

Изъ Гигіеническаго Института Императорскаго
Юрьевскаго Университета проф. Е. А. Шепилевскаго

**О свойствахъ нѣкоторыхъ преципитиновъ,
дѣйствующихъ на денатурированные бѣлки.**

ДИССЕРТАЦІЯ

НА СТЕПЕНЬ

ДОКТОРА МЕДИЦИНЫ

К. Н. Шапшева.



Юрьевъ

Типографія К. Маттисена.

1913.

Докторскую диссертацию лѣкаря К. Н. Шапшева подъ загла-
віемъ „О свойствахъ нѣкоторыхъ преципитиновъ, дѣйствующихъ на
денатурированные бѣлки“ печатать разрѣшается съ тѣмъ, чтобы по
отпечатаніи было представлено 400 экземпляровъ ея въ канцелярію
Медицинскаго Факультета ИМПЕРАТОРСКАГО Юрьевскаго Университета.

Юрьевъ, 15-го октября 1913.

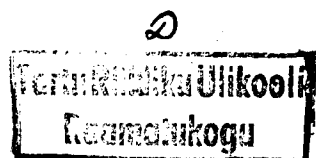
№ 1971.

Деканъ В. Афанасьевъ.

Посвящается

Прасковѣ Васильевнѣ

Шапшевой.



439 938

Заканчивая настоящую работу, прошу глубокоуважаемаго профессора Евгенія Алексѣевича Шепилевскаго принять мою сердечную благодарность за предложенную тему и за постоянныя указанія и помощь при исполненіи ея.

Также приношу здѣсь благодарность всѣмъ, кто словомъ или дѣломъ помогаль мнѣ при выполненіи моей работы.

Оглавление.

	Стр.
Литературный обзор.	
Введение	1
Г л а в а I.	
Измѣненіе у бѣлковъ способности преципитироваться при на- грѣваніи ихъ	16
А. Нагрѣваніе въ сухомъ состояніи	17
Б. Нагрѣваніе въ растворѣ	19
Способы изслѣдованія нагрѣтыхъ мясныхъ продуктовъ.	
Г л а в а II.	
Измѣненіе техники изслѣдованія	27
Г л а в а III.	
Изслѣдованіе при помощи преципитиновъ, полученныхъ отъ нагрѣтыхъ бѣлковъ (Hitze-преципитины)	32
Г л а в а IV.	
Изслѣдованіе при помощи преципитиновъ, полученныхъ отъ измѣненныхъ нагрѣваніемъ и щелочью бѣлковъ (Hitze- Alkali-преципитины)	53
Собственные опыты.	
Г л а в а V.	
Общая методика	65
Г л а в а VI.	
Преципитины, полученные отъ введенія нативныхъ сыворотокъ	75
А. Дѣйствіе на нативные бѣлки	77
Б. Дѣйствіе на бѣлки, обработанные по Schmidt'y	83
В. Дѣйствіе на 100°-бѣлки	85
Г. Опредѣленіе термостабильности преципитируемыхъ веществъ бѣлка	86
Д. Стойкость преципитируемыхъ веществъ бѣлка къ щелочи	88
Е. Дѣйствіе на экстракты изъ органовъ	90
Ж. Дѣйствіе элективнаго насыщенія на сыворотки	98
Г л а в а VII.	
Преципитины, полученные отъ введенія сыворотки, денатури- рованной по Schmidt'y	103

VI

	Стр.
А. Дѣйствіе на бѣлки, денатурированные по Schmidt'y	105
Б. Дѣйствіе на нативные бѣлки	112
В. Дѣйствіе на бѣлки, обработанные щелочью при комнатной температурѣ	116
Г. Дѣйствіе на 70°-бѣлокъ	119
Д. Дѣйствіе на 100°-бѣлки	122
Е. Дѣйствіе на высушенный при 100° бѣлокъ	126
Ж. Дѣйствіе на экстракты изъ органовъ	128
И. Дѣйствіе элективного насыщѣнія на сыворотки . .	134

Глава VIII.

Преципитины, полученные отъ введенія нативныхъ мышечныхъ экстрактовъ	139
А. Дѣйствіе на нативные бѣлки	149
Б. Дѣйствіе на бѣлки, денатурированные по Schmidt'y	154
В. Дѣйствіе на 100°-бѣлки	154
Г. Дѣйствіе на бѣлокъ, денатурированный щелочью при комнатной температурѣ и 70°	155
Д. Дѣйствіе на экстракты изъ органовъ	156
Е. Дѣйствіе элективного насыщѣнія на сыворотки . .	158

Глава IX.

Преципитины, полученные отъ введенія мышечныхъ экстрактовъ, денатурированныхъ по Schmidt'y	163
А. Дѣйствіе на бѣлки, денатурированные по Schmidt'y	165
Б. Дѣйствіе на нативные бѣлки	168
В. Дѣйствіе на 100°-бѣлки	169
Г. Дѣйствіе на бѣлки, денатурированные щелочью при комнатной температурѣ	176
Д. Дѣйствіе на высушенный при 100° бѣлокъ	177
Е. Дѣйствіе на экстракты изъ органовъ	179

Глава X.

Преципитины, полученные отъ введенія мясного сока и щелочныхъ мясныхъ экстрактовъ, денатурированныхъ по Schmidt'y	183
А. Дѣйствіе на бѣлки, денатурированные по Schmidt'y	186
Б. Дѣйствіе на нативные бѣлки	190
В. Дѣйствіе на 100°-бѣлки	192
Г. Дѣйствіе на бѣлки, денатурированные щелочью при комнатной температурѣ	199
Д. Дѣйствіе на высушенный при 100° бѣлокъ	200
Е. Дѣйствіе на экстракты изъ органовъ	201

Добавленіе.

Опредѣленіе содержанія бѣлковъ въ преципитируемыхъ растворахъ химическимъ путемъ	205
Обзоръ результатовъ и оцѣнка ихъ	213
Выводы	222

Введеніе.

Реакція преципитации, открытая Kraus'омъ въ 1897 году, кромѣ своего чисто теоретическаго интереса, какъ одна изъ реакцій иммунитета, имѣетъ и большое практическое значеніе. Примѣненіе этой біологической реакціи на практикѣ ограничивается главнымъ образомъ слѣдующими тремя областями: 1) діагностированіе болѣзней и бактерій, 2) дифференцированіе крови съ судебно-медицинскими цѣлями и 3) дифференцированіе мяса различныхъ видовъ животныхъ при контролѣ мясныхъ продуктовъ.

Результаты примѣненія преципитинной реакціи въ діагностикѣ инфекціонныхъ заболѣваній оказались далеко не во всѣхъ случаяхъ вполне удачными. Здѣсь надо упомянуть о брюшномъ тифѣ (Fornet, Meyer и др.) о сифилисѣ (Fornet и Шерешевскій, Eisengieser und Rosenfeld), о туберкулезѣ (Bonome, Stoerk и др.) и объ эпидемическомъ цереброспинальномъ менингитѣ (Vincent und Bellot, Lemoine и др.). Большее значеніе имѣетъ эта реакція при диагностикѣ ветеринарныхъ заболѣваній; при сальмонеллѣ (Дедюлинъ, Коневъ, Владимировъ, Miessner и др.), сибирской язвѣ (Ascoli, Valenti), рожѣ свиней (Isabolinsky und Patzewitsch и др.). Для послѣднихъ двухъ заболѣваній Ascoli предложилъ въ послѣднее время т. наз. „термопреципитинную“ реакцію.

Несравненно большее значеніе приобрѣла преципитинная реакція при дифференцированіи крови; основанная на

работах Чистовича и Bordet и предложенная Uhlenhuth'омъ въ 1901 году для судебно-медицинскихъ цѣлей, преципитинная реакція благодаря трудамъ Uhlenhuth'a, Jung'a, Beumer'a, Таранухина, Григорьева и мн. др. занимаетъ въ настоящее время прочное положеніе среди другихъ судебно-медицинскихъ методовъ постановки дифференціального діагноза крови.

Начало примѣненія біологическаго метода преципитации при контролѣ надъ фальсификаціями мясныхъ продуктовъ съ санитарной цѣлью надо считать съ 1901 года, когда Uhlenhuth въ № 45 Deutsche Medicin. Wochenschrift предложилъ преципитинную реакцію для опредѣленія происхождения мышечныхъ бѣлковъ отъ того или другого вида животныхъ. Вслѣдъ за статьей Uhlenhuth'a появился длинный рядъ работъ по этому вопросу (Jess, Piorkowski, Riegler, Nötzel, Ruppert, Gröning и др.), которыя вмѣстѣ съ появившимися за послѣднее время трудами Borchmann'a, Fiehe, Behre, Weidanz'a, Uhlenhuth'a, Fornet'a, Müller'a, Куррота и многихъ другихъ, выяснили пригодность этого метода для изслѣдованія мясныхъ продуктовъ, детально разработали технику примѣненія этого метода и выяснили степень вліянія тѣхъ или другихъ условій на теченіе и результатъ біологическаго изслѣдованія.

Вопросъ о пригодности этого біологическаго способа для опредѣленія видовъ мяса въ настоящее время настолько можетъ считаться рѣшеннымъ въ положительномъ смыслѣ, что имъ пользуются за границей городскія лабораторіи для открытія примѣси малоцѣнныхъ видовъ мяса при санитарномъ контролѣ его, какъ это видно изъ отчетовъ нѣкоторыхъ городовъ Германіи, напр.: Stuttgart'a, Magdeburg'a и др., а въ Германскій законъ относительно осмотра убойнаго скота и мяса 3-го Іюня 1900 г. внесены были правила біологическаго изслѣдованія мяса, опубликованныя 22-го

февраля 1908 г. и вступившія въ силу 1-го апрѣля того же года (Centralbl. für das Deutsche Reich 1908 г. pag. 26), а затѣмъ такія же постановленія были произведены въ Пруссіи (Ministerialverfügung betr. Schlachtvieh- und Fleischbeschau vom 13. Okt. 1908. Ministerialbl. des Königl. Preuss. Verwaltung für Landwirtschaft usw. 1908) и въ Württemberg'ѣ 17-го декабря 1908 года (Amtsblatt des Königl. Württemb. Minist. des Inneren, pag. 377). Къ сожалѣнію, не такъ обстоитъ дѣло въ Россіи, гдѣ ни одна городская лабораторія такихъ крупныхъ центровъ, какъ Казань, Кіевъ, Харьковъ, Саратовъ, Одесса, Варшава и Иркутскъ, не пользуется преципитиннымъ методомъ для контроля надъ фальсификаціями мясныхъ продуктовъ¹⁾.

Кромѣ мяса и мясныхъ продуктовъ съ помощью преципитации изслѣдовался съ различнымъ успѣхомъ цѣлый рядъ другихъ пищевыхъ продуктовъ и искусственныхъ питательныхъ препаратовъ, какъ животнаго, такъ и растительнаго происхожденія. Такъ Uhlenhuth²⁾, Schütze³⁾, Moro⁴⁾, Gengou⁵⁾ изслѣдовали различныя сорта молока съ помощью реакціи преципитации и имъ удавалось дифференцировать ихъ, если только молоко было невареное и не отъ двухъ родственныхъ видовъ животныхъ, какъ напр.: овечье и козье молоко.

Положительный результатъ дали изслѣдованія веществъ, содержащихъ въ большомъ количествѣ жиръ, а именно:

1) Въ С.-Петербургѣ примѣняется извѣдка; относительно Москвы свѣдѣній не имѣется.

