъ образомъ разведенная и кипяченая втеченіе часа лошадиная сыворотка обладала лишь въ совершенно ничтожной степени способностью нейтрализовать лябъ при испытаніи по 1-му методу, т. е. послѣ 15 мин. пребы-

ванія при комнатной температурѣ въ смѣси съ сычужнымъ ферментомъ.

Но если такую недіализированную кипяченую сыворотку заставить дѣйствовать на сычужный ферментъ при температурѣ термостата, то $L_0=0,2$ к. с. сыворотки $-0,16$ к. с. ляба т. е. 1 к. с. сыворотки нейтрализовалъ 228 минимальныхъ створаживающихъ дозъ фермента.

Такимъ образомъ, 1) псевдо-антилябъ представляетъ изъ себя вещество въ высшей степени устойчивое по отношенію къ дѣйствію высокой температуры и 2) при комнатной температурѣ онъ развиваетъ свое дѣйствіе на лябъ весьма медленно. Что это за вещество и какъ оно дѣйствуетъ, мы не рѣшаемся высказать никакого предположенія. Во всякомъ случаѣ его функція не основана на связываніи солей кальція, противъ чего говоритъ строгая пропорціональность, существующая между его количествами и количествами нейтрализуемаго имъ ляба (см. таблица № 17).

III. Псевдоантилябъ дѣйствуетъ непосредственно на лябъ и характеризуется указанными нами выше признаками.

ТАБЛИЦА № 17.

Опредѣленіе L_0 дозы съ помощью козьей сыворотки послѣ 3-хъ часового дѣйствія послѣдней на сычужный ферментъ при 37° С. (простая створаживающая доза ляба = $0,0007$ к. с. 1% раствора).

Козья сыворотка	1% раствора ляба	Результатъ	Козья сыворотка	1% раствора ляба	Результатъ	Козья сыворотка	1% раствора ляба	Результатъ	Козья сыворотка	1% раствора ляба	Результатъ
к. с.	к. с.		к. с.	к. с.		к. с.	к. с.		к. с.	к. с.	
1,0	0,7	+	0,5	0,35	+	0,25	0,25	+	0,1	0,07	+
1,0	0,6	+	0,5	0,30	+	0,25	0,2	+	0,1	0,06	+
1,0	0,5	+	0,5	0,25	+	0,25	0,15	+	0,1	0,05	+
1,0	0,4	○	0,5	0,2	○	0,25	0,1	○	0,1	0,03	○
1,0	0,3	○	0,5	0,15	○	0,25	0,08	○	0,1	0,02	○
—	—	—	0,5	0,1	○	0,25	0,06	○	0,1	0,01	○

+ створаживаніе.

○ створаживанія нѣтъ.

На основаніи всего вышесказаннаго я позволяю себѣ сдѣлать слѣдующія заключенія:

1) Въ нормальной кровяной сывороткѣ лошади, кромѣ специфическаго антиляба, находится повидимому другое вещество, названное мною „псевдоантилябомъ“, которое также нейтрализуетъ дѣйствіе сычужнаго фермента на молоко, причемъ при комнатной температурѣ оно дѣйствуетъ медленно, а при 37° значительно быстрее и энергичнее. Это вещество отличается отъ ляба тѣмъ, что оно не разрушается при кипяченіи и сравнительно легко проходитъ чрезъ животныя перепонки.

2) Діализированная въ теченіе двухъ сутокъ лошадиная сыворотка свободна отъ „псевдо-антиляба“ и нейтрализуетъ сычужный ферментъ, только благодаря присутствію въ ней специфическаго антиляба.

3) Соединеніе антиляба лошадиной сыворотки съ сычужнымъ ферментомъ заканчивается уже черезъ 15 минутъ взаимнаго соприкосновенія при комнатной температурѣ.

4) Правильный методъ опредѣленія L_0 дозы сычужнаго фермента заключается въ томъ, чтобы употреблять исключительно діализированную въ теченіе двухъ сутокъ лошадиную сыворотку и для опредѣленія свободного сычужнаго фермента пользоваться способомъ, предложеннымъ Моргенротомъ, т. е. пробирки со смѣсью изъ сычужнаго фермента, лошадиной сыворотки и молока нужно сначала помѣщать на сутки въ ледникъ (при $+8^{\circ}$ С.) и затѣмъ только подвергать дѣйствію температуры, наиболѣе благоприятствующей дѣйствію сычужнаго фермента.

ГЛАВА VI.

О строении частицы сычужного фермента и о „лябоидах“.

Съ тѣхъ поръ, какъ удалось получить специфическіе микробные яды въ изолированномъ отъ тѣла микробовъ состояніи и подвергнуть ихъ тщательному изученію, многими авторами (Roux, Yersin и др.) указывалось на разительное сходство токсиновъ съ энзимами.

Нѣкоторые изслѣдователи (Roux, Yersin, Brieger, Emmerich и др.) пошли въ этомъ направленіи такъ далеко, что высказались за принадлежность токсиновъ къ группѣ энзимовъ.

Однако, это мнѣніе получило для себя прочное основаніе лишь послѣ того, какъ посредствомъ иммунизации животныхъ были получены антиэнзимы, которые по своему происхожденію и по способу дѣйствія оказались вполне аналогичными антитоксинамъ.

Первая удачная попытка въ этомъ направленіи принадлежитъ Hildebrand'y⁷³, иммунизовавшему животныхъ эмульсиномъ. Затѣмъ v. Dungern'y⁴¹ удалось такимъ же образомъ приготовить антиэнзимы для нѣкоторыхъ протеолитическихъ энзимовъ, выделяемыхъ патогенными микробами.

Morgenroth¹⁰⁵ и одновременно съ нимъ Briot¹⁹ получили антилябъ, иммунизируя животныхъ сычужнымъ ферментомъ.

Въ послѣднее время такимъ же образомъ былъ приготовленъ цѣлый рядъ различныхъ антиэнзимовъ, именно: противъ *Cynara cardunculus*¹⁰⁶, противъ трипсина¹, противъ тирозиназы⁶⁷ и противъ пепсина¹³⁶, такъ что возможность искусственно готовить антиэнзимы можно разсматривать какъ общее твердо установленное правило.

Изъ свойства энзимовъ вызывать при повторномъ введеніи въ организмъ животного образованіе специфическихъ антитѣлъ вытекаютъ, на основаніи теоріи „боковыхъ цѣпей“ Ehrlich'a, слѣдующія теоретическія заключенія, сформулированныя Morgenroth'омъ¹⁰⁵ такимъ образомъ: „возникаетъ важный вопросъ, какъ слѣдуетъ представить себѣ образованіе антиляба? Согласно теоріи „боковыхъ цѣпей“, мы должны принять, что антилябъ образуется тѣми органами, которые обладаютъ въ своей клѣточной протоплазмѣ боковыми цѣпями, способными присоединить къ себѣ частицы сычужнаго фермента. Изъятыя вслѣдствіе соединенія съ энзимомъ боковыя цѣпи въ избыткѣ регенерируются протоплазмой, теряютъ съ нею связь и появляются въ крови въ свободномъ состояніи въ видѣ антитѣла, какъ это принимаетъ Ehrlich для образованія антитоксиновъ. Изъ такого представленія вытекаетъ требованіе, чтобы сычужный ферментъ, подобно токсинамъ, имѣлъ специфическую гаптофорную группу. Такъ какъ далѣе доказано, что гаптофорная группа токсиновъ играетъ лишь роль посредника для специфическаго ядовитаго дѣйствія другой „токсофорной“ группы, то, принявъ во вниманіе сходство токсиновъ съ энзимами въ другихъ отношеніяхъ, мы должны естественно придти къ заключенію, что и молекула энзимовъ построена также, какъ молекула токсиновъ, т. е. что она, кромѣ „гаптофорной“—связывающей—группы, должна еще обладать другой „цимофорной“, которая обуславливаетъ специфическое ферментативное дѣйствіе“. (Morgenroth: „über den Antikörper des Labenzym“ Centralblatt f. Bakter. u. s. w. I. Abt. 1899. Bd. XXVI. S. 358).

Однако, это не болѣе, какъ теоретическія соображенія, не имѣвшія за собой прямыхъ фактическихъ доказательствъ.

Поэтому до сихъ поръ не было исключено другое противоположное толкованіе. Именно, можно было допустить, что, въ отличіе отъ токсиновъ, энзимы имѣютъ одну лишь активную атомную группу, которая, являясь носительницей специфическаго ферментативнаго дѣйствія, въ то же время

обладаетъ способностью прямо соединяться съ субстратомъ, на который она дѣйствуетъ, а съ другой стороны она же находитъ себѣ въ организмѣ подходящіе рецепторы и, такимъ образомъ, ведетъ къ образованію специфическихъ антитѣлъ.

Отсутствіе прямыхъ экспериментальныхъ данныхъ, доказывающихъ, что частица энзима построена аналогично частицѣ токсина, т. е. что въ ней также имѣются двѣ аналогично функционирующія группы—„гаптофорная“ и „цимофорная“, оставалось пробѣломъ въ ученіи о родствѣ энзимовъ съ токсинами.

Мы сдѣлали попытку выполнить этотъ пробѣлъ, столь существенный съ точки зрѣнія теоріи Ehrlich'a, воспользо-вавшись тѣмъ методомъ, который примѣнилъ Ehrlich при изслѣдованіи токсиновъ.

Какъ извѣстно, Ehrlich доказалъ, что въ частицѣ токсиновъ нужно принять двѣ характеризующія ихъ группы: „токсофорную“, носительницу специфическаго дѣйствія токсиновъ, и „гаптофорную“, являющуюся посредницей между протоплазмой и „токсофорной“ группой токсина, которая можетъ воздѣйствовать на протоплазму, лишь соединившись съ ней при помощи гаптофорной группы.

Сущность доказательствъ Ehrlich'a⁴⁶ заключается въ томъ, что онъ посредствомъ тщательнаго изученія отношеній между количествами дифтерійныхъ токсиновъ и анти-токсиновъ, потребныхъ для взаимной нейтрализаціи, показалъ, что ядовитое дѣйствіе токсиновъ и ихъ способность связывать антитѣла—суть двѣ раздѣлимые функціи. Для характеристики этихъ функцій по Ehrlich'у служатъ три основныя величины: минимальная смертельная доза—для сужденія о ядовитомъ дѣйствіи токсиновъ и двѣ величины L_0 и L_+ для сужденія объ ихъ нейтрализующей способности. Мы уже знаемъ, что L_0 дозой токсина называется то количество его, которое совершенно обезвреживается посредствомъ опредѣленнаго, принимаемаго за единицу количества антитоксина (1 иммунизирующая единица). L_+ есть то количество токсина, которое нейтрализуется 1 иммунизиру-

ющей единицей токсина настолько, что остается свободной ровно одна минимальная смертельная доза токсина.

Если бы токсичность и способность нейтрализовать антитоксинъ были бы выраженіемъ одной и той же функціи токсина, то всѣ три упомянутыя величины, какъ та, которая служить выраженіемъ ядовитаго дѣйствія токсиновъ, такъ и тѣ, которыя служатъ для опредѣленія его нейтрализующей способности, всегда оставались бы тѣсно связанными между собою и измѣнялись бы параллельно другъ другу. Однако, мы видѣли, что Ehrlich'у удалось доказать совершенно обратное. Именно, онъ наблюдалъ значительное ослабленіе токсичности при сохраненіи нейтрализующей способности дифтерійнаго яда. Такимъ образомъ, было доказано, что существуетъ неядовитая разновидность дифтерійнаго токсина, сохраняющая въ полной мѣрѣ свою нейтрализующую способность по отношенію къ антитоксину. Эта разновидность токсиновъ названа Ehrlich'омъ токсондомъ.

Въ настоящее время доказано, что подобныя, потерявшія ядовитость образованія, не составляютъ исключительную принадлежность дифтерійнаго токсина, но что они равнымъ образомъ встрѣчаются у другихъ токсиновъ, а равно и у цѣлаго ряда аналогичныхъ ядовъ, а именно:

Madsen⁹² нашелъ токсонды въ тетанолизинѣ; Bulloch und Hunter²⁷ въ піоціанолизинѣ; Neisser и Wechsberg¹¹⁶ въ стафилолизинѣ; Myers¹¹² въ змѣиномъ ядѣ; Ehrlich и Morgenroth⁵⁷ и Müller¹⁰⁹ у комплементовъ; Eisenberg и Volk⁶² у агглютининовъ; Kraus und Pirquet⁸³ и Müller¹¹¹ у преципитиновъ; Wechsberg¹⁵⁰ у гемолитическихъ амбоцепторовъ (Ambocerptoide); Jacoby *) въ рицинѣ.

Итакъ, наша задача состояла въ томъ, чтобы найти такіе дериваты сычужнаго фермента, которые связывали бы антилябъ и въ то же время были бы лишены способности створаживать молоко. Если бы намъ это удалось, то тѣмъ самымъ было бы доказано, что энзимы, подобно токсинамъ,

*) Martin Jacoby, Ueber Ricin-Immunität. Beiträge zur Chem. Physiologie und Pathologie. Bd. I. H. I. und 2. 1901.

имѣютъ двѣ группы, разнородно функционирующія, такъ какъ признаніе одной функционирующей группы не могло бы дать объясненіе двойственной функціи энзимовъ.

Попытки въ этомъ направленіи дѣлались уже раньше въ лабораторіи проф. Ehrlich'a со стороны Myers'a и Bashford'a⁷⁹. Эти изслѣдователи пробовали перевести дѣятельныя частицы сычужнаго фермента въ недѣятельныя, которыя не обладали бы способностью створаживать молоко, но связывали бы антилябъ. Для этого они пользовались различными разрушающими сычужный ферментъ факторами, какъ термическими, такъ и химическими. Однако, несмотря на продолжительную и упорную работу въ этомъ направленіи, оба автора не получили сколько нибудь надежныхъ результатовъ. Правда, нѣкоторые изъ ихъ опытовъ какъ будто говорили въ положительномъ смыслѣ, но въ общемъ результаты опытовъ были столь непостоянны и даже противорѣчивы, что не представлялось никакой возможности сдѣлать изъ нихъ опредѣленные заключенія. Та же участь постигала долгое время (4—5 мѣсяцевъ) и мои опыты, пока, наконецъ, мнѣ не удалось открыть и затѣмъ удалить изъ лошадиной сыворотки другой факторъ, уничтожающій сычужный ферментъ, — „псевдоантилябъ“, который, какъ показано въ V главѣ, и былъ виновникомъ шаткости и непостоянства опытовъ, какъ моихъ, такъ, очевидно, и моихъ предшественниковъ.

Послѣ этого мои опыты пошли глаже и вскорѣ я нашелъ методъ, съ помощью котораго я открылъ въ растворахъ сычужнаго фермента разновидность его, вполне аналогичную токсинамъ Ehrlich'a. Именно, я примѣнилъ методъ фильтрованія растворовъ сычужнаго фермента чрезъ порозныя свѣчи Berkefeld'a и Chamberland'a.

Для каждаго опыта я приготовлялъ 100 к. с. 1% раствора сычужнаго фермента на водопроводной водѣ. Отливъ отсюда 20 к. с., я фильтровалъ остальные 80 к. с. чрезъ свѣчи въ разрѣженное пространство, при чемъ фильтратъ дѣлилъ на три порціи по 20 к. с. каждая: 1-я порція, средняя и послѣдняя. Затѣмъ одновременно, при всѣхъ прочихъ

равныхъ условіяхъ, я опредѣлялъ слѣдующія три величины изъ нефилътрированной, первой и послѣдней филътрированныхъ порцій раствора сычужнаго фермента:

- 1) минимальную створаживающую дозу энзима для 10 к. с. хлороформированнаго молока по способу Моргенрота.
- 2) L_0 дозу и 3) L_+ дозу его.

Въ качествѣ постоянной величины я бралъ 0,15 к. с. діализированной втеченіе 2-хъ сутокъ лошадиной сыворотки.

Такая сыворотка содержала въ себѣ типичный антилябъ, принадлежность котораго къ истиннымъ антиэнзимамъ мною была доказана въ предыдущихъ главахъ; въ то же время она посредствомъ діализаціи была освобождена отъ второго дѣйствующаго противъ ляба фактора („псевдоантиляба“).

При опредѣленіи L_0 и L_+ я поступалъ слѣдующимъ образомъ. Въ рядъ пробирокъ отмѣривались убывающія количества 1% раствора сычужнаго фермента, объемъ жидкости доводился до 2 к. с. помощью водопроводной воды и затѣмъ въ каждую пробирку прибавлялось по 0,15 к. с. діализированной лошадиной сыворотки. Смѣсь тщательно взбалтывалась и оставлялась на 15 минутъ при комнатной температурѣ. Затѣмъ въ каждую пробирку приливалось по 10 к. с. молока и пробирки помѣщались на сутки въ ледникъ (при $+8^{\circ}\text{C}$), а затѣмъ на 5 часовъ въ термостатъ при $+37^{\circ}\text{C}$. и до слѣдующаго дня при комнатной температурѣ. Мною было замѣчено, что то молоко, которое не створаживалось втеченіе 5 часовъ въ термостатѣ, оставалось также жидкимъ и на слѣдующій день; слѣдовательно, процессъ створаживанія молока подъ вліяніемъ сычужнаго фермента заканчивался втеченіе первыхъ 5 часовъ пребыванія смѣси въ термостатѣ.