2) Uhlenhuth „Zur Lehre von der Unterscheidung verschiedener Eiweissarten mit Hilfe spezifischer Sera“ — Festschrift für Robert Koch.

3) Schütze „Ueber ein biologisches Verfahren zur Differenzierung d. Eiweisstoffe verschiedener Milcharten“ — Zeitschr. für Hygiene 1901, Bd. 36.

4) Moro „Biolog. Beziehungen zwischen Milch und Serum“ — Wiener klin. Wochenschr. 1901, № 44.

5) Gengou „Sur les substances sensibilisatrices des sérums actifs contre les substances albuminoïdes“ — Annal. de l'Inst. Pasteur 1902, Bd. 16.

костного мозга (Uhlenhuth u. Weidanz¹⁾, Beumer²⁾ и Schütze³⁾, масла и маргарина (Schütze⁴⁾ и Uhlenhuth) и жира (Fiehe⁵⁾ и Hüne⁶⁾), при чемъ оказалось, что въ виду малаго содержанія бѣлковъ въ этихъ веществахъ надо брать ихъ для изслѣдованія въ большемъ количествѣ, а изъ покупныхъ сортовъ сала, какъ показали Hüne, не всѣ могутъ быть изслѣдованы биологическимъ способомъ: такъ бѣлыя сорта сала, какъ вытапливаемые при незначительной температурѣ, годятся для биологическаго открытiя бѣлка, и, наоборотъ, желтые сорта вытапливаются при такой высокой температурѣ, что всѣ бѣлки разрушаются.

При помощи реакціи преципитациі удалось Uhlenhuth'у доказать присутствіе коровьяго бѣлка въ Гематогенѣ Гоммеля и гемоглобинѣ, а въ мясномъ сокѣ „Puro“ Horiuchi und v. Gruber'омъ⁷⁾ былъ открытъ куриный бѣлокъ и не обнаруженъ коровій, что вполне согласуется съ данными и Schmidt'a⁸⁾. Затѣмъ Uhlenhuth'омъ⁹⁾ изслѣдовались на антисыворотку куриного бѣлка различные питательные

1) Uhlenhuth und Weidanz „Praktische Anleitung zur Ausführung des biologischen Eiweissdifferenzierungsverfahrens“ 1909. Jena.

2) Beumer „Die Untersuchung der Menschen- und Tierknochen auf biolog. Wege“. — Zeitschr. für Medizinalbeamte 1902, H. 23.

3) Schütze „Ueber die Unterscheidung von Menschen- und Tierknochen“. — Deutsche med. Wochenschr. 1903, № 4.

4) Schütze „Ueber einige praktische Anwendungen der Präzipitine in der Nahrungsmittelchemie“. — Zeitschr. für Hygiene und Infektionskrankh. Bd. LVII.

5) Fiehe „Ueber eine erweiterte Anwendung der Präzipitatreaktion“ — Zeitschr. für die Untersuchung der Nahrungs- u. Genussmittel 1908, Bd. 16.

6) Hüne „Die Anwendung des biologischen Verfahrens zum Eiweissnachweis im Fettgewebe und ausgelassenem Fett (Schmalz)“. — Arbeiten aus dem Kaiserlich. Gesundheitsamte 1908, Bd. 28.

7) Gruber und Horiuchi Münch. medic. Wochenschr. 1908, № 17. Цитирую по „Praktische Anleitung“ Uhlenhuth'a und Weidanz'a.

8) Schmidt „Woraus besteht Fleischsaft „Puro“. — Medizinische Klinik. 1908, № 21.

9) Uhlenhuth цитирую по „Praktische Anleitung“ Uhlenhuth'a und Weidanz'a.

препараты, имѣющіеся въ продажѣ, какъ Alkalialbuminat Deukes'a, пептонъ Riedel'я, нутроза, соматоза и др.

Изъ растительныхъ веществъ изслѣдовались альбумозы изъ пшеничной муки, ячменя, ржи, бобовъ, гороха, чечевицы и т. д., причемъ Kowarski¹⁾ и Bertarelli²⁾, получивъ впрыскиваніемъ тѣхъ или другихъ альбумозъ антисыворотку къ этимъ альбумозамъ, не могли добиться вполне специфичной антисыворотки, а потому приходятъ въ выводъ, что растительные бѣлки не такъ отличаются другъ отъ друга, какъ бѣлки животные; однако съ этимъ не вполне соглашаются другіе изслѣдователи (Gasis³⁾ и др.

Наконецъ, преципитинной реакціей пользовались для изслѣдованія и другихъ веществъ: меда (v. Riegler⁴⁾ различныхъ сортовъ дрожжей (Schütze) миндаля, маковыхъ, конопляныхъ и кокосовыхъ сѣмянъ (Uhlenhuth und Jung⁵⁾, Relander⁶⁾, Uhlenhuth und Haendel), грибовъ (Magnus und Friedenthal⁷⁾). Для большинства этихъ изслѣдованій биологическій способъ оказался мало пригоднымъ.

Относительно примѣненія реакціи преципитациі при изслѣдованіи вообще пищевыхъ продуктовъ въ настоящее

1) Kowarski „Ueber den Nachweis von pflanzl. Eiweiss auf biol. Wege“. — Deutsche med. Wochenschr. 1901, № 27.

2) Bertarelli „Die Verwendung der biol. Methode zur Auffindung und Diagnose der Hülsen-Früchtmehle mit besonderer Berücksichtigung der Wieke“. — Zentralbl. für Bakteriologie. 2. Abt. 1903, Bd. 11, H. 38.

3) Gasis „Ueber die Unterscheidung verschiedener Pflanzeneiweissarten mit Hilfe spezifischer Sera“. — Berlin. klin. Wochenschr. 1908, № 7.

4) v. Riegler „Die Serodiagnose in der Untersuchung der Nahrungsmittel“. — Oesterreich. Chemiker Ztg. 1902, № 5.

5) Uhlenhuth und Jung „Ueber ein Ausflockungsphänomen in künstlichem Serum normaler und vorbehandelter Tiere“. — Vortrag im Medizinischen Verein für Greifswald von 3. Decemb. 1904. — Ref. Deutsche med. Woch. 1905, № 14.

6) Relander „Kann man mit der Präzipitinreaktion Samen von verschiedenen Pflanzenarten und Abarten voneinander unterscheiden“ (Vorläufige Mitteilung). — Zentralbl. für Bakteriologie, (II. Teil) 1908, Bd. 20.

7) Magnus und Friedenthal „Ein experimenteller Nachweis natürlicher Verwandtschaft bei Pflanzen“. — Berichte der Deutsch. Bot. Gesellsch. 1906, Bd. 24, H. 10.

время говорить еще рано, такъ какъ большинство этихъ изслѣдованій, въ особенности продуктовъ растительнаго происхожденія, даютъ еще очень неясные и неопредѣленные результаты, хотя и по достигнутымъ до сихъ поръ даннымъ можно предполагать, что этотъ біологическій методъ изслѣдованія будетъ играть большое значеніе при контролѣ и оцѣнкѣ пищевыхъ продуктовъ, когда больше будутъ разработаны теоретическія основы этой реакціи, а вмѣстѣ съ тѣмъ выяснится большее примѣненіе ея на практикѣ.

Иное положеніе занимаетъ въ данный моментъ эта реакція въ методахъ изслѣдованія мяса и мясныхъ продуктовъ. Въ пригодности ея и даже въ преимуществѣ передъ другими методами (преломленіе экстрагированнаго жира, опредѣленіе іоднаго числа жира, опредѣленіе содержанія гликогена) для открытія примѣси мяса другихъ малоцѣнныхъ видовъ животныхъ сходятся почти всѣ работавшіе въ этой области авторы; такъ напр. Baier und Reuchlin¹⁾ въ концѣ своей работы „Über den Nachweis von Pferdefleisch mittels des biologischen Verfahrens“ говорятъ, что видятъ въ сывороточномъ методѣ давно искомое средство для борьбы со столь многочисленными фальсификаціями колбасъ, и что этотъ способъ долженъ быть внесенъ въ число другихъ методовъ по техникѣ изслѣдованія пищевыхъ продуктовъ. Такую же оцѣнку біологическому методу даютъ въ своей работѣ Uhlenhuth, Weidanz und Wedemann²⁾: „Dass die biologische Methode in der angegebenen Weise ausgeführt, sichere und einwandfreie Resultate liefert, steht ausser Zweifel“.

Такимъ образомъ мы видимъ, что біологическій методъ для изслѣдованія фальсификацій мяса и мясныхъ продуктовъ вполне примѣнимъ, при чемъ подвергаются изслѣдо-

1) Baier und Reuchlin — Zeitschr. für Untersuchung der Nahrungs- und Genussmittel 1908, Bd. 15, H. 9.

2) Uhlenhuth, Weidanz und Wedemann „Technik und Methodik des biologischen Verfahrens zum Nachweis von Pferdefleisch“. — Arbeiten aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte 1908, Bd. 28.

ванію рѣдко цѣлая туша и куски мяса, а гораздо чаще такіе мясные продукты, гдѣ возможно смѣшать различныя сорта мяса, а именно: рубленное мясо (Hackfleisch) или колбасы. Примѣсю же чаще всего бываетъ лошадиное мясо и значительно рѣже мясо кошки, собаки или рыбы, а также, въ зависимости отъ мѣстныхъ условій, мясо оленя, верблюда, кита и т. д.

При болѣе близкомъ знакомствѣ съ литературой о примѣненіи біологическаго метода для изслѣдованія колбасъ видно, что и при контролѣ надъ мясными продуктами реакція преципитации не всегда даетъ одинаково цѣнные результаты, а въ иныхъ случаяхъ оказывается совершенно непримѣнимой для практики. Это касается главнымъ образомъ изслѣдованія мясныхъ продуктовъ, подвергнутыхъ тѣмъ или другимъ воздѣйствіямъ, какъ-то: соленію, копченію, высушиванію, замораживанію или гніенію и, главнымъ образомъ, варенію.

Копченые, соленые и загнившіе мясные продукты при небольшихъ измѣненіяхъ техники могутъ еще изслѣдоваться этимъ біологическимъ методомъ; что же касается вареныхъ, то всѣ авторы удостовѣряютъ, что нагреваніе препятствуетъ преципитинной реакціи, и расходятся только въ оцѣнкѣ степени этого мѣшающаго вліянія.

Fornet und Müller¹⁾ такимъ образомъ высказываются въ своей работѣ „Praktische und theoretische Präzipitinuntersuchungen“, что если матеріалъ, подлежащій изслѣдованію, подвергается большому или меньшему нагреванію, то открытіе бѣлковъ біологическимъ способомъ или затрудняется или совсѣмъ становится невозможнымъ, и тутъ же авторы приводятъ собственные изслѣдованія колбасъ изъ лошадиного мяса, при чемъ у нихъ оказалось, что всѣ сорта колбасъ (Dauer- und Brüh-Würste), за исключеніемъ такъ

1) Fornet und Müller, — Zeitschr. für Hygiene und Infektionskrankheiten, 1910. Bd. 66.

называемой „Presskopf“, который при приготовлении слишком сильно кипятят, — дали при биологическом исследовании указания на лошадиное мясо.