То количество сычужнаго фермента, которое какъ разъ нейтрализовалось помощью 0,15 к. с. лошадиной сыворотки, такъ что молоко оставалось совершенно жидкимъ, представляло изъ себя искомую L_0 дозу, а L_+ доза соотвѣтствовала тому наименьшему количеству сычужнаго фермента, которое, будучи смѣшано съ 0,15 к. с. лошадиной сыворотки, вызывало еще створаживаніе 10 к. с. молока.

О П Ы Т Ь I. *)

Определение наименьшей створаживающей дозы. 1% растворъ ляба		Определение L_0 дозы. 0,15 к. с. лошадиной сыворотки + 1% растворъ ляба	
Нефильтрован.	Фильтрован. через свѣчу Berkefeld'a	Нефильтрован.	Фильтрован. через свѣчу Berkefeld'a
1. 0,0005 к. с. О	1. 0,03 к. с. О	1. 0,06 к. с. О	1. 0,2 к. с. О
2. 0,0006 „ О	2. 0,035 „ О	2. 0,065 „ О	2. 0,3 „ О
3. 0,0007 „ +	3. 0,04 „ +	3. 0,070 „ О	3. 0,4 „ О
4. 0,0008 „ +	4. 0,045 „ +	4. 0,075 „ +	4. 0,5 „ +
5. 0,0009 „ +	5. 0,05 „ +	5. 0,08 „ +	5. 0,6 „ +
		6. 0,09 „ +	6. 0,7 „ +

Ослабление:

1. Наименьшей створажив. дозы = $0,04 : 0,0007 = 57,1$ разъ.
2. L_0 — дозы = $0,4 : 0,07 = 5,71$ разъ.

О П Ы Т Ь II.

Определение наименьшей створаживающей дозы ляба 1% растворъ		
Нефильтрованный	Фильтрованный через свѣчу Berkefeld'a	
	1-ая порція	Последняя порція
1. 0,0009 к. с. О	1. 0,02 к. с. О	1. 0,006 к. с. О
2. 0,0010 „ О	2. 0,025 „ О	2. 0,007 „ О
3. 0,0011 „ +	3. 0,03 „ +	3. 0,008 „ +
4. 0,0012 „ +	4. 0,035 „ +	4. 0,009 „ +
5. 0,0013 „ +	5. 0,04 „ +	5. 0,010 „ +

*) Примѣчаніе.

+ означаетъ створаживаніе молока
О отсутствіе створаживанія.

Определение L_0 дозы.
0,15 к. с. лошадиной сыворотки.
+ 1% растворъ ляба

Нефильтрованный	Фильтрованный через свѣчу Berkefeld'a	
	1-ая порція	Последняя порція
1. 0,035 к. с. О	1. 0,12 к. с. О	О
2. 0,04 „ О	2. 0,15 „ О	О (0,15 к. с.)
3. 0,045 „ +	3. 0,2 „ О	+
4. 0,05 „ +	4. 0,25 „ О	+
5. 0,055 „ +	5. 0,30 „ О	+
	6. 0,35 „ +	+
	7. 0,40 „ +	+
	8. 0,45 „ +	+

Ослабление:

1. Наименьшей створаживающей дозы:
 - а) первая порція (0,03 : 0,0011) 27 разъ.
 - б) последняя порція (0,008 : 0,0011) 6,7 разъ.
2. L_0 дозы:
 - а) первая порція (0,3 : 0,04) 7,5 разъ.
 - б) последняя порція (0,15 : 0,04) 3,75 разъ.

О П Ы Т Ь III.

Определение наименьшей створаживающей дозы ляба 1% растворъ			
Нефильтрован- ный	Фильтрованный через свѣчи Berkefeld'a		Фильтрован. через свѣчу Chamberland'a
	1-ая свѣча	2-ая свѣча	
1. 0,0008 к. с. О	1. 0,15 к. с. О	О	О
2. 0,0009 „ О	2. 0,02 „ О	О	О
3. 0,0010 „ +	3. 0,025 „ +	+	О (0,025 к. с.)
4. 0,0011 „ +	4. 0,03 „ +	+	+
5. 0,0012 „ +	5. 0,035 „ +	+	+

Определение L_0 дозы. 0,15 к. с. лошадиной сыворотки + 1% раствор ляба			
Нефильтрованный	Фильтрованный через свѣчи Berkefeld'a		Фильтрован. через свѣчу Chamberland'a
	1-ая свѣча	2-ая свѣча	
1. 0,02 к. с. О	1. 0,18 к. с. О	О	О
2. 0,025 „ О	2. 0,2 „ О	О (0,2 к. с.)	О (0,2 к. с.)
3. 0,03 „ О	3. 0,025 „ +	+	+
4. 0,035 „ +	4. 0,3 „ +	+	+
5. 0,04 „ +	5. 0,35 „ +	+	+

Ослабление наименьшей створаживающей дозы:

- 1-ая свѣча Berkefeld'a $0,025 : 0,001 = 25$ разъ.
- 2-ая свѣча Berkefeld'a $0,025 : 0,001 = 25$ разъ.
- Свѣча Chamberland'a $0,03 : 0,001 = 30$ разъ.

Ослабление L_0 дозы:

- 1-ая свѣча Berkefeld'a $0,2 : 0,03 = 6,6$ разъ.
- 2-ая свѣча Berkefeld'a $0,2 : 0,03 = 6,6$ разъ.
- Свѣча Chamberland'a $0,2 : 0,03 = 6,6$ разъ.

О П Ы Т Ъ IV.

Определение наименьшей створаживающей дозы ляба 1% растворъ		
Нефильтрованный	Фильтрованный через свѣчу Berkefeld'a	
	1-я порція	Послѣдняя порція
1. 0,001 к. с. О	1. 0,009 к. с. О	О
2. 0,0012 „ О	2. 0,01 „ О	О
3. 0,0014 „ +	3. 0,02 „ О	+ (0,02)
4. 0,0016 „ +	4. 0,03 „ О	+
5. 0,0018 „ +	5. 0,04 „ О	+
6. 0,002 „ +	6. 0,05 „ О	+
	7. 0,06 „ +	+
	8. 0,07 „ +	+

Определение L_0 дозы 0,15 к. с. лошадиной сыворотки + 1% раствора ляба		
Нефильтрованный	Фильтрованный через свѣчу Berkefeld'a	
	1-я порція	Послѣдняя порція
1. 0,07 к. с. О	1. 0,65 к. с. О	1. 0,18 к. с. О
2. 0,08 „ О	2. 0,7 „ О	2. 0,2 „ О
3. 0,09 „ +	3. 0,8 „ +	3. 0,25 „ О
4. 0,10 „ +	4. 0,9 „ +	4. 0,03 „ +
5. 0,11 „ +	5. 1,0 „ +	5. 0,35 „ +
6. 0,12 „ +		6. 0,4 „ +
7. 0,13 „ +		

Ослабление наименьшей створаживающей дозы:

1. Первая порція $0,06 : 0,0014 = 42,9$ разъ.
2. Послѣдняя порція $0,02 : 0,0014 = 14,3$ раза.

Ослабление L_0 дозы:

1. Первая порція $0,7 : 0,08 = 8,75$ разъ.
2. Послѣдняя порція $0,25 : 0,08 = 3,18$ разъ.

О П Ы Т Ъ V.

Определение наименьшей створаживающей дозы ляба. 1% растворъ ляба		Определение L_0 дозы. 0,15 к. с. лошадиной сыворотки + 1% растворъ ляба	
Нефильтрован.	Фильтрован. через свѣчу Berkefeld'a	Нефильтрован.	Фильтрован. через свѣчу Berkefeld'a
1. 0,0012 к. с. О	1. 0,01 к. с. О	1. 0,1 к. с. О	1. 0,4 к. с. О
2. 0,0014 „ О	2. 0,02 „ О	2. 0,11 „ О	2. 0,45 „ О
3. 0,0016 „ +	3. 0,03 „ +	3. 0,12 „ +	3. 0,5 „ О
4. 0,0018 „ +	4. 0,04 „ +	4. 0,13 „ +	4. 0,55 „ +
		5. 0,14 „ +	5. 0,6 „ +

Ослабление:

1. Наименьшей створаживающей дозы $(0,03 : 0,0016) = 18,75$ разъ.
2. L_0 дозы $(0,5 : 0,11) = 4,54$ раза.

Если сопоставить въ отдѣльныхъ опытахъ ослабленіе створаживающаго дѣйствія ляба послѣ фильтрованія съ ослабленіемъ его нейтрализующей способности, то получаются слѣдующія числа:

Ослабленіе:		
Створаживающаго дѣйствія	Нейтрализующаго дѣйствія	Отношеніе
57,1	5,7	10 : 1
42,9	8,75	4,9 : 1
30	6,6	4,6 : 1
27	7,5	3,6 : 1
25	6,6	3,8 : 1
18,75	4,54	4,1 : 1
14,3	3,13	4,6 : 1
6,7	3,75	1,8 : 1

Мы видимъ, что во всѣхъ опытахъ нейтрализующее дѣйствіе сычужнаго фермента при фильтрованіи ослабѣвало въ меньшей степени, чѣмъ его створаживающая способность.

Такимъ образомъ, относительно сычужнаго фермента намъ удалось доказать то же, что раньше было доказано Ehrlich'омъ и другими авторами относительно токсиновъ, именно, что нейтрализующая способность сычужнаго фермента не стоитъ въ непосредственной связи съ его ферментативной дѣятельностью.

Если принять ослабленіе нейтрализующей способности сычужнаго фермента за единицу, то ослабленіе его ферментативной дѣятельности въ отдѣльныхъ случаяхъ будетъ колебаться между 1,8 и 10.

Отсюда ясно, что въ нашихъ растворахъ послѣ фильтрованія чрезъ свѣчи появляется такая модификація сычужнаго фермента, которая, будучи лишена ферментативнаго дѣйствія, сохраняетъ способность нейтрализовать антилябъ. Эта модификація ляба по аналогіи съ токсоидами можетъ быть названа лябондомъ. Что касается сущности процесса, который

имѣетъ мѣсто при фильтрованіи растворовъ сычужнаго фермента чрезъ свѣчи, то трудно допустить, чтобы указанная выше модификація ляба образовывалась вслѣдствіе фильтрованія чрезъ порозные фильтры. Гораздо правильнѣе представить себѣ дѣло такъ, что уже въ продажномъ порошокѣ часть сычужнаго фермента находится въ измѣненномъ состояніи. Если теперь принять, что поры фильтра задерживаютъ вслѣдствіе абсорбціи неизмѣненныя частицы энзима въ гораздо большей степени, чѣмъ модифицированныя, то результаты нашихъ опытовъ будутъ понятны безъ всякихъ натяжекъ.

Различные фильтры, какъ извѣстно, обладаютъ абсорбирующей способностью не въ одинаковой степени, чѣмъ и объясняется разница результатовъ въ различныхъ опытахъ, которые, впрочемъ, по существу вполне согласны между собою.

Измѣненіемъ же абсорбирующей способности фильтровъ должно быть объяснено то явленіе, что разница въ ослабленіи наименьшей створаживающей дозой ляба и его L_0 дозы постепенно сглаживается въ послѣдующихъ порціяхъ фильтра при фильтрованіи чрезъ ту же свѣчу.

Наибольшее ослабленіе, какъ створаживающей дозы, такъ и L_0 дозы наблюдается въ первой собранной порціи фильтра. Затѣмъ при дальнѣйшемъ фильтрованіи ослабленіе обѣихъ дозъ становится менѣе значительнымъ, такъ что обѣ дозы все болѣе приближаются къ опредѣляемымъ для нефильтованной порціи ляба.

Въ одномъ изъ своихъ опытовъ, когда я фильтровалъ чрезъ одну и ту же свѣчу большія количества раствора ляба (300 к. с.), мнѣ удалось достигнуть того, что обѣ дозы (T и L_0), опредѣленныя для нефильтованной и для послѣдней фильтрованной порціяхъ, совершенно сравнялись между собою.

Въ этомъ опытѣ мною были опредѣлены слѣдующія величины для наименьшей створаживающей дозы T и L_0 дозы:

1. Нефильтрованная порція 1% раствора сычужного фермента.

$T = 0,0012$ к. с.

$L_0 = 0,12$ к. с.

2. 1-ая порція фильтрата.

$T = 0,008$ к. с.; ослабѣла въ $(0,008 : 0,0012) = 6,66$ разъ.

$L_0 = 0,045$ к. с.; ослабѣла въ $(0,45 : 0,12) = 3,75$ разъ.

3. Последняя порція фильтрата.

$T = 0,0012$ к. с. $\left\{ \begin{array}{l} \text{не ослабѣли.} \\ L_0 = 0,12 \text{ к. с.} \end{array} \right.$

Въ опытѣ II опредѣлены:

1. Нефильтрованная порція 1% раствора сычужного фермента.

$T = 0,0011$ к. с.

$L_0 = 0,04$ к. с.

2. 1-ая порція фильтрата.

$T = 0,03$ к. с.

$L_0 = 0,3$ к. с.

3. Последняя порція фильтрата.

$T = 0,008$ к. с.

$L_0 = 0,15$ к. с.

Въ опытѣ IV опредѣлено:

1. Нефильтрованная порція.

$T = 0,0014$ к. с.

$L_0 = 0,08$ к. с.

2. 1-ая порція фильтрата.

$T = 0,06$ к. с.

$L_0 = 0,7$ к. с.

3. Последняя порція фильтрата.

$T = 0,02$ к. с.

$L_0 = 0,25$ к. с.

Подобнаго рода способность фильтровъ задерживать изъ растворовъ одни вещества преимущественно предъ другими не представляет изъ себя ничего необычнаго, какъ это показываютъ между прочимъ опыты Ehrlich'a и Morgenroth'a^{55, 56}, которымъ удалось посредствомъ фильтрованія

чрезъ свѣчи Pukall'я отдѣлить одинъ отъ другого два сходныхъ между собою въ другихъ отношеніяхъ компонента изъ одной и той же сыворотки. Именно, одинъ изъ этихъ компонентов проходилъ чрезъ свѣчу почти безъ ослабленія, тогда какъ другой вполне задерживался на фильтрѣ. Сюда же можетъ быть отнесенъ фактъ, найденный Effron-томъ⁴⁴, что инвертинъ, происходящій изъ дрожжей, проходитъ чрезъ свѣчи Chamberland'a, въ то время какъ инвертинъ, вырабатываемый *aspergillus niger*, задерживается на фильтрѣ.

Итакъ, на основаніи своихъ опытовъ съ фильтрованіемъ растворовъ сычужнаго фермента чрезъ свѣчи Berkefeld'a и Chamberland'a мы можемъ считать доказаннымъ, что существуетъ такая модификація частицы ляба, которая, будучи лишена своего специфическаго ферментативнаго дѣйствія, сохраняетъ способность связывать антилябъ. Этотъ фактъ, впервые найденный нами, говоритъ за присутствіе въ частицѣ энзимовъ особой „гаптофорной“ группы, которая обладаетъ способностью вступать въ соединеніе съ соответственной группой антиляба.

Такимъ образомъ, намъ удалось дать новое экспериментальное доказательство въ пользу тѣхъ заключеній, которыя дѣлались раньше чисто теоретически на основаніи способности энзимовъ вызывать въ организмѣ животныхъ образованіе специфическихъ антиэнзимовъ. Въ то же время этотъ фактъ стоитъ въ наилучшемъ согласіи со стереохимическимъ взглядомъ E. Fischer'a¹²² на дѣйствіе ферментовъ.

Вмѣстѣ съ тѣмъ, мы имѣемъ теперь право признать, что частица энзима имѣетъ въ себѣ по крайней мѣрѣ двѣ функционирующія группы. Но наши опыты еще недостаточны, чтобы окончательно рѣшить вопросъ о строеніи и способѣ дѣйствія частицы сычужнаго фермента. Дальнѣйшія изслѣдованія должны показать, дѣйствуютъ ли энзимы на подобіе токсиновъ или же цитотоксиновъ, которые, какъ извѣстно, состоятъ изъ двухъ самостоятельныхъ компонентов (амбоцентора и компонента).

ВЫВОДЫ.

На основаніи нашихъ изслѣдованій мы приходимъ къ слѣдующимъ заключеніямъ:

1) Въ нормальной кровяной сывороткѣ лошади заключается специфическій „антилябъ“, способный нейтрализовать дѣйствіе сычужнаго фермента (ляба) на молоко по тому типу, какъ антитоксины нейтрализуютъ дѣйствіе токсиновъ. „Антилябъ“ по своимъ біологическимъ свойствамъ долженъ быть отнесенъ къ группѣ, такъ называемыхъ, истинныхъ „антитѣлъ“.

2) Антилябъ при повторномъ введеніи въ организмъ животнаго вызываетъ въ немъ образованіе „анти-антиляба“, который по своимъ свойствамъ такъ же относится къ группѣ истинныхъ антитѣлъ.

3) Кромѣ специфическаго антиляба въ кровяной сывороткѣ лошади и другихъ животныхъ находится другое дѣйствующее противъ сычужнаго фермента вещество (или группа веществъ), которое названо мною „псевдо-антилябъ“. Псевдо-антилябъ отличается отъ истинныхъ антитѣлъ слѣдующими признаками: а) онъ выдерживаетъ нагреваніе до 100°C ., б) легко диффундируетъ чрезъ животныя перепонки и в) дѣйствуетъ медленно и слабо при комнатной температурѣ и весьма энергично при температурѣ термостата (37°C .).