Fiehe ¹⁾ говорит, что „преципитинная реакция дает возможность открывать даже незначительные количества лошадиного мяса с полным ручательством“ (mit völliger Sicherheit), — относительно же исследования вареных колбас высказывается, что ввиду извлечения незначительного количества бѣлка из вареных колбас „реакция получается сомнительная“.

Дѣйствительно из приводимой здѣсь таблицы, которая представляет изъ себя извлечение случаевъ съ варенымъ лошадинымъ мясомъ (№№ 6 и 7) изъ 1-ой таблицы и (№№ 5 и 15) изъ 2-ой таблицы помѣщенныхъ въ работѣ Fiehe

Таблица № 1.

№№ таблицъ	№№ случаевъ	Обозначение колбасы или мяса	Реакція послѣ:			Заключение	Дѣйствительное содержаніе пробы
			1—5 м.	30 м.	60 м.		
I	6	Mutzig	—	—	?	Лошад. мяса нѣтъ	Чистая вареная лошад. колбаса
"	7	Belchen	—	—	—	Лошад. мяса нѣтъ	50 % варен. лошад. мяса 50 % мяса рогатаго скота
II	5	Cervelatwurst	—	—	Плохое кольцо	Подозрѣніе на лошад. мясо	Вареная лошад. колбаса
"	15	Wurst aus Strassburg	—	—	Небольшое кольцо	Подозрѣніе на лошад. мясо	Вареная лошад. колбаса

1) Fiehe „Ueber den Nachweis von Pferdefleisch in Fleisch- und Wurstwaren mittels der Präcipitât-Reaktion“ — Zeitsch. für Untersuchung der Nahrungs- und Genussmittel 1907. Bd. 13, H. 12.

видно, насколько мало достовѣрные результаты даетъ реакція преципитации при исследованіи вареныхъ продуктовъ.

Baier und Reuschlin также категорически высказываются относительно примѣненія биологическаго способа для исследования неизмѣненныхъ мясныхъ продуктовъ: „Wir können vorausschicken . . . dass wir die brennende Frage des Pferdefleischnachweises mit Hilfe des biologischen Verfahrens für gelöst halten, soweit nicht Fleischwaren in Betracht kommen, die eine erhebliche Erhitzung bzw. Abkochung erlitten haben“.

Они также считают, что копчение, сушеніе, обработка консервирующими веществами, а также такія естественныя измѣненія, какъ гніеніе и заплесневѣніе мясныхъ продуктовъ не вліяетъ на исследование по биологическому способу, и, наоборотъ, вареніе или жареніе сильно затрудняютъ („vollständig verhindert“) наступленіе сывороточной реакціи.

Uhlenhuth, Weidanz und Wedemann считают, что примѣненіе биологическаго метода при исследованіи варенаго мяса не возможно; но если температура внутри куска мяса или колбасы не переходитъ 60°—70 C°, то реакція преципитации возможна, т. к. при этой температурѣ не всѣ бѣлки разрушаются и оставшіеся могутъ быть экстрагированы.

Наконецъ, и въ Ministerialverfügung betr. Schlachtvieh- und Fleischschau von 13 Okt. 1908 (Preussen) такъ говорится о непримѣнимости этой реакціи: „Nicht anwendbar ist es dann, wenn das Fleischeiweiss in unlöslichen Zustand übergeführt ist, wie es z. B. durch Kochen und scharfes Räuchern geschieht“.

Ф. А. Курроту ¹⁾ также не удалось получить реакціи съ преципитирующей сывороткой въ одномъ случаѣ, гдѣ объектомъ была „чайная колбаса“ (№ 18 табл. VI).

Понятно, что разъ всѣ авторы сходятся, что нагреваніе

1) Ф. А. Курротъ „Исследование мясныхъ продуктовъ на фальсификацію ихъ лошадинымъ мясомъ“. Дисс. Юрьевъ, 1912 г.

мясныхъ продуктовъ является большимъ препятствіемъ для примѣненія біологическаго метода на практикѣ; но въ то же время, какъ видно это изъ мнѣнія отдѣльныхъ авторовъ, препятствіе это зависитъ всецѣло отъ температуры и продолжительности нагрѣванія продуктовъ, — является необходимымъ выяснитъ, до какой температуры нагрѣваются колбасы и другіе мясные продукты, такъ какъ отсюда можно будетъ болѣе или менѣе близко подойти къ вопросу, примѣняли-ли реакція преципитации для изслѣдованія вареныхъ колбасъ.

Дѣйствительно, большинство работавшихъ надъ примѣненіемъ преципитинной реакціи для контроля пищевыхъ продуктовъ касалось этого вопроса (Fornet, Müller, Schmidt, Behre, Uhlenhuth, Weidanz, Wedemann, Borchmann, Baier, Reuchlin, Fiehe и др.). разсматривая его съ двухъ главныхъ образомъ сторонъ: во-первыхъ, какова температура внутри колбасъ при различныхъ условіяхъ нагрѣванія и, во-вторыхъ, даетъ-ли реакція преципитации положительный результатъ при изслѣдованіи колбасъ, подвергнутыхъ тому или другому нагрѣванію при опредѣленной продолжительности. Для рѣшенія вопроса, до какой температуры доходитъ нагрѣваніе внутри различныхъ сортовъ колбасъ при той обработкѣ, которой подвергаются обыкновенно эти сорта, Fornet und Müller даютъ въ своей работѣ такую таблицу.

Т а б л и ц а № 2.

Сорта колбасъ.	Поперечникъ колбасы	Продолжит. обвариванія кипяткомъ	t° кипятка	Максим. t° внутри колбасы	Продолж. экстрагир. бѣлковъ.	Біологич. изслѣдованіе	Ясная реакція послѣ:
Knackwurst . . .	2,0 см.	8 мин.	82,5	30,2	1 часъ	Полож.	1 часа
Fleischwurst . .	5,4 „	45 „	82,5	74,8	1 „	„	30 мин.
Lyonerwurst . . .	7,8 „	1 час.	82,5	75,0	1 „	„	30 мин.

Для измѣренія температуры внутри колбасъ они помѣщали въ серединѣ ихъ максимальный термометръ; болѣе продолжительное время колбасы нагрѣванію не подвергались, такъ какъ иначе онѣ становятся вязкими и невкусными. Изъ этой таблицы видно, что при температурѣ воды равной 82,5°C. максимальная температура внутри колбасы (Knackwurst) 80,2°C. черезъ 8 минутъ отъ начала обвариванія, при чемъ поперечникъ этой колбасы = 2 см. Если же взять колбасу болѣе толстую, съ поперечникомъ въ 7,8 см. (Lyonerwurst), то максимальная температура даже черезъ 1 часъ будетъ только 75,0°C при одинаково нагрѣтой водѣ. Разъ наибольшая температура при этихъ условіяхъ равняется 80,2°C, то можно ожидать, что и реакція преципитации дастъ благопріятные результаты, что и подтвердилось. Такъ какъ колбасы для этихъ опытовъ брались съ содержаніемъ $\frac{1}{8}$ — $\frac{1}{4}$ лошадиного мяса, то реакція преципитации съ лошадиной антисывороткой получалась положительной всякій разъ; особенностью же въ данныхъ опытахъ было то, что наступленіе ясной реакціи замедлялось (30—60 минутъ) по сравненію съ преципитацией неизмѣненныхъ бѣлковъ.

Очевидно, столь медленное повышеніе температуры внутри колбасъ объясняется плохой теплопроводностью колбасной массы, что и подтвердилъ съ ясностью проф. Schmidt¹⁾ въ работѣ „Studien über Präzipitinreaktion und erhitzte Eiweisstoffe“, при чемъ онъ бралъ свиную колбасу, открытую съ обѣихъ концовъ, въ 15 см. длиною и въ 4 см. въ поперечникѣ и, помѣстивъ внутри ея термометръ, погружалъ колбасу въ кипящую воду такъ, что вся она была покрыта водой. Повышеніе температуры внутри колбасы черезъ извѣстные промежутки времени Schmidt представилъ въ видѣ слѣдующей таблицы (стр. 311).

1) Schmidt — Biochemische Zeitschr 1908, Bd. 14, H. 3 u. 4.

Таблица № 3.

Начальная t' — 22°	Послѣ 8 мин. — 58°	Послѣ 18 мин. — 92°
Послѣ 3 мин. — 28°	„ 10 „ — 68°	„ 20 „ — 95°
„ 4 „ — 34°	„ 12 „ — 77°	„ 25 „ — 99-100°
„ 6 „ — 46°	„ 15 „ — 86°	

Wir sehen hier, говоритъ проф. Schmidt, dass die Temperatur infolge des schlechten Wärmeleitungsvermögens des Fleisches nur langsam steigt. . .“

Къ сожалѣнію, проф. Schmidt не производитъ параллельно повышенію температуры внутри колбасъ біологической реакціи, а поэтому не извѣстно, при какой продолжительности нагреванія колбасы въ кипящей водѣ примѣненіе реакціи преципитациі становится невозможнымъ. Другіе изслѣдователи также не даютъ такихъ систематическихъ опытовъ съ колбасами, изъ которыхъ можно было бы болѣе или менѣе точно установить границу примѣнимости преципитинной реакціи. Хотя почти всѣ изслѣдователи, одни болѣе опредѣленно, другіе менѣе, указываютъ ту температуру, выше которой біологическое открытіе бѣлковъ въ мясныхъ продуктахъ становится невозможнымъ.

Такъ Fiehe, Baier und Reuchlin и др. очень глухо говорятъ о вліяніи температуры на теченіе преципитациі и ограничиваются только констатированіемъ самаго факта, безъ указанія болѣе точныхъ границъ.

Болѣе опредѣленно высказываются Fornet und Müller, которые ставили опыты преципитациі съ лошадинымъ мясомъ, которое въ видѣ 6-ти угольныхъ кусковъ, вѣсомъ въ 25 гр., нагревалось въ кипящей водѣ, а также съ содержащимъ лошадиныхъ колбасъ, и получали преципитацию только въ томъ случаѣ, если нагреваніе длилось не болѣе 10 минутъ. Это они объясняютъ тѣмъ, что вслѣдствіе плохой теплопроводности мясныхъ продуктовъ температура внутри

большихъ кусковъ не достигаетъ температуры кипѣнія, и такимъ образомъ сохраняется возможность біологического открытія бѣлковъ.

Въ той же работѣ авторы ставятъ преципитацию съ бѣлками, нагрѣтыми при другихъ условіяхъ, а именно: они подвергали колбасы, лишенныя лошадиного мяса, но заключенныя въ лошадиныя кишки, нагреванію въ 80°-ной водѣ въ теченіи 1 часа и получали съ лошадиной антисывороткой положительный результатъ. Такимъ образомъ при нагреваніи при 100° въ теченіи 10 минутъ и при 80° въ теченіи 1 часа реакція еще можетъ получаться положительной.