4) Правильный методъ опредѣленія нейтрализующей способности антиляба кровяныхъ сыворотокъ состоитъ въ томъ, чтобы пользоваться исключительно діализированной сывороткой и при опредѣленіи свободнаго сычужнаго фермента употреблять методъ Morgenroth'a, комбинированный мною слѣдующимъ образомъ: смѣсь сычужнаго фермента и кровяной сыворотки держится 15 минутъ при комнатной температурѣ и затѣмъ, послѣ прибавленія молока, сутки при $+8^{\circ}\text{C}$. Только послѣ этого смѣсь изъ сычужнаго фермента, сыворотки и молока помѣщается при температурѣ $37-40^{\circ}\text{C}$., т. е., въ условія наиболее благоприятныя для дѣйствія энзима на молоко.

5) Существуетъ такая модификація сычужнаго фермента, которая не створаживаетъ молоко, но связываетъ антилябъ. Она аналогична токсоидамъ Ehrlich'a („лябонды“).

6) Поэтому сычужный ферментъ нельзя разсматривать какъ простое тѣло, дѣйствующее на субстратъ всю совокупностью своей частицы. Напротивъ, мы должны признать, что въ его частицѣ существуютъ по крайней мѣрѣ двѣ разнородно функционирующія группы: „гаптоформная“, связывающая энзимъ съ субстратомъ, и „цимоформная“, носительница специфическаго ферментативнаго дѣйствія.

7) Такимъ образомъ, намъ удалось найти новые факты, доказывающіе, съ точки зрѣнія теоріи Ehrlich'a, біохимическую связь между токсинами и энзимами.

Я считаю пріятнымъ для себя долгомъ засвидѣтельствовать здѣсь свое глубокое уваженіе и признательность проф. Ehrlich'у, лично и съ рѣдкимъ вниманіемъ руководившему моими работами въ его лабораторіи. Кромѣ того, я приношу искреннюю благодарность своему уважаемому учителю Ир. Пол. Скворцову, со стороны котораго я всегда встрѣчалъ поддержку словомъ и дѣломъ при своихъ научныхъ занятіяхъ.

Л и т е р а т у р а.

- ¹⁾ Achalme. Recherches sur les propriétés pathogènes de la trypsine et le pouvoir antitryptique du sérum des cobayes neufs et immunisés. Ann. de l'Inst. Past. 1901. T. 15. p. 737.
- ²⁾ Aschoff. Ehrlich's Seitenkettentheorie u. s. w. Jena. 1902. Abdruck aus Zeit. f. allgem. Physiol. 1902. Bd. I. H. III.
- ³⁾ Bail. Ueber leucocide Substanzen in den Stoffwechselprodukten des Staphylococcus pyogenes aureus. Arch. f. Hyg. Bd. 30. 1897. p. 349.
- ⁴⁾ Bail. Untersuchungen über die Beeinflussung der Serumalexine durch Bakterien. Arch. f. Hyg. 1899. Bd. 35. p. 284.
- ⁵⁾ Behring. Untersuchungen über das Zustandekommen von Diphtherieimmunität bei Tieren. Deut. med. Woch. 1890.
- ⁶⁾ Behring und Kitasato. Ueber das Zustandekommen der Diphtherieimmunität und der Tetanusimmunität bei Tieren. Deut. med. Woch. 1890. № 49.
- ⁷⁾ Behring und Nissen. Ueber bakterienfeindliche Eigenschaften verschiedener Serumarten. Zeit. f. Hyg. Bd. 8. 1890. p. 412; Bd. 9. p. 95.
- ⁸⁾ Besredka. Les antihémolysines naturelles. Ann. de l'Inst. Past. 1901. T. 15. p. 785.
- ⁹⁾ Bigart et Bernard. Sérum surrénotoxique. Compt. rend. de la Soc. de Biol. 1901. p. 161.
- ¹⁰⁾ Bomstein. Ueber das Schicksal der Diphtherietoxine in Thierorganismus. Cent. f. Bakt. u. s. w. Bd. 23. 1898. № 18.
- ¹¹⁾ Bordet. Les leucocytes et les propriétés actives du sérum chez les vaccinés. Ann. de l'Inst. Past. T. 9. 1895. p. 462.
- ¹²⁾ Bordet. Mode d'action des sérums préventifs. Ann. de l'Inst. Pasteur. T. 10. 1895. p. 193.
- ¹³⁾ Bordet. Sur l'agglutination et la dissolution des globules rouges par le sérum d'animaux injectés de sang défibriné. Ann. de l'Inst. Past. 1898. T. 12. p. 688.
- ¹⁴⁾ Bordet. Le mécanisme de l'agglutination. Ann. de l'Inst. Past. 1899. T. 13. p. 225.
- ¹⁵⁾ Bordet. Agglutination et dissolution des globules rouges par le sérum. Ann. de l'Inst. Past. 1899. p. 273.
- ¹⁶⁾ Bordet. Les sérums hémolytiques, leurs antitoxines et les théories des sérums cytolytiques. Ann. de l'Inst. Past. 1900. T. 14. p. 257.
- ¹⁷⁾ Bordet et Gengou. Sur l'existence des substances sensibilisatrices dans la plupart des sérums antimicrobiens. Ann. de l'Inst. Past. 1901. T. 15. p. 289.
- ¹⁸⁾ Bordet. Sur le mode d'action des sérums cytolytiques et sur l'unité de l'alexine dans un même sérum. Ann. de l'Inst. Past. 1901. T. 15. p. 303.

- ¹⁹⁾ Briot. Etudes sur la présure et l'antiprésure. Thèse de Paris. 1900.
- ²⁰⁾ Brunner. Beitrag zur Immunitätslehre. Forsch. d. Medic. Bd. 17. 1899. p. 1.
- ²¹⁾ Бруннеръ. Изслѣдованіе надъ дѣйствиємъ бактерійныхъ и растительныхъ ядовъ. Арх. биол. наукъ. Т. 6. 1893. с. 193.
- ²²⁾ Buchner. Ueber bakterientötende Wirkung des zellenfreien Blutserums. Cent. f. Bakt. Bd. 5. 1889. p. 817 u. Bd. 6. 1889. p. 1.
- ²³⁾ Buchner, H. Ueber Bakteriengifte und Gegengifte. Münch. med. Woch. 1893. p. 449.
- ²⁴⁾ Buchner. Die Bedeutung der aktiven löslichen Zellprodukte für den Chemismus der Zelle. Münch. med. Woch. 1897. № 12.
- ²⁵⁾ Buchner. Zur Kenntnis der Alexine, sowie der spezifisch baktericiden und spezifisch hämolytischen Wirkungen. Münch. med. Woch. 1900. № 9.
- ²⁶⁾ Buncher. Sind die Alexine einfache oder komplexe Körper? Berl. klin. Woch. 1901. № 23, p. 854.
- ²⁷⁾ Bulloch und Hunter. Ueber Pyocyanolysin, eine hämolytische Substanz in Kulturen des Bac. Pyocyaneus. Centralbl. f. Bact. 1900. Bd. 28. № 25, p. 865.
- ²⁸⁾ Calmette. L'immunisation artificielle des animaux contre le venin des serpents, et la thérapeutique expérimentale des morsures venimeuses. Compt. rend. de la Soc. d. Biol. 1894. p. 120.
- ²⁹⁾ Calmette. Au sujet de l'atténuation des venins par le chauffage et de l'immunisation des animaux contre l'envenimation. Compt. rend. de la Soc. de Biol. 1894. p. 204.
- ³⁰⁾ Calmette. Contribution à l'étude du venin des serpents. Ann. de l'Inst. Past. 1894. T. 8. p. 275.
- ³¹⁾ Calmette. Contribution à l'étude des venins, des toxines et des sérums antitoxiques. Ann. de l'Inst. Past. 1895. T. 9. p. 225.
- ³²⁾ Camus et Pagnier. Variabilité de l'alexine dans les sérums pathologiques. Existence d'une substance anti-hémolysante dans le sérum humain. Compt. rend. de la Soc. de Biol. 1901. 6 juillet.
- ³³⁾ Delezenne. Sérum antihépatique. Compt. rend. de l'Académie des Sciences. 1900. T. 131.
- ³⁴⁾ Delezenne. Sérum névrotique. Ann. de l'Inst. Past. 1900. T. 14. p. 686.
- ³⁵⁾ Delezenne. Contribution à l'étude des sérums antileucocytaires. Compt. rend. de l'Académie des Sciences. 1900. T. 130.
- ³⁶⁾ Denys et van de Velde. Sur la production d'une antileucocidine chez les lapins vaccinés contre le staphylocoque pyogène. La Cellule. T. XI. 1896. p. 359.
- ³⁷⁾ Denys et vande Velde. Contribution à l'immunisation des lapins contre le staphylocoque et le streptocoque pyogène. Ann. de l'Inst. Past. T. 10. 1896. p. 580.
- ³⁸⁾ Deutsch. Antihepatisches Serum. Peŕep. Maly's Jahresbericht. Bd. 30. 1901.
- ³⁹⁾ Dönitz. Ueber das Tetanusantitoxin. Deut. med. Woch. 1897. S. 428.
- ⁴⁰⁾ Duclaux. Traité de microbiologie. T. 2. 1899.

- ⁴¹⁾ V. Dungern. Diagnostische serumreactionen. Münch. med. Woch. 1898. № 36. p. 1157.
- ⁴²⁾ V. Dungern. Spezifische Immunisierung gegen Epitel. Münch. med. Woch. 1899. № 38.
- ⁴³⁾ V. Dungern. Zeitsch. f. allgem. Physiologie. Bd. I. H. I. Цитировано по Marschal und Morgenroth см. 96.
- ⁴⁴⁾ Effront. Les enzymes et leurs applications. Paris. 1899.
- ⁴⁵⁾ Ehrlich. Experimentelle Untersuchungen über Immunität. Ricin. Abrin. Deut. med. Woch. 1891. № 32 и № 44.
- ⁴⁶⁾ Ehrlich. Die Wertbemessung des Diphtherieheilserums und deren theoretische Grundlagen. Abdruck aus dem Klin. Jahrbuch. Bd. VI. 1897.
- ⁴⁷⁾ Ehrlich. Zur Kenntnis der Antitoxinwirkung. Forsch. der Med. Bd. 15. 1897. № 2. p. 41.
- ⁴⁸⁾ Ehrlich. Protokolle Versammlung Gesellschaft der Charité. 3. II. 1898. Berl. Klin. Woch. 1898. № 12. p. 273.
- ⁴⁹⁾ Ehrlich. Ueber die Konstitution des Diphtheriegiftes. Deut. med. Woch. 1898. № 38. p. 597.
- ⁵⁰⁾ Ehrlich. Schlussbetrachtungen. Separatabdruck. Wien 1901.
- ⁵¹⁾ Ehrlich und Hübener. Ueber die Vererbung der Immunität bei Tetanus. Zeit. f. Hyg. etc. Bd. 18. 1894. p. 51.
- ⁵²⁾ Ehrlich und Marschal. Ueber die Komplementophilen Gruppen der Amboceptoren. Berl. Klin. Woch. 1902. № 25.
- ⁵³⁾ Ehrlich und Morgenroth. Zur Theorie der Lysinwirkung. Erste Mitteilung. Berl. Klin. Woch. 1899. № 1.
- ⁵⁴⁾ Ehrlich und Morgenroth. Ueber Hämolyse. Zweite Mitteilung. Berl. Klin. Woch. 1899. № 22.
- ⁵⁵⁾ Ehrlich und Morgenroth. Ueber Hämolyse. Dritte Mitteilung. Berl. Kl. Woch. 1900. № 25.
- ⁵⁶⁾ Ehrlich und Morgenroth. Ueber Hämolyse. Vierte Mitteilung. Berl. Klin. Woch. 1900. № 31.
- ⁵⁷⁾ Ehrlich und Morgenroth. Ueber Hämolyse. Fünfte Mitteilung. Berl. Klin. Woch. 1901. № 10.
- ⁵⁸⁾ Ehrlich und Morgenroth. Ueber Hämolyse. Sechste Mitteilung. Berl. Klin. Woch. 1901. № 21—22.
- ⁵⁹⁾ Ehrlich und Sachs. Ueber die Vielheit der Komplemente des serums. Berl. Klin. Woch. 1902. № 14—15.
- ⁶⁰⁾ Ehrlich u. Sachs. Ueber den Mechanismus der Amboceptorenwirkung. Berl. Klin. Woch. 1902. № 21.
- ⁶¹⁾ Eisenberg u. Volk. Untersuchungen über die Agglutination. Wien. Klin. Woch. 1901. № 50. p. 1221.
- ⁶²⁾ Eisenberg und Volk. Untersuchungen über die Agglutination. Zeit. f. Hyg. etc. Bd. 40. p. 155.
- ⁶³⁾ Fischer. Z. ph. Ch. 26. 71. (1898). Цитировано по Oppenheimer: Die Fermente. p. 61.
- ⁶⁴⁾ Fuld und Spirio. Die labende und labhemmende Wirkung des Blutes. Zeits. f. physiol. Chem. 31. 132.

- ⁶⁵⁾ Fuld. Ueber die Milchgerinnung durch Lab. Beiträge z. Chem. Physiologie und Pathologie. 1902. Bd. II. H. 4. s. 169.
- ⁶⁶⁾ Funck. Das antileucocytaire-Serum. Centralbl. f. Bakt. etc. 1900. Bd. 27. № 18—19.
- ⁶⁷⁾ Gessard. Tyrosinase et Antityrosinase. Comp. rend. Soc. Biol. 1902. p. 551.
- ⁶⁸⁾ Gheorghiewski. Du mécanisme de l'immunité vis à vis du bacille pyocyanique. Ann. de l'Inst. Past. T. 13. 1899. p. 298.
- ⁶⁹⁾ Gruber u. Durham. Eine neue Methode zur raschen Erkennung der Choleravibrionen und Typhusbacillen. Münch. med. Woch. 1896. p. 285.
- ⁷⁰⁾ Gruber. Zur Theorie der Antikörper. Ueber Bakteriolyse und Hämolyse. Münch. med. Woch. 1901. № 48—49.
- ⁷¹⁾ Гусевъ. Материалы къ вопросу о количественномъ опредѣленіи алексиновъ въ сывороткѣ здоровыхъ и больныхъ людей. Диссертация. Казань. 1902.
- ⁷²⁾ Hammarstén. Autoreferate Maly's Jahresb. 1872. 118; ibid. 1874; 135; цитировано по Oppenheimer'y: Die Fermente.
- ⁷³⁾ Hildebrand. Virchow's Arch. Bd. 131. Цитировано по Oppenheimer Die Fermente. p. 63.
- ⁷⁴⁾ Knorr. Die Entstehung des Tetanusantitoxins im Thierkörper und seine Beziehungen zum Tetanusgift. Forsch. d. Med. 1897. s. 657.
- ⁷⁵⁾ Knorr. Das Tetanusgift und seine Beziehungen zum tierischen Organismus. Münch. med. Woch. 1898. p. 321.
- ⁷⁶⁾ Konthack. Цитировано по Мечникову. L'Immunité. p. 378.
- ⁷⁷⁾ Коршунъ. О приготовленіи противодифтерійной сыворотки на бakt. ст. X. М. О. Р. Арх. патологии и пр. Подвисоцкого. 1899.
- ⁷⁸⁾ Korschun. Ueber Lab und Antilab. Hoppe-Seyler's Zeits. f. physiol. Chemie. Bd. 36. H. 2 u. 3. p. 161.
- ⁷⁹⁾ Korschun. Sind im Labmolekül mehrere functionirende Gruppen anzunehmen? Hoppe-Seyler's Zeits. f. phys. Chemie. 1903. Bd. 37. H. 4.
- ⁸⁰⁾ Kossel. Zur Kenntnis der Antitoxinwirkung. Berl. Kl. Woch. 1898. № 7. p. 152.
- ⁸¹⁾ Kraus. Ueber spezifische Reaktion im Keimfreien Filtrat aus Cholera-Typhus-Pestbouillonkulturen, erzeugt durch homologes Serum. Wien. Kl. Woch. 1897. № 32.
- ⁸²⁾ Kraus und Eisenberg. Ueber Immunisierung mit Immunsustanzen. Centralbl. f. Bakt. etc. 1902. Bd. 31. Orig. 1. Abt. p. 208.
- ⁸³⁾ Kraus und Pirquet. Weitere Untersuchungen über spezifische Niederschläge. Cent. f. Bakt. 1902. Origin. I. Abt. Bd. XXXII. № 1. p. 60.
- ⁸⁴⁾ Landsteiner. Zur Kenntnis der spezifisch auf Blutkörperchen wirkenden Sera. Cent. f. Bakt. 1899. 1 Abt. Bd. 25. № 15 u. 16.
- ⁸⁵⁾ Ландуа. Учебникъ физиологии человека. Харьковъ. 1886.
- ⁸⁶⁾ Laquer. Zur Kenntnis urämischer Zustände. Deut. med. Woch. 1901.
- ⁸⁷⁾ Lindemann. Sur le mode d'action de certains poisons rénaux. Ann. de l'Inst. Past. 1900. T. 14.
- ⁸⁸⁾ Линдеманъ. Цитолизины какъ причина токсическихъ нефритовъ. 1901.
- ⁸⁹⁾ Лондонъ. Къ учению о гемолизинахъ. Арх. биол. наукъ. 1901. 3 и 4 вып.
- ⁹⁰⁾ Лондонъ. Къ учению о сперматозоидинахъ. Арх. биол. наукъ. 1902. 1 и 2 вып.