Behre¹⁾ говоритъ только, что нагрѣтая въ теченіи 15 минутъ при 95° С. лошадиная колбаса давала еще ясную реакцію; отвѣтитъ же на вопросъ, можно-ли открыть лошадиное мясо въ сильно нагрѣтыхъ или сильно копченыхъ колбасахъ, — авторъ на основаніи своихъ опытовъ не можетъ. Weidanz und Borchmann²⁾ изслѣдовали, желая выяснитъ, какая изъ реакцій: преципитациі или отклоненіе комплемента, имѣетъ преимущество при изслѣдованіи мясныхъ продуктовъ, — слѣдующіе объекты: 1) сырую колбасу, 2) сильно копченую, въ теченіи 1—2 час. при 70—90° надъ открытымъ огнемъ (heiss geräuchert . . . 1—2 Stunden bei etwa 70—90° C. über offenem Feuer“), 3) сильно копченую и 6 минутъ, какъ это обыкновенно дѣлается, вареную въ кипящей водѣ, и 4) также копченую и 15 мин. (болѣе обыкновеннаго) вареную въ кипящей водѣ. Результатъ изслѣдованія этого матерьяла реакціей преципитациі

1) Behre „Der Nachweis von Pferdefleisch in der Wurst“. — Zeitschr. für Untersuchung der Nahrungs- und Genussmittel 1908, Bd. 15, H. 9.

2) Weidanz und Borchmann „Vergleichende Untersuchungen über die praktische Verwertbarkeit der Präzipitinreaktion und der Komplementbindungsmethode zum Nachweis von Pferdefleisch“. Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte 1908, Bd. 28, H. 3.

изложенъ въ таблицѣ, при чемъ крестики указываютъ на силу реакціи.

Таблица № 4.

Исследуемый материалъ — колбаса состоящая изъ лошадиного мяса + 25% коров. сала	П р е ц и п и т а ц і я			
	Дѣйствіе 0,1 к. с. лошадиной антисыворотки		Дѣйствіе 0,1 к. с. коровьей антисыворотки	
	Лошадин.	Рогат. скота	Лошадин.	Рогат. скота
1. Сырая колбаса . .	++++	—	—	++
2. Сильно копченая .	++	—	—	+
3. Сильно копченая и 6 мин. вареная . .	+	—	—	—
4. Сильно копченая и 15 мин. вареная . .	—	—	—	—

Такимъ образомъ изъ этихъ опытовъ выходитъ, что колбасы одинаково копченны, но варенны 6 мин. и 15 мин. разнятся въ томъ, что съ первой реакція преципитации удалась, тогда какъ съ вареной въ теченіи 15 мин. получился отрицательный результатъ.

Изъ таблицы видно также, что сила реакціи убываетъ параллельно большому нагрѣванію колбасы и, наконецъ, совсѣмъ не получается реакціи; при чемъ это прекращеніе реакціи зависитъ не только отъ продолжительности и температуры нагрѣванія колбасы, но также и отъ первоначальнаго количества бѣлковъ въ этихъ продуктахъ, что ясно видно изъ сравненія силы реакціи и болѣе скорого прекращенія ея при дѣйствіи коровьей антисыворотки съ тѣми же явленіями при дѣйствіи антисыворотки лошадиной.

Къ сожалѣнію, и опыты Weidanz'a и Borchmann'a не даютъ возможности установить предѣлъ нагрѣванія для реакціи преципитации, такъ какъ и время нагрѣванія здѣсь довольно неопредѣленное и температура сильно колеблется „1—2 Stunden bei etwa 70°—90° C. über offenem Feuer,“ не

указана толщина колбасъ; наконецъ, и само нагрѣваніе здѣсь двоякаго рода: копченіе и вареніе, а между тѣмъ извѣстно, что бѣлки въ сухомъ состояніи способны переносить значительно большее нагрѣваніе безъ потери біологическихъ свойствъ. Относительно температуры внутри колбасы при такомъ копченіи такъ говорятъ проф. Uhlenhuth и Weidanz: „Welcher Temperatur das Wursthinnere bei dem Heissräuchern ausgesetzt ist, müsste allerdings noch durch entsprechende Versuche ermittelt werden (стр. 152).

Проф. Uhlenhuth, Weidanz und Wedemann въ 1908 году въ своей работѣ „Technik und Methodik des biologischen Verfahrens zum Nachweis von Pferdefleisch“ очень неопредѣленно говорятъ объ отношеніи реакціи преципитации къ нагрѣванію: „Вареное мясо по біологическому методу не опредѣлимо, если способные къ реакціи бѣлки полностью разрушены кипяченіемъ. Если же температура внутри мяса не переходитъ 60°—70° C., то преципитинная реакція еще возможна“.

Въ 1909 году Uhlenhuth und Weidanz¹⁾ въ своей книгѣ болѣе опредѣленно высказываются о стойкости преципитинной реакціи къ нагрѣванію: „Bei einer Temperatur von 85—90° sind wir aber ausserdem schon so ziemlich an der Grenze der Reaktionsfähigkeit des Eiweisses angelangt“ (стр. 152).

Изъ всего этого перечня литературы видно, что вообще изслѣдованія о возможности примѣненія реакціи преципитации для контроля надъ фальсификаціей мясныхъ продуктовъ, денатурированныхъ нагрѣваніемъ, не обильны; что не имѣется систематическихъ наблюденій надъ измѣненіемъ силы преципитации въ связи съ увеличивающимся нагрѣваніемъ этихъ продуктовъ и надъ опредѣленіемъ границы нагрѣванія, при которой уже реакція не получается;

1) Uhlenhuth und Weidanz см. выше „Praktische Anleitung“.

а имѣющіяся данныя получены при настолько разнообразныхъ условіяхъ опыта (степень, продолжительность и видъ нагрѣванія, температура внутри мясныхъ продуктовъ и т. д.), что дѣлать какіе-либо выводы о стойкости преципитиногенныхъ свойствъ бѣлковъ къ денатурированію нагрѣваніемъ — не возможно.

Остается только доказаннымъ тотъ фактъ, что установленіе фальсификаціи мясныхъ продуктовъ біологическимъ способомъ затрудняется по мѣрѣ все большаго и большаго денатурированія нагрѣваніемъ и, наконецъ, совсѣмъ становится невозможнымъ.

Глава I.

Измѣненіе у бѣлковъ способности преципитироваться при нагрѣваніи ихъ.

Значительно больше и полнѣе разработаны теоретическій вопросъ о способности вообще бѣлковъ и, главнымъ образомъ, сывороточныхъ бѣлковъ послѣ опредѣленнаго нагрѣванія преципитироваться нативными антисыворотками. Еще первые изслѣдователи реакціи преципитации обращали вниманіе на этотъ вопросъ и старались такъ или иначе его разрѣшить, то опредѣляя температуру, при которой бѣлки уже не образуютъ съ нативной антисывороткой преципитата, то опредѣляя температуру, которую бѣлки еще переносятъ безъ потери біологическихъ свойствъ.

Разсматривая вопросъ о способности денатурированныхъ нагрѣваніемъ бѣлковъ преципитироваться нативными сыворотками, надо прежде всего различать нагрѣваніе бѣлковъ въ сухомъ состояніи и въ растворѣ.

А. Нагрѣваніе въ сухомъ состояніи.

Nuttall¹⁾, Ferrai²⁾, Biondi³⁾, Modica⁴⁾, Uhlenhuth und Beumer⁵⁾ и Schmidt применяли въ общемъ одинаковую методику: подвергали высушенный бѣлокъ кровяной сыворотки нагрѣванію и затѣмъ, переводя его въ растворъ, опредѣляли, даетъ-ли соответствующая нативная антисыворотка преципитацию съ этимъ растворомъ или нѣтъ. Первый авторъ показалъ, что такой бѣлокъ не теряетъ способности преципитироваться и послѣ 30 минутнаго нагрѣванія при 100° С. Ferrai же бралъ болѣе высокія температуры и опредѣлилъ, что способность бѣлковъ кровяной сыворотки къ реакціи преципитации полностью разрушается, если нагрѣвать при 130° — 1 часъ, или при 140° — 20 минутъ, или при 150° — 10 минутъ и, наконецъ, при 160° — 5—10 минутъ. Эти данныя находятъ подтвержденіе и у другихъ изслѣдователей (Biondi не получалъ реакціи съ кровью нагрѣтой до 160°), но и Ferrai не опредѣлилъ точно границы нагрѣванія, по одну сторону которой бѣлокъ еще способенъ къ реакціи, а по другую — эта способность уже разрушена.

Этотъ пробѣлъ старался заполнить Schmidt, который производилъ систематическіе опыты для выясненія этого во-

1) Nuttall „Blood immunity and blood relationship etc.“ — Cambridge 1904, University Press.

2) Ferrai „Sulla diagnosi specif. del sangue col metodo biologico in medicina legale“. — Estratto del Bollettino della R. Accademia Medica di Genova Ann. 1901, Bd. 16, № 7. Цитирую по „Studien über Präcipitinreaktion“ Schmidt'a.

3) Biondi „Beitrag zum Studium der biolog. Methode für die spez. Diagnose des Blutes“. — Vierteljahrsschr. für gerichtl. Med. und öffentl. Sanitätsw. 1902, 3. Folge, Bd. 23.

4) Modica „Nuovo ricerche sul metodo biologico per la diagnosi di specie del sangue“. — Arch. Farm. 1907, 5. Цитир. по „Studien über Präcipitinreaktion“ Schmidt'a.

5) Uhlenhuth und Beumer „Praktische Anleitung zur gerichtl. ärztlichen Blutuntersuchung mittels der biologischen Methode“. — Zeitschr. für Med. Beamte 1903, №№ 5 u. 6.

проса. Для этого онъ бралъ вполнѣ высушенную, растертую въ мелкій порошокъ лошадиную сыворотку, запаивалъ ее въ тонкія стеклянныя трубочки и нагрѣвалъ въ параффиновой банѣ при 110°, 130° и 150°. Нагрѣтую такимъ образомъ сыворотку онъ растиралъ съ физиологическимъ растворомъ поваренной соли въ ступкѣ и прозрачную отфильтрованную жидкость испытывалъ на способность ея къ преципитации нативной лошадиной антисывороткой.

Оказалось, что реакціонная способность бѣлка не уничтожается послѣ 2-хъ часового нагрѣванія при 110°, при чемъ реакція наступаетъ быстро, какъ и съ нативными бѣлками; а количество преципитата немного меньше, что Schmidt объясняетъ не вполнѣ полной растворимостью нагрѣтыхъ бѣлковъ. 1/2 и 1 часовое нагрѣваніе при 130° тоже еще не уничтожаетъ біологическихъ свойствъ бѣлковъ, но преципитация получается уже значительно слабѣе, особенно послѣ 1 часового нагрѣванія, что надо объяснять не только трудной растворимостью бѣлковъ, но и наступающимъ измѣненіемъ преципитируемыхъ веществъ. И только послѣ 30 и 60 минутнаго нагрѣванія сухой лошадиной сыворотки при 150° реакція преципитации съ этими сыворотками не удавалась, несмотря на то, что въ виду трудной растворимости нагрѣтой сыворотки она оставлялась на сутки со стерильнымъ физиологическимъ растворомъ поваренной соли; при чемъ растворъ послѣ суточного стоянія довольно сильно пѣнился и по химической пробѣ содержалъ приблизительно столько бѣлка, сколько его въ 1 : 400 разбавленной обыкновенной сывороткѣ.

Значить, по опытамъ Schmidt'a видно, что у сухихъ бѣлковъ способность къ образованію преципитата уничтожается при нагрѣваніи въ теченіи 1/2—1 часа отъ 130° до 150°. Эти результаты указываютъ на большую стойкость біологическихъ свойствъ сухихъ бѣлковъ, чѣмъ это находилъ Ferrai, такъ какъ у него 1 часовое нагрѣваніе при

130° уже уничтожаетъ способность къ преципитации, тогда какъ у Schmidt'a бѣлки и послѣ этого еще не теряютъ этой способности.

Б. Нагрѣваніе въ растворѣ.

Вопроса о способности бѣлковъ въ растворѣ переносить нагрѣваніе безъ потери біологическихъ свойствъ касался цѣлый рядъ изслѣдователей; сводку всѣхъ полученныхъ по этому вопросу данныхъ сдѣлалъ въ своей работѣ Nuttall, который даетъ такую таблицу (№ 5).

Т а б л и ц а № 5.
Вліяніе нагрѣванія на преципитируемое вещество.

Нагрѣваемое вещество	Температура нагрѣванія		Замѣчанія	Авторы
	Разрушается при	Переносить		
Сыворотка угря . .	80°	58°	Незнач. реакція	Чистовичъ ¹⁾
Куриный бѣлокъ . .	—	56°	1/2 ч. вліяетъ незначит.	Meyers ²⁾
Растворъ глобулина коровьей и бараньей сыворотки	—	56°	1/2 ч. вліяетъ незначит.	Meyers ²⁾
Куриная сыворотка .	—	70°	1/2 часа	Bordet ³⁾
Моча содержащая бѣлокъ	—	58°	2 часа	Leclainche et Vallée ⁴⁾
Молоко	100° — 1/2 часа	—	Никакой реакц.	Schütze ⁵⁾
Молоко	—	100°	1/2 ч. еще реагируетъ	Müller ⁶⁾
Яичный бѣлокъ . .	78° — 1—1 1/2 ч.	—	Никакой реакц.	Eisenberg ⁷⁾
Сыворотка 1 : 100 . .	100° — 5 мин.	55°	1/2 ч. безъ вліянія	Nuttall ⁸⁾
Сыворотка 1 : 10 . .	65° — 24 часа	60°	4 дн. безъ вліянія	Linossier et Lemoine ⁹⁾

1) Чистовичъ „Etudes sur l'immunisation contre le sérum d'anguille“. — Ann. de l'Inst. Pasteur 1899, T. 13, pag. 406.

Такъ какъ Nuttall видѣлъ, что изъ этой таблицы нельзя сдѣлать никакихъ опредѣленныхъ выводовъ, потому что авторы брали различные объекты или одинаковые объекты, но въ различныхъ разведеніяхъ, не производили полныхъ систематическихъ опытовъ, а самые результаты часто противорѣчили результатамъ другихъ авторовъ, то Nuttall предложилъ Graham-Smith'y произвести систематическіе опыты надъ термостабильностью преципитируемыхъ веществъ кровяной сыворотки.

Для этого Graham-Smith¹⁰⁾ бралъ неразведенную кововую сыворотку въ трубкѣ въ I к. с. и подвергалъ въ теченіи 3-хъ минутъ нагреванію въ водяной банѣ при температурѣ отъ 40° до 75°. Затѣмъ нагретая сыворотка разводилась 1:21 въ физиологическомъ растворѣ поваренной соли и испытывалась антисывороткой рогагого скота. Количество преципитата обозначалось въ процентахъ по отношенію къ осадку пенагрѣтой сыворотки. Результаты приведены въ таблицѣ № 6.

Отсюда выходитъ, что 3-хъ минутное нагреваніе при 55° ослабляетъ преципитинную реакцію, а нагреваніе такой же продолжительности при 64° С уничтожаетъ совсѣмъ эту реакцію. Такимъ образомъ Graham-Smith устанавливаетъ

2) Meyers цитирую по „Studien über Präcipitinreaktion“. . . . Schmidt'a.

3) Bordet Bull. Soc. Royal. Science Med. et Nat. Bruxelles. Vol. LIX.

4) Leclainche et Vallée. Compt. rend. de la soc. de biol. 1901.

5) Schütze. „Ueber ein biologisches Verfahren zur Differenzierung der Eiweissstoffe verschiedener Milcharten“. — Zeitsch. für Hygiene 1901. Bd. 36.

6) Müller — Archiv für Hygiene 1902, Bd. 14.

7) Eisenberg „Beiträge z. Kenntnis der spez. Präzipitationsvorgänge“. Bull. acad. de soc. de biol. Mai 1902.

8) Nuttall „On the formation of. specific. antibodies etc.“. Journ. of Hyg. 1901, Vol. I.

9) Linossier et Lemoine — Compt. rend. de la soc. de biol. 1902, T. LIV., pag. 85, 322, 369—372, 415—417. Цитир. по „Studien über Präcipitinreaktion“. . . . Schmidt'a.

10) Graham-Smith „The Biological or Precipitin Test for Blood considered mainly from its medicolegal aspect“. — Journ. of Hyg. 3, 1903.

Т а б л и ц а № 6.

t°	Колич. преципитата въ ‰	t°	Колич. преципитата въ ‰	t°	Колич. преципитата въ ‰
Неагр.	100	58°	82	65°	0
40°	100	59°	74	66°	0
45°	100	60°	71	67°	0
50°	100	61°	71	68°	0
55°	85	62°	71	69°	0
56°	85	63°	46	70°	0
57°	85	64°	0	75°	0

точную границу инъактивированія сыворотки, взятой въ неразведенномъ видѣ.

Уже опять другую границу инъактивированія сыворотки даютъ Obermayer und Pick¹⁾. Они говорятъ, что при нагреваніи до 60—70° замѣчается ослабленіе преципитированія нативной сывороткой, а при кипяченіи сыворотки, но когда она еще не свернулась, эта способность совсѣмъ исчезаетъ. Значитъ, по ихъ мнѣнію, инъактивированіе происходитъ при 100°-номъ нагреваніи, при чемъ о продолжительности нагреванія они не говорятъ; а о точной границѣ инъактивированія въ противоположность Graham-Smith'y высказываются такъ: „Eine scharfe Grenze für die „Inaktivierung“ kann nicht gezogen werden“.

Въ 1908 году Schmidt опубликовалъ свои изслѣдованія по этому вопросу. Въ общемъ его результаты о термостабильности преципитируемыхъ веществъ сыворотки сходятся съ результатами Obermayer'a und Pick'a; достоинствомъ

1) Obermayer und Pick. Offizielles Protokoll der K. K. Gesellschaft der Aerzte in Wien. Sitzung von 22. Mai 1903. — Wien. klin. Wochenschr. 1903, № 22.

же опытовъ Schmidt'a является то, что имъ выработана методика изслѣдованія нагрѣтыхъ сыворотокъ; при чемъ не только обращалось вниманіе на продолжительность нагрѣванія, но учитывались и болѣе мелкіе факторы, могущіе вліять на точность опредѣленія.

Нагрѣванію подвергалась неразбавленная сыворотка и въ разведеніяхъ 1:1 и 1:10, при этомъ гораздо чаще именно разведенная; время нагрѣванія было 30—60 минутъ, а температура 70°, 75°, 80°, 85°, 90° и 100°. Послѣ нагрѣванія сыворотки доводились до разведенія 1:50 и 1:100 и къ 2 к. с. этихъ растворовъ прибавлялось по 10 капель нативной преципитирующей сыворотки. Высота образовавшагося черезъ 24 часа преципитата измѣрялась въ миллиметрахъ.

Опыты Schmidt'a надъ преципитинной реакціей съ лошадиной сывороткой представлены имъ въ видѣ таблицы (№ 7).

Таблица № 7.

Растворы сыворотки нагрѣтой въ разведеніи 1:1	Количество осадка	Растворы сыворотки нагрѣтой въ разведеніи 1:10	Количество осадка.
1:100 ненагрѣтой сыворотки	около 10 mm.	1:100 ненагрѣтой сыворотки	около 10 mm.
" 30 мин. 70°	" 10 "	" 30 мин. 70°	" 7 "
" 60 " 70°	" 7 "	" 60 " 70°	" 7 "
" 30 " 75°	" 5 "	" 30 " 75°	" 6 "
" 60 " 75°	" 4 "	" 60 " 75°	" 5 "
" 30 " 80°	" 4 "	" 30 " 80°	" 4 "
" 60 " 80°	" 4 "	" 60 " 80°	" 4 "
" 30 " 85°	" 3 "	" 30 " 85°	" 3 "
" 60 " 85°	" 2—3 "	" 60 " 85°	" 2 "
" 30 " 90°	" 1—2 "	" 30 " 90°	" 1—2 "
" 60 " 90°	" 1—2 "	" 60 " 90°	" 1—2 "
" 30 " 100°	0	" 30 " 100°	0

Такимъ образомъ изъ этихъ опытовъ Schmidt'a выходитъ, что лошадиная сыворотка можетъ переносить довольно

значительное по температурѣ и продолжительности нагрѣваніе безъ потери способности преципитироваться нативной антисывороткой, и только при нагрѣваніи до 100° въ теченіи 30 минутъ сыворотка послѣ прибавленія преципитина не даетъ опредѣленнаго осадка, хотя помутнѣніе при этомъ и получается: „Das auf 100° erhitzte Serum wurde nach Zusatz von Nativ-Präcipitin nicht mehr gefällt, noch konnte eine Trübung mit Sicherheit festgestellt werden“.

Дѣйствительно Schmidt'y легко удавалось дифференцировать съ помощью нативнаго преципитина сыворотку, которая нагрѣвалась въ теченіи 1 часа при 90°. Что же касается ослабленія преципитации, то оно замѣчается уже при нагрѣваніи около 70°, при чемъ, какъ выяснилось, здѣсь играетъ роль то или иное разведеніе нагрѣваемой сыворотки, а также продолжительность нагрѣванія. Это видно изъ сравненія количествъ осадковъ при нагрѣваніи въ теченіи 30 минутъ при 70° сыворотки, разведенной 1:1 и 1:10; въ то время какъ количество осадка перваго разведенія (10 mm.) не измѣняется по сравненію съ осадкомъ ненагрѣтой сыворотки, количество осадка разведенія 1:10 уменьшается на 30% (7 mm.), отсюда выходитъ, что чѣмъ болѣе разбавлена сыворотка, тѣмъ легче она инъактивируется. Изъ сравненія же нагрѣванія при 70° въ теченіи 30 и 60 минутъ одного и того же разведенія сыворотки (1:1) видно, что послѣ 1/2 часового нагрѣванія ослабленія біологическихъ свойствъ не замѣтно, а послѣ 1 часового оно появляется; хотя не во всѣхъ случаяхъ замѣчается такая разница отъ продолжительности нагрѣванія; изъ чего можно заключить, что продолжительность нагрѣванія не играетъ уже такой большой роли въ денатурированіи бѣлковъ.

Почти такіе же результаты съ денатурированіемъ бѣлковъ получали Fernet und Müller въ 1910 г., только опыты ихъ были менѣе систематичны: они брали лошадиную сыворотку въ разведеніи 1:1000 и нагрѣвали въ теченіи

различнаго времени въ кипящей водяной банѣ, а затѣмъ испытывали эти нагрѣтые сывороточные бѣлки нативной лошадиной антисывороткой. Оказалось, что при нагрѣваніи въ теченіи 15 минутъ и болѣе реакція преципитации съ этими бѣлками не получалась.

Такимъ образомъ F o r n e t und M ü l l e r, взявъ въ своихъ опытахъ постоянную температуру, измѣняли время нагрѣванія, т. е. какъ разъ тотъ факторъ, которому наименьшую роль приписываетъ S c h m i d t, и получали, увеличивая время нагрѣванія, инъактивированіе бѣлковъ.

Разсматривая всѣ до настоящаго времени полученныя данныя о способности бѣлковъ, денатурированныхъ нагрѣваніемъ, преципитироваться соотвѣтствующей нативной антисывороткой, надо, дѣйствительно, дѣлать большую разницу между нагрѣваніемъ бѣлковъ въ сухомъ состояніи и въ растворѣ. Сухіе бѣлки обладаютъ значительно большей сопротивляемостью къ нагрѣванію безъ потери ихъ біологическихъ свойствъ. Такъ, въ то время какъ бѣлокъ въ растворѣ теряетъ способность преципитироваться уже при 100°-номъ нагрѣваніи въ теченіи 30 минутъ обязательно, а по мнѣнію многихъ авторовъ (Linosier et Lemoine, Eisenberg, Чистовичъ и др.) даже еще раньше (отъ 65° до 80°); сухіе бѣлки по мнѣнію почти всѣхъ изслѣдователей переносятъ безъ потери способности преципитироваться температуры отъ 100° и выше, а по даннымъ S c h m i d t'a теряютъ эту способность послѣ 30 мин. нагрѣванія при 150° С.

Мнѣнія большинства авторовъ относительно стойкости къ нагрѣванію сухихъ бѣлковыхъ тѣлъ сходятся, отличаясь незначительно въ опредѣленіи болѣе или менѣе точной границы этой сопротивляемости. Этого нельзя сказать относительно опредѣленія болѣе важнаго для практики вопроса о стойкости къ нагрѣванію бѣлковъ въ растворѣ, такъ какъ здѣсь нѣтъ согласія между результатами отдѣльныхъ авторовъ къ въ вопросѣ о границѣ разрушенія біологическихъ

свойствъ бѣлковъ, такъ и въ вопросѣ о той температурѣ, которую еще можетъ переносить бѣлокъ въ растворѣ.

Нагрѣваніе въ кипящей банѣ (100°) большинство изслѣдователей считаетъ разрушающимъ преципитируемые вещества бѣлковъ въ растворѣ, но и они расходятся въ вопросѣ о времени, которое необходимо для этого:

Schütze считаетъ необходимымъ $\frac{1}{2}$ часа, также и Schmidt, Nuttall — 5 мин., F o r n e t und M ü l l e r — 15 минутъ, а Obermayer und Pick совсѣмъ не упоминаютъ о времени нагрѣванія. Другая же часть изслѣдователей держится того мнѣнія, что денатурированіе бѣлковъ происходитъ при болѣе низкой температурѣ: такъ G r a h a m - S m i t h считаетъ, что это происходитъ въ теченіи 3-хъ минутъ при 64°, L i n o s s i e r et L e m o i n e — при 65° въ теченіи 24 часовъ; E i s e n b e r g — при 78° въ теченіи 1—1 $\frac{1}{2}$ часовъ и Ч и с т о в и ч ѣ — при 80° безъ опредѣленія времени.

Это различіе можно бы было объяснить тѣмъ матеріаломъ (бѣлкомъ), который подвергался изслѣдованію, но если взять самыя противоположныя мнѣнія (Graham-Smith — 64° и 3 минуты и Schmidt — 100° и 30 минутъ), то въ обоихъ случаяхъ изслѣдуемый матеріалъ былъ одинъ и тотъ же — сыворотка. Очевидно, что причина этого кроется въ чемъ-то другомъ, и скорѣе всего въ методикѣ изслѣдованія.

Что же касается ослабленія, но не полного разрушенія, преципитируемыхъ веществъ бѣлковъ, то и тутъ нѣтъ согласія между мнѣніями отдѣльныхъ авторовъ, хотя въ общемъ здѣсь меньше противорѣчія между полученными результатами; такъ большинство сходится на томъ, что ослабленіе біологическихъ свойствъ бѣлковъ уже замѣчается при нагрѣваніи между 55° и 60°, нѣкоторые же замѣчали это при 70° нагрѣванія: M e y e r s 56°— $\frac{1}{2}$ часа, G r a h a m - S m i t h — 55°—3 мин., Ч и с т о в и ч ѣ 58° (не обозначая времени), O b e r m a y e r und P i c k — 60°—70° (тоже безъ обозначенія времени) и S c h m i d t 70°—30—60 мин. Только

одинъ Müller находилъ, что бѣлокъ (молоко) послѣ $\frac{1}{2}$ часового нагрѣванія при 100° еще реагируетъ безъ замѣтныхъ измѣненій съ нативной антисывороткой; однако это изслѣдованіе пока остается въ единственномъ числѣ.

Но въ то же время есть и другіе довольно рѣзко противорѣчащіе результаты; такъ Linossier et Lemoine нагрѣвали сыворотку, разведенную 1:10, до 60° въ теченіи 4 дней и не находили никакой разницы въ реакціи съ нативной антисывороткой; а Bordet нагрѣвалъ съ тѣмъ же отрицательнымъ результатомъ куриную сыворотку $\frac{1}{2}$ часа при 70° .

Поэтому если дѣлать какія-нибудь обобщенія изъ существующей литературы о термостабильности преципитируемыхъ веществъ бѣлковъ, то ихъ надо дѣлать съ большою осторожностью и съ оговоркой, что выводы дѣлаются на основаніи результатовъ большинства изслѣдователей, при чемъ не надо забывать, что результаты меньшинства могутъ довольно рѣзко противорѣчить дѣлаемому выводу; а объяснить въ настоящее время такое несогласіе въ выводахъ представляется невозможнымъ.

Оговорившись такимъ образомъ, мнѣ представляется наилучшимъ сдѣлать изъ литературы по этому вопросу слѣдующія заключенія: 1) Сухой бѣлокъ способенъ переносить значительно большее нагрѣваніе, чѣмъ бѣлокъ въ растворѣ; 2) Границей нагрѣванія, у которой сухой бѣлокъ теряетъ способность преципитироваться нативной антисывороткой, является температура около 150° ; 3) Таковой же границей для бѣлка въ растворѣ является 100° . 4) Ослабленіе въ образованіи преципитата въ бѣлковыхъ растворахъ замѣчается уже при нагрѣваніи до $55-60^{\circ}$; 5) Въ ослабленіи играетъ значеніе отчасти болѣе трудная растворимость нагрѣтыхъ бѣлковъ, а главное денатурированіе самой бѣлковой частицы.

Способы изслѣдованія нагрѣтыхъ мясныхъ продуктовъ.

Глава 2.

Измѣненіе техники изслѣдованія.

Итакъ въ настоящее время можно считать установленнымъ, что реакціей преципитации вполне можно пользоваться для контроля надъ фальсификаціей мясныхъ продуктовъ, кромѣ продуктовъ подвергнутыхъ болѣе или менѣе продолжительному нагрѣванію, гдѣ преципитинная реакція даетъ менѣе вѣрные результаты. Между тѣмъ такихъ продуктовъ (подвергнутыхъ нагрѣванію), въ особенности колбасъ, поступаетъ въ продажу довольно много.

Если сопоставить данныя, добытыя работавшими теоретически надъ вопросомъ о термостабильности преципитируемыхъ веществъ, съ тѣми данными, которыя имѣются относительно обработки мясныхъ продуктовъ различнымъ нагрѣваніемъ той или иной продолжительности, то можно увидѣть, что денатурированные мясные продукты или достигаютъ температуры, при которой ослабляются біологическія свойства бѣлковъ — 55° и выше, или той, при которой образованіе преципитата съ помощью нативной сыворотки полностью становится невозможнымъ.

Понятно поэтому желаніе цѣлаго ряда изслѣдователей сдѣлать способъ преципитации примѣнимымъ для изслѣдованія подвергнутыхъ нагрѣванію мясныхъ продуктовъ.

Работы для разрѣшенія этого вопроса велись въ двухъ направленіяхъ: съ одной стороны, старались сдѣлать продукты, подвергнутые не чрезмѣрно сильному нагрѣванію, доступными изслѣдованію сывороткой, полученной отъ нативныхъ бѣлковъ, измѣнивъ для этого методику изслѣдо-

ванія, съ другой стороны, для продуктовъ, лишенныхъ совершенно возможности преципитироваться такими антисыворотками, стремились получить спеціальныя антисыворотки, годныя для изслѣдованія нагрѣтыхъ бѣлковъ (Hitze Präcipitin).

Что касается тѣхъ измѣненій въ методикѣ изслѣдованія нагрѣтыхъ мясныхъ продуктовъ, которыя необходимы, чтобы сдѣлать эти продукты доступными изслѣдованію нативными сыворотками, то почти всѣ они вытекаютъ изъ того факта, что при нагрѣваніи бѣлковые вещества становятся менѣе растворимыми, а потому легко получить отрицательный результатъ не оттого, что въ данномъ случаѣ не имѣется бѣлка искомаго вида животнаго, а просто отъ слишкомъ малаго содержанія вообще бѣлка въ экстрактѣ. Такъ какъ вслѣдствіе плохой теплопроводности мяса наименьшаго измѣненія бѣлковъ можно ждать внутри мясныхъ продуктовъ, и колбасъ въ частности, то правило: брать необходимое количество матерьяла изъ середины продукта, особенно точно должно исполняться при изслѣдованіи вареныхъ и копченыхъ продуктовъ (Uhlenhuth, Weidanz, Baier, Reuchlin и др.). Въ то время какъ Uhlenhuth, Weidanz und Wedemann говорятъ, что для біологическаго изслѣдованія достаточно имѣть мяса съ булавочную головку, этого нельзя сказать при изслѣдованіи мясныхъ продуктовъ, подвергнутыхъ нагрѣванію, такъ какъ здѣсь надо брать большее количество матерьяла, чтобы получить экстрактъ болѣе концентрированный (Fiehe и др.).

Для этой же цѣли авторы, работавшіе съ нагрѣтыми мясными продуктами, предлагаютъ экстрагировать болѣе продолжительное время, такъ какъ только при такихъ условіяхъ всѣ бѣлковые вещества, способныя еще реагировать съ антисыворотками, могутъ перейти въ экстрактъ.

Напримѣръ: Fernet und Müller совѣтуютъ такъ приготовить экстрактъ: они берутъ кусокъ варенаго мяса (около 25 гр.), растираютъ его съ 60 к. с. фізіологическаго раствора

повареной соли въ ступкѣ и сохраняютъ въ ледяномъ шкафу, а передъ опытомъ его фильтруютъ и испытываютъ антисывороткой. Для того чтобы избѣгнуть процессовъ разложенія въ экстрактѣ, авторы работаютъ по возможности стерильно, прибавляютъ нѣсколько капель хлороформа и сохраняютъ экстрактъ на холоду; наконецъ, для сокращенія времени экстрагирования примѣняютъ Schüttelapparat.

Примѣняя такую методику, авторамъ удавалось получить реакцію съ лошадиной антисывороткой въ такихъ случаяхъ, въ которыхъ безъ примѣненія этихъ предосторожностей реакція не удавалась.

Weidanz und Borchmann для лучшаго экстрагирования изъ копченыхъ и вареныхъ колбасъ существующихъ еще тамъ растворимыхъ бѣлковъ растираютъ 30 гр. колбасной массы съ 50 к. с. фізіологическаго раствора въ ступкѣ стеклянной палочкой, ставятъ на 1 часъ въ Schüttelapparat, а потомъ на 2 дня на ледъ. Затѣмъ смѣсь центрифугируютъ, отсасываютъ пипеткой съ осадка и фильтруютъ до прозрачности или черезъ бумагу или черезъ фильтръ съ порошкомъ инфузорной земли.

Uhlenhuth, Weidanz und Wedemann въ своей работѣ „Technik und Methodik des biologischen Verfahrens zum Nachweis von Pferdefleisch“ прямо указываютъ, что экстрагировать вареные продукты надо 24 часа; а въ „Praktische Anleitung zur Ausführung“ и т. д. авторы говорятъ, что въ то время, кк. для свѣжаго мяса экстрагировать надо около $\frac{1}{4}$ часа, для варенаго необходимо „много часовъ“. Экстрактъ послѣ такого экстрагирования даже при повторномъ фильтрованіи черезъ бумагу не становится прозрачнымъ, а потому приходится фильтровать его съ порошкомъ инфузорной земли.

Обязательнымъ, наконецъ, требованіемъ для экстракта изъ денатурированныхъ продуктовъ является изслѣдованіе его до постановки опыта преципитации химически на бѣлокъ,

такъ какъ въ этихъ случаяхъ особенно легко можетъ зависить отрицательный результатъ отъ отсутствія вообще бѣлковъ.

Наконецъ, чтобы сдѣлать реакцію преципитации болѣе чувствительной, что необходимо для изслѣдованія денатурированныхъ нагрѣваніемъ бѣлковъ, рекомендуется пользоваться при самой постановкѣ опыта преципитации способомъ „переслаиванія жидкостей“ (Schicht-probe).

Дѣло въ томъ, что первоначально при постановкѣ реакціи преципитации прямо смѣшивали бѣлковый растворъ и иммунную сыворотку и о результатѣ судили по полученію или неполученію осадка, при чемъ такъ описываютъ Fernet und Müller картину при положительномъ результатѣ „eine über die ganze Flüssigkeit verteilte, ganz dichte, feinste, gleichmässige Körnung“, а черезъ 24 часа при стояніи въ ледяномъ шкафу на днѣ пробирки образуется „ein sehr charakteristischer landkartenförmig begrenzter Bodensatz“.

Первымъ примѣнилъ другой способъ преципитации Ascoli¹⁾, который, наливая въ капиллярныя трубочки жидкости для открытія незначительныхъ количествъ крови въ судебно-медицинскихъ цѣляхъ, невольно получалъ не смѣшеніе жидкостей, а переслаиваніе. Также работали и Hauser²⁾.

Но у этихъ авторовъ переслаиваніе происходило вслѣдствіе капиллярности трубокъ; сознательно примѣнять такое переслаиваніе жидкостей въ болѣе широкихъ пробиркахъ стали Fernet und Müller, при чемъ они замѣтили, что черезъ одинъ часъ реагировала только часть жидкости, а остальная оставалась прозрачной. Такимъ образомъ на мѣстѣ соприкосновенія двухъ жидкостей получалось помутнѣніе въ

1) Ascoli „Neue Tatsachen und neue Ausblicke in die Lehre der Ernährung“. — Münch. med. Wochenschr. 1903, S. 201—204.

2) Hauser „Ueber einige Erfahrungen bei Anwendung der serodiagnostischen Methode für gerichtliche Blutuntersuchungen“. — Münch. med. Wochenschr. 1904, № 7.

видѣ кольца (отсюда второе названіе этой пробы — „Ringprobe“), что даетъ преимущество въ смыслѣ болѣе легкаго опредѣленія появленія преципитата, какъ это получается и при опредѣленіи бѣлка по способу Heller'a. Опубликована была эта проба съ разрѣшенія авторовъ Fiehe¹⁾ и цѣнность ея подтверждена работами Carnwath²⁾ Gaehtgens'a³⁾ и Miessner'a⁴⁾. Хотя затѣмъ и появились указанія (Fuhukara⁵⁾ и др.), что при примѣненіи переслаиванія страдаетъ специфичность реакціи, но Fernet und Müller⁶⁾ цѣлымъ рядомъ работъ доказали какъ специфичность этой пробы, такъ и чувствительность ея.

Такимъ образомъ въ замѣнъ прежней „Mischprobe“ появилась „Schicht oder Ringprobe“, которая теперь вошла вообще въ технику реакціи преципитации и въ особенности рекомендуется при изслѣдованіи вареныхъ и копченыхъ продуктовъ, чтобы сдѣлать реакцію болѣе чувствительной.

При сужденіи о результатахъ изслѣдованія нагрѣтыхъ продуктовъ надо имѣть въ виду еще то обстоятельство, что образованіе преципитата въ этихъ случаяхъ наступаетъ значительно позже, чѣмъ это бываетъ при преципитации нативныхъ бѣлковъ: въ то время какъ съ нативными бѣлками

1) Fiehe см. выше.

2) Carnwath „Zur Technik der Untersuchung kleinster Blutspuren“. — Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheits. 1908, Bd. 27.

3) Gaehtgens „Ueber die Typhusantigene u. ihre Antikörper“. — Zentralbl. für Bakter. 1909, Abt. I, Bd. XLVIII.

4) Miessner „Die Verwendung der Präzipitation in Form der Schichtungsmethode zur Diagnose der Rotzkrankheit“. — Zentralbl. für Bakter. Or. Abt. I, Bd. LI.

5) Fuhukara „Ueber Beziehungen der Bakterienpräzipitine zu den Agglutininen“, — Zeitschr. für Immunitätsforsch. und experim. Ther. 1909, Bd. II, H. 3.

6) Fernet „Ueber moderne Serodiagnostik mit besonderer Berücksichtigung der Präzipitine und Opsonine“. — Münch. med. Wochenschr. 1908, № 4.

Опъ-же „Le serodiagnostic de la syphilis“. — Semaine medicale 6. Mai 1908.

преципитатъ появляется сразу или черезъ весьма непродолжительное время, смотря по концентраціи бѣлковаго раствора, а черезъ 5—10 минутъ образуются хлопья преципитата, — при нагрѣтыхъ бѣлкахъ помутнѣніе наступаетъ значительно позднѣе (большинство авторовъ считаетъ, что черезъ 10—20 минутъ), а также происходитъ задержка въ образованіи хлопьевъ и въ просвѣтленіи вышестоящей жидкости. Этотъ фактъ подтверждаютъ какъ работавшіе практически съ вареными колбасами, такъ и теоретически изслѣдовавшіе отношеніе нагрѣтыхъ бѣлковъ къ нативнымъ антисывороткамъ (Weidanz, Borchmann, Uhlenhuth, Schmidt и др.). Пользуясь всѣми этими измѣненіями и дополненіями въ методикѣ изслѣдованія мясныхъ продуктовъ, авторамъ и удавалось, какъ мы видѣли изъ обзора литературы о примѣнмости преципитинной реакціи при изслѣдованіи нагрѣтыхъ бѣлковъ, открывать лошадиное мясо въ копченыхъ и вареныхъ колбасахъ при помощи нативныхъ антисыворотокъ, при чемъ нагрѣваніе иногда бывало довольно значительное.

Глава 3.

Изслѣдованіе при помощи преципитиновъ, полученныхъ отъ нагрѣтыхъ бѣлковъ (Hitze-преципитины¹⁾).

Но все же остается еще цѣлый рядъ мясныхъ продуктовъ, открытіе въ которыхъ присутствія бѣлка того или иного вида животного съ помощью нативной антисыворотки не удастся вслѣдствіе слишкомъ сильнаго денатурированія этихъ бѣлковъ. Для разрѣшенія этого вопроса и велись

1) Въ дальнѣйшемъ изложеніи для краткости я буду называть эти преципитины Hitze-преципитинами.

изслѣдованія въ другомъ направленіи, а именно: стремились получить преципитины къ нагрѣтымъ бѣлкамъ, такъ называемые Hitze-преципитины.

Hitze-преципитинами называются тѣ иммунныя тѣла, которыя вырабатываются въ организмѣ животного при впрыскиваніи имъ тѣхъ или иныхъ бѣлковъ, подвергнутыхъ денатурированію нагрѣваніемъ. Впрыскивая такимъ образомъ уже нагрѣтый до опредѣленной температуры преципитиногенъ, можно думать, что въ организмѣ животного образуются иммунныя тѣла — преципитины, которые преимущественно будутъ дѣйствовать на бѣлковые растворы, нагрѣтые до такой же температуры. Такимъ образомъ для практики явилась бы возможность при помощи этихъ Hitze-преципитиновъ изслѣдовать настолько измѣненные нагрѣваніемъ мясные продукты, опредѣлить которые съ помощью нативныхъ антисыворотокъ уже является невозможнымъ.

Къ сожалѣнію, опытовъ полученія Hitze-преципитиновъ было произведено очень немного и всѣ они не выходятъ пока изъ области теоретической разработки.

При полученіи Hitze-преципитиновъ обращалось вниманіе главнымъ образомъ на два вопроса: съ одной стороны, изслѣдовали, до какой температуры нагрѣванія бѣлковая тѣла не теряли еще своихъ преципитиногенныхъ свойствъ, т. е. не теряли способности вызывать въ организмѣ животныхъ образованіе иммунныхъ тѣлъ; съ другой стороны, стремились изучить свойства полученныхъ Hitze-преципитиновъ, ихъ отличіе отъ нативныхъ преципитиновъ, специфичность, способность ихъ реагировать съ бѣлками, нагрѣтыми до еще большей температуры, и характеръ преципитинной реакціи съ Hitze-преципитинами.

Сколько-нибудь систематическихъ опытовъ для выясненія вопроса о способности бѣлковъ, нагрѣтыхъ до той или иной температуры, быть преципитиногенами не имѣется.

Одни изъ первыхъ пробовали получить Hitze-пре-

ципитинъ Obermayer und Pick, сдѣлавшіе докладъ о своихъ опытахъ на засѣданіи врачей въ Вѣнѣ 22-го мая 1903 года. Они иммунизировали кроликовъ подкожно коровой сывороткой, которая въ теченіи нѣкотораго времени подвергалась варенію, но еще не свернулась („eines durch einige Zeit gekochten, nicht koagulierten Rinderserums“). Эта сыворотка не реагируетъ уже съ нативными антисыворотками, но вызываетъ въ организмѣ животного соответствующую, отличную отъ нативной, иммунную сыворотку. Эта антисыворотка, дѣйствительно, реагировала съ сывороткой, обработанной какъ инъекціонный матерьялъ, т. е. со-держала Hitze-преципитины.

Еще раньше Obermayer'a und Pick'a въ 1901 году вышла работа Schütze¹⁾ „Weitere Beiträge zum Nachweis verschiedener Eiweissarten auf biologischem Wege“, въ которой онъ сравнительно кратко и не точно говоритъ, что ему удавалось получать, впрыскивая животнымъ молоко кипятившееся въ теченіи $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{2}$, 1, 2, $2\frac{1}{2}$ и 3 часовъ, преципитирующую сыворотку, которая дѣйствовала какъ сыворотка отъ впрыскиванія сырого молока.

Гораздо подробнѣ имъ разработанъ вопросъ о полученіи мясной антисыворотки, при чемъ Schütze приготавлиалъ для иммунизированія мышечный препаратъ, бѣлки котораго подвергались не только нагрѣванію, но и химическому воздѣйствію. Авторъ бралъ 1 фунтъ человѣческихъ мышцъ, по возможности лишенныхъ жира, отъ трупа черезъ нѣсколько часовъ послѣ смерти; мясо рубилось и кипятилось въ теченіи $\frac{1}{2}$ часа въ одномъ литрѣ воды. Послѣ этого вода сливалась, а осадокъ выжимался для полного выдѣленія нуклеопротеидовъ. Остатокъ вносился въ 500 к. с. кипящей $\frac{1}{2}\%$ натронной щелочи, а черезъ 5 минутъ жидкость сливалась съ остатка и горячая смѣшивалась съ ук-

1) Schütze. Zeitschr. für Hygiene. Bd. 38.

сусной кислотой до тѣхъ поръ, пока выдѣляется еще осадокъ, который отфильтровывался, промывался еще влажный водой, затѣмъ алкоголемъ и эфиромъ; и высушенный растирался въ ступкѣ. Тогда онъ представляетъ тонкій, какъ песокъ, желтый или слегка буроватый порошокъ. Растворяя нѣсколько крупинокъ его при подогрѣваніи въ содовомъ растворѣ, можно опредѣлить химически большое содержаніе бѣлка. Такой препаратъ вводился чаще интравенозно кроликамъ и давалъ сыворотку, которая обладала преципитирующимъ свойствомъ по отношенію къ инъецируемому матерьялу.

Такимъ образомъ и здѣсь оказывается, что бѣлокъ, денатурированный не только нагрѣваніемъ, но и щелочью ($\frac{1}{2}\%$ растворъ NaOH), могъ еще вызывать въ животномъ организмѣ преципитины.

Въ 1904 году Loeffler¹⁾ также получалъ двоякимъ путемъ Hitze-преципитины, для этого онъ нагрѣвалъ бѣлокъ или въ сухомъ состояніи или же въ растворѣ. Въ первомъ случаѣ онъ высушивалъ въ эксикаторѣ при низкой температурѣ до постоянного вѣса или куриный бѣлокъ или кровь различныхъ животныхъ. Затѣмъ сухой бѣлокъ въ теченіи $\frac{1}{2}$ часа подвергался нагрѣванію въ сушильномъ шкафу при 150° C. Наконецъ, такой денатурированный бѣлокъ смѣшивался съ $0,9\%$ растворомъ поваренной соли и впрыскивался кроликамъ. Получалась сыворотка, которая преципитировала какъ растворъ нагрѣтаго, такъ и не-нагрѣтаго бѣлка. Параллельно Loeffler иммунизировалъ кроликовъ бѣлкомъ, который нагрѣвался нѣкоторое время въ автоклавѣ при 150° C., при чемъ онъ превращался въ густое, жидкое, въ водѣ растворимое вещество. Сыворотка, полученная отъ инъекцій такого бѣлка, преципитировала только растворы матерьяла, примѣнявшагося для инъекцій,

1) Loeffler. „Ueber ein neues Verfahren zur Gewinnung von Anti-Körpern“. — Deutsch. med. Wochenschr. 1904, № 52.

но не реагировала съ растворами бѣлка неагрѣтаго или агрѣтаго въ сухомъ состояніи до 150° C. Въ обоихъ случаяхъ получались преципитины къ агрѣтымъ бѣлкамъ, но различающіеся въ своихъ свойствахъ.

Въ 1908 году Schmidt въ работѣ „Studien über Präzipitinreaktion und erhitzte Eiweissstoffe“ описываетъ поставленные имъ опыты съ иммунизированіемъ кроликовъ, при чемъ одни кролики получали сыворотку, которая въ разведеніи 1:1 послѣ прибавленія 2°/оо кристаллической соды агрѣвалась въ теченіи 1/2 часа при 70° C, а другіе кролики получали также обработанную сыворотку, но безъ прибавленія соды. Обѣ серіи кроликовъ дали сыворотку съ Hitze-преципитинами, которые преимущественно реагировали съ агрѣтыми бѣлками, такъ что Schmidt такъ высказывается: „Es ist dies ein Beiweis dafür, dass das durch Hitze veränderte Eiweiss Antikörper erzeugt hat, welche diesem erhitzten Eiweiss in ähnlicher Weise entsprechen wie Nativ-Präzipitin dem nativen Eiweiss“ (стр. 323).

Изъ болѣе позднихъ изслѣдователей получали преципитины къ агрѣтымъ бѣлкамъ Fornet und Müller¹⁾, которые въ 1908—1909 г. только вскользь упоминаютъ въ своей работѣ, что имъ удавалось, впрыскивая агрѣтый до 75° мышечный сокъ кроликамъ, получать отъ нихъ сыворотку титра 1:80000, которая была въ состояніи преципитировать кипяченые растворы лошадиной сыворотки въ разведеніи 1:8000. Больше о полученіи преципитиновъ авторы въ этой работѣ не упоминаютъ.

Гораздо подробнѣе останавливаются они на этомъ вопросѣ въ другой своей работѣ²⁾, появившейся въ 1910 году.

1) Fornet und Müller. „Zur Herstellung und Verwendung präzipitierender Sera insbesondere für den Nachweis von Pferdefleisch“ — Zeitschr. für biologische Technik und Methodik Bd. I. 1908—1909.

2) Они же „Praktische und theoretische Präzipitinuntersuchungen“ (II. Mitteilung) — Zeitschr. für Hygiene und Infektionskrankh. 1910. Bd. 66.

Здѣсь они посвящаютъ цѣлую главу выясненію вопроса, при какой температурѣ бѣлки теряютъ способность вызывать въ организмѣ животного специфическіе преципитины и въ какомъ отношеніи полученная отъ впрыскиванія агрѣтыхъ бѣлковъ сыворотка отличается отъ сыворотокъ, полученныхъ отъ нативныхъ бѣлковъ. Для рѣшенія перваго вопроса Fornet und Müller брали эмульсии изъ лошадиного, коровьяго и свиного мяса и подвергали агрѣванію въ теченіи 5 минутъ при различныхъ температурахъ, а затѣмъ эти эмульсии впрыскивали кроликамъ интраперитонеально. Надо еще прибавить, что температура агрѣванія измѣрялась внутри самаго матерьяла.

Результаты представлены въ видѣ таблицы (№ 8), изъ которой видно, что при 5 минутномъ агрѣваніи до 86° эмульсія теряетъ способность вызывать преципитины; при 84° получалась очень слабодѣйствующая сыворотка, и только при впрыскиваніи матерьяла, агрѣтаго при 80° и ниже, сыворотка получается съ высокимъ титромъ.

При этомъ авторы указываютъ, что мышечной бѣлокъ, агрѣтый до 86°, теряетъ способность вызывать специфическія тѣла въ организмѣ, тогда какъ агрѣтый до 100° въ

Таблица № 8.

	Полученіе лошадиной антисыворотки отъ инъекцій агрѣтаго лошадиного бѣлка при слѣд. t°					
	72°	80°	84°	86°	90°	100°
Результатъ преципитации	+	+	+	0	0	0
Титры сыворотокъ . . .	1:12.000	1:10.000	1:100	—	—	—

теченіи 10 минутъ бѣлокъ можетъ еще in vitro реагировать со специфической сывороткой.

Если сопоставить всѣ эти главнѣйшія работы по полученію преципитиновъ къ агрѣтымъ бѣлкамъ, то надо придти къ неутѣшительному выводу, что вопросъ о стойко-

сти къ нагрѣванію преципитиногенныхъ веществъ бѣлка остается совершенно невыясненнымъ; а тѣмъ болѣе нельзя болѣе или менѣе точно говорить о температурѣ нагрѣванія, зная которую, можно было бы заранѣе предполагать, будутъ-ли обладать бѣлокъ, нагрѣтый до той или иной температуры, способностью вызывать преципитины или нѣтъ. Всѣ опыты въ этой области поставлены очень несистематично, при совершенно различныхъ условіяхъ, при чемъ о нѣкоторыхъ авторы упоминаютъ совсѣмъ вскользь, не указывая даже, какъ они ставили опыты и совершенно неясно высказываются о достигнутыхъ ими результатахъ.

Такъ Obermayer und Pick впрыскивали матерьялъ обработанный при весьма неопредѣленныхъ условіяхъ: „eines durch einige Zeit gekochten, nicht koagulierten Rinderserums“, а Fernet und Müller не упоминаютъ совсѣмъ въ теченіи какого времени они нагрѣвали мышечный сокъ, когда получали 75°-сыворотку. Только въ другой работѣ авторы производили систематическіе опыты и пришли къ выводу, что бѣлокъ, нагрѣтый при 86° въ теченіи 5 минутъ, уже теряетъ способность быть преципитиногеномъ, а нагрѣтый такое же время при 84° еще сохраняетъ эту способность.

Однако эти результаты стоятъ въ противорѣчій съ результатами другихъ изслѣдователей: такъ Obermayer und Pick, Loeffler и Schütze получали преципитины къ нагрѣтымъ до 100° бѣлкамъ и даже къ 150° и только Schmidt получалъ 70° антисыворотку, но онъ и не дѣлалъ опытовъ для полученія антисыворотокъ отъ впрыскиванія болѣе нагрѣтыхъ бѣлковъ.

Затѣмъ результаты Fernet'a und Müller'a противорѣчатъ результатамъ Obermayer'a und Pick'a и въ другомъ отношеніи, а именно: сыворотка послѣ 5 минутнаго нагрѣванія при 86° оказывалась неprecipitinoгенной, но въ то же время была еще способна precipitироваться специфической сывороткой. Какъ разъ противоположное

явленіе отмѣчаютъ Obermayer und Pick; у нихъ инъекціонный матерьялъ не способенъ precipitироваться сывороткой, но можетъ еще вызывать реакцію образованія иммунныхъ тѣлъ in vivo.

Изъ этихъ краткихъ указаній видно, насколько расходятся однѣ данныя съ другими въ вопросѣ о стойкости преципитиногенныхъ веществъ бѣлковъ, такъ что надо считать этотъ вопросъ по прежнему нерѣшеннымъ и можно только думать, что бѣлокъ, довольно сильно нагрѣтый, способенъ еще вызывать преципитины въ животномъ организмѣ.

Что же касается второго вопроса, возникающаго при изученіи преципитиновъ къ нагрѣтымъ бѣлкамъ, а именно: вопроса о свойствахъ получаемыхъ отъ впрыскиванія такихъ бѣлковъ сыворотокъ, то здѣсь обращалось вниманіе главнымъ образомъ на слѣдующія три стороны его: во-первыхъ, реагируютъ-ли получаемые Hitze-преципитины только съ инъекціоннымъ матерьяломъ или же и съ нативными и болѣе нагрѣтыми бѣлками; во-вторыхъ, не теряется-ли специфичность такихъ иммунныхъ сыворотокъ, и, въ третьихъ, какъ протекаетъ реакція precipitации съ этими сыворотками. Всѣ авторы, получавшіе Hitze-преципитины, касались той или другой стороны этого вопроса, но все же и здѣсь единства во мнѣніяхъ не получено.

Антисыворотка Schütze, полученная впрыскиваніемъ мышечнаго бѣлка, денатурированнаго нагрѣваніемъ и щелочью, была испытана самимъ изслѣдователемъ только по отношенію къ растворамъ этого же мышечнаго препарата; Piorkowski¹⁾ также работалъ съ препаратомъ Schütze, при чемъ не только подтвердилъ результаты его, но и нашелъ, что при помощи сыворотки, полученной по Schütze, можно дифференцировать