- ⁹¹⁾ Madsen. Ueber Heilversuche im Reagensglas. Zeit. f. Hyg. u. s. w. Bd. 32. 1899. p. 239.
- ⁹²⁾ Madsen. Ueber Tetanolysin. Zeitschr. f. Hyg. etc. 1899. Bd. 32. p. 214.
- ⁹³⁾ Madsen. La constitution du poison diphtérique. Ann. de l'Inst. Past. 1899. T. 13. 568 и 801.
- ⁹⁴⁾ Маньковский. Къ вопросу о клеточныхъ ядахъ. Тиреотоксинъ. Рус. Врачъ 1902. № 6. с. 215.
- ⁹⁵⁾ Marengi. Ueber gegenseitige Wirkung des antidiphtherieschen Serums und Diphtherietoxins. Centralbl. f. Bakt. u. s. w. 1897. Bd. 22. p. 521.
- ⁹⁶⁾ Marschal und Morgenroth. Ueber Differenzierung von Komplementen durch ein Partialantikomplement. Centralbl. f. Bakt. etc. 1902. 1 Abt. Orig. № 12. Bd. 31.
- ⁹⁷⁾ Marschal und Morgenroth. Ueber Anticomplemente und Antiamboceptoren normaler Sera und pathologischer Exudate. Zeit. für Klin. Medicin. Bd. 47. H. 3. n. 4.
- ⁹⁸⁾ Martin and Cherry. The nature of the antagonism between toxins and antitoxins. The british medical journal. 98. Oct. 15. p. 1120.
- ⁹⁹⁾ Meltzer. Ueber den Einfluss der Peritonealhöhle auf das hämolytische Vermögen des fremden Serums. Centbl. f. Bakt. etc. 1901. Bd. 30. p. 278.
- ¹⁰⁰⁾ Metschnikoff. Destruction extracellulaires des bacteries. Ann. de l'Inst. Past. 1895. T. IX. p. 433.
- ¹⁰¹⁾ Metschnikoff. Etudes sur la résorption des cellules. Ann. de l'Inst. Past. 1899. T. 13. p. 737.
- ¹⁰²⁾ Metschnikoff. Recherches sur l'influence de l'organisme sur les toxines. Sur la spermatoxines et antispermatoxines. Ann. de l'Inst. Past. 1900.
- ¹⁰³⁾ Metschnikoff. L'Immunité dans les maladies infectieuses. Paris. 1901.
- ¹⁰⁴⁾ См. 112.
- ¹⁰⁵⁾ Morgenroth. Ueber den Antikörper des Labenzym. Centralbl. f. Bak. 1899. Bd. 26. 1. Abt.
- ¹⁰⁶⁾ Morgenroth. Zur Kenntnis der Labenzyme und ihrer Antikörper. Centralbl. f. Bakt. etc. 1900. Bd. 27. 1 Abt. № 20—21. p. 721.
- ¹⁰⁷⁾ Moxter. Ueber die Wirkungsweise der bakterienauflösenden Substanzen der tierischen Säfte. Centbl. f. Bakt. etc. 1899. Bd. 26. № 11—12. p. 344
- ¹⁰⁸⁾ Moxter. Ueber ein spezifisches Immunserum gegen Spermatozoen. Deut. med. Woch. 1900. № 4.
- ¹⁰⁹⁾ Müller. Ueber Antihämolytine. Centralbl. f. Bakt. etc. 1901. 1 Abt. Bd. 29. p. 175, 513.
- ¹¹⁰⁾ Müller. Ueber die Antihämolytine normaler Sera. Centralbl. f. Bakt. etc. 1901. Bd. 29. p. 860.
- ¹¹¹⁾ Müller, P. Th. Vergleichende Studien über die Gerinnung des Caseins durch Lab und Laktoserum. Münch. med. Woch. 1902. p. 272.
- ¹¹²⁾ Myers. Ueber Immunität gegen Proteide. Centralbl. f. Bakt. u. s. w. 1900. Bd. 28. № 7—8. p. 237.
- ¹¹³⁾ Neisser. Ueber die Vielheit der im normalen Serum vorkommenden Antikörper. Deut. med. Woch. 1900. p. 790.
- ¹¹⁴⁾ Neisser und Döring. Zur Kenntnis der hämolytischen Eigenschaften des menschlichen Serums. Berl. Klin. Woch. 1901. № 22. p. 593.

- ¹¹⁵⁾ Neisser und Wechsberg. Ueber die Wirkungsart baktericider Sera. Münch. med. Woch. 1901. № 18. p. 697.
- ¹¹⁶⁾ Neisser und Wechsberg. Ueber das Staphylotoxin. Zeits. f. Hyg. Bd. 36. 1901.
- ¹¹⁷⁾ Ненцкй и Зиберъ. Материалы къ изученію желудочнаго сока и химич. состава энзимовъ. Арх. биол. наукъ. Т. IX. вып. I. 1901. с. 63.
- ¹¹⁸⁾ Нефедьевъ. Sérum nephrotoxique. Ann. de l'Inst. Past. 1901.
- ¹¹⁹⁾ Никоноровъ. Опытъ вызванія невосприимчивости у животныхъ дифтерійнымъ ядомъ и противодифтерійной сывороткой. Врачъ. 1897. № 22. с. 617.
- ¹²⁰⁾ Nissen. Zur Kenntnis der bakterienvernichtenden Eigenschaften des Blutes. Zeit. f. Hyg. Bd. 6. 1889. p. 487.
- ¹²¹⁾ Nuttal. Experimente über die bakterienfeindlichen Einflüsse des tierischen Körpers. Zeit. f. Hyg. Bd. 4. 1888. p. 253.
- ¹²²⁾ Oppenheimer. Die Fermente und ihre Wirkungen. Leipzig. 1900.
- ¹²³⁾ Pfeiffer u. Issaeff. Ueber die Specificität der Choleraimmunisierung. Deut. med. Woch. 1894. № 13. p. 305.
- ¹²⁴⁾ Pfeiffer und Issaeff. Ueber die spezifische Bedeutung der Choleraimmunität. Zeit. f. H. Bd. 17. 1894. p. 355.
- ¹²⁵⁾ Pfeiffer. Weitere Untersuchungen über das Wesen der Choleraimmunität und über spezifisch baktericide Prozesse. Zeit. f. Hyg. Bd. 18. 1894.
- ¹²⁶⁾ Pfeiffer. Weitere Mitteilungen über die spezifischen Antikörper der Cholera. Zeit. f. H. Bd. 20. 1895.
- ¹²⁷⁾ Pfeiffer und Friedberger. Ueber die im normalen Ziegenserum enthaltenen bakteriolytischen Stoffe (Amboceptoren Ehrlich's). Deut. med. Woch. 1901. № 48. p. 834.
- ¹²⁸⁾ Pfeiffer und Friedberger. Ueber Antikörper gegen die bakteriolytischen Immunkörper der Cholera. Berl. Klin. Woch. 1902. № 1. p. 4.
- ¹²⁹⁾ Phisalix et Bertrand. Sur la propriété antitoxique du sang des animaux vaccinés contre le venin de vipère. Compt. rend. de la Soc. de Biol. 1894. p. 111.
- ¹³⁰⁾ Röden. Рефератъ въ Maly's Jahresbericht. 1887. Bd. 17. p. 160.
- ¹³¹⁾ Roux. Sur les sérums antitoxiques. Ann. de l'Ins. P. 1894. p. 722.
- ¹³²⁾ Roux et Veillard. Contribution à l'étude du tétanos. Ann. de l'Inst. Past. 1893. p. 64.
- ¹³³⁾ Roux et Yersin. Contribution à l'étude de la diphtérie. Ann. de l'Inst. Past. 1888. p. 629.
- ¹³⁴⁾ Roux et Yersin. Contribution à l'étude de la diphtérie. (2 memoire). Ann. de l'Inst. Past. 1889. p. 273.
- ¹³⁵⁾ Sachs. Gibt es einheitliche Alexinwirkungen? Berl. Klin. Woch. 1902. № 9 и 10.
- ¹³⁶⁾ Sachs. Ueber Antipepsin. Forsch. d. Medicin. 1902. № 13.
- ¹³⁷⁾ Salomonsen et Madsen. Recherches sur la marche de l'immunisation active contre la diphtérie. Ann. de l'Inst. Past. 1897. p. 315.
- ¹³⁸⁾ Schmidt. Beitr. z. Kenntn. d. Milch. Dorpat. 1871. Цитировано по Oppenheimer'y, Die Fermente u. s. w.
- ¹³⁹⁾ Shiga. Weitere Studien über den Dysenteriebacillus. Zeit. f. Hyg. etc. 1902. Bd. 41. p. 355.

¹⁴⁰⁾ Straus und Wolff. Ueber das hämolytische Verhalten seröser Flüssigkeiten. Forsch. der Med. 1902. Bd. 20. № 1.

¹⁴¹⁾ Surmont. Note préliminaire sur la préparation d'une cytotoxine pancréatique. Compt. rend. de la Soc. de Biol. 1901. № 15. p. 445.

¹⁴²⁾ Tchistovitch. Études sur l'immunisation contre la sérum d'anguilles. Ann. de l'Inst. Past. T. 13. 1899. p. 406.

¹⁴³⁾ Чистовичъ. Измѣненія свойствъ крови при выпрыскиваніи инородной сыворотки и крови въ связи съ теоріей иммунитета Ehrlich'a. Рус. арх. патол. T. 8. 1899. с. 21.

¹⁴⁴⁾ Wassermann. Experimentelle Untersuchungen über einige theoretische Punkte der Immunitätslehre. Zeit. f. Hyg. etc. Bd. 22. 1896. p. 263.

¹⁴⁵⁾ Wassermann. Experimentelle Beiträge zur Kenntnis der natürlichen und künstlichen Immunität. Zeit. f. Hyg. etc. 1901. Bd. 37.

¹⁴⁶⁾ Wassermann und Schütze. Discussion über den Vortrag des Herrn Wassermann: Neue Beiträge zur Kenntnis der Eiweisstoffe verschiedener Milcharten. Vereins-Beilage № 30 der Deut. med. Woch. 1900. 2 August.

¹⁴⁷⁾ Wassermann und Schütze. Ueber eine neue forensische Methode zur Unterscheidung von Menschen und Tierblut. Berl. Klin. Woch. 1901. № 7. p. 187.

¹⁴⁸⁾ Wechsberg. Protokoll der k. k. Gesellschaft der Aerzte in Wien. Wien. Klin. Woch. 1901. № 48.

¹⁴⁹⁾ Wechsberg. Zur Lehre von der natürlichen Immunität und über bactericide Heilsera. Zeit. f. Hyg. 1902. Bd. 39. p. 171.

¹⁵⁰⁾ Wechsberg. Weitere Untersuchungen über die Wirkung bactericider Immunsera. Wien Kl. Woch. 1902. № 28. p. 720.

¹⁵¹⁾ Weigert. Neue Fragestellungen in der pathologischen Anatomie. Deut. med. Woch. 1896. № 40. p. 635.

¹⁵²⁾ Wendelstadt. Ueber einen Antikörper gegen Blutegelextract. Arch. intern. de Pharmacodynamie et de Therapie. vol. IX. Fasc. V и VI.

¹⁵³⁾ Wendelstadt. Ueber die Vielheit der Amboceptoren und Komplemente bei Hämolyse. Centralbl. f. Bakt. etc. 1902. 1 Abt. Originale. Bd. 32. № 10.

¹⁵⁴⁾ Verworn. Beiträge zur Physiologie des Centralnervensystems. I. Theil. p. 68.

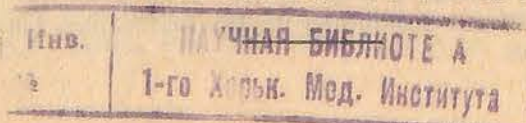
¹⁵⁵⁾ Uhlenhuth. Neue Beitrag zum spezifischen Nachweis von Eiereiweiss auf biologischem Wege. Deut. med. Woch. 1900. № 46. p. 734.

¹⁵⁶⁾ Uhlenhuth. Eine Methode zur Unterscheidung der verschiedenen Blutarten, im besonderen zum differentialdiagnostischen Nachweise des Menschenblutes. Deut. med. Woch. 1901. № 6. p. 82.

¹⁵⁷⁾ Uhlenhuth. Weitere Mitteilungen über die praktische Anwendung meiner forensischen Methode zum Nachweis von Menschen- und Tierblut. Deut. med. Woch. 1901. № 30. p. 499.

¹⁵⁸⁾ Uhlenhuth. Die Unterscheiden des Fleisches verschiedener Tiere mit Hilfe spezifischer Sera und die praktische Anwendung der Methode in der Fleischbeschau. Deut. med. Woch. 1901. № 45. p. 780.

¹⁵⁹⁾ Uhlenhuth. Weitere Mitteilungen über meine Methode zum Nachweise von Menschenblut. Deut. med. Woch. 1901. № 17. p. 260.

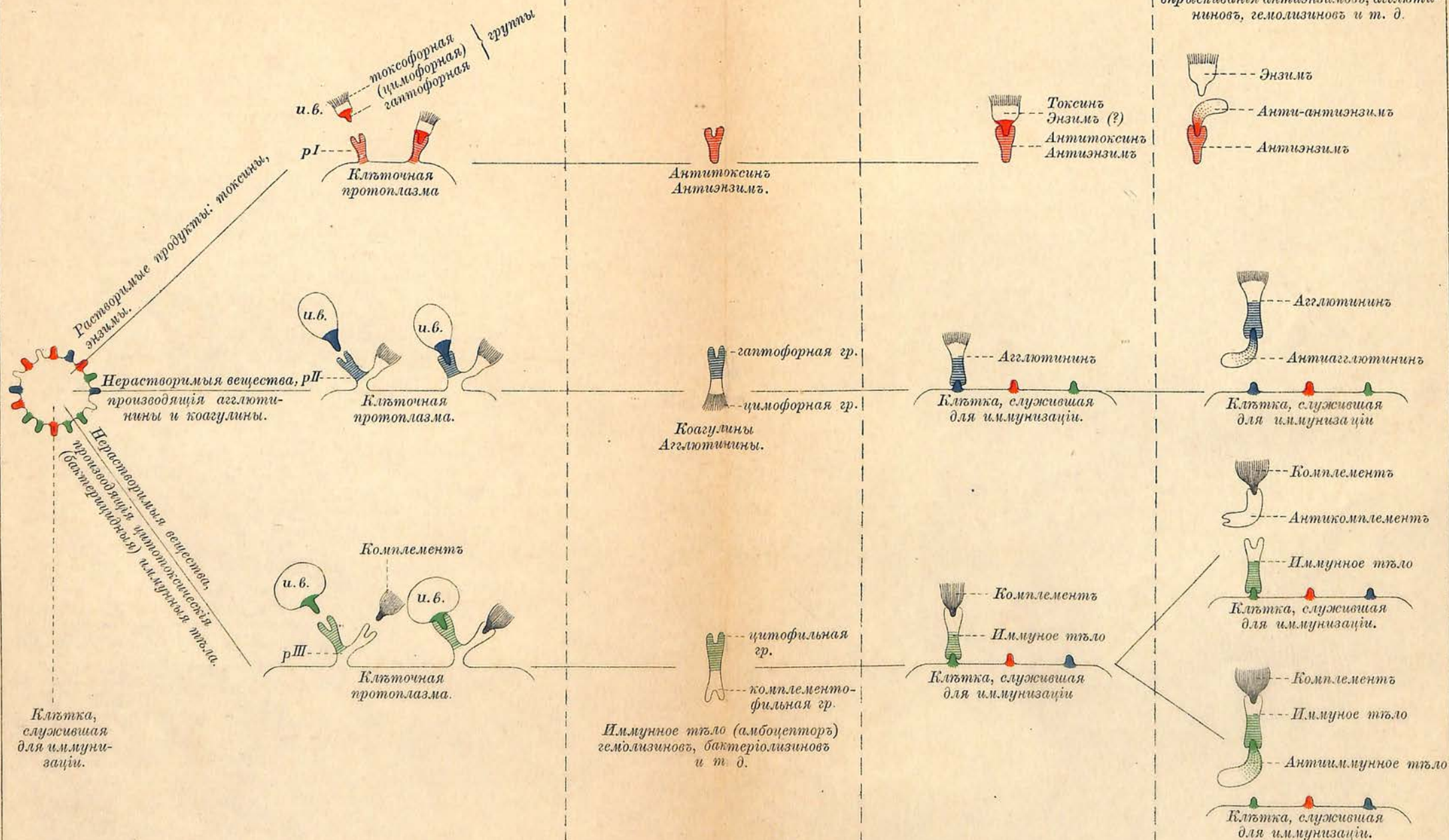


Воздѣйствіе иммунизирующаго вещества (и. в.) на рецепторы I, II и III порядковъ (р. I, р. II, р. III) клеточной протоплазмы.

Свободные рецепторы (Гаптины), отщепленные отъ протоплазмы.

Дѣйствіе антигѣловъ на растворимые продукты клетокъ (токсины, энзимы) или на самыя клетки.

Способъ дѣйствія анти-антиэнзимовъ, антиагглютининовъ, анти-иммунныхъ тѣловъ и анти-комplementовъ, полученныхъ посредствомъ впрыскиванія антиэнзимовъ, агглютининовъ, гемолизиновъ и т. д.



Происхожденіе и способъ дѣйствія специфическихъ иммунныхъ тѣловъ по Ehrlich'у (рисунокъ заимствованъ у Aschoff „Ehrlich's Seitenkettentheorie und ihre Anwendung auf die künstlichen Immunisierungsprocesse“. 1902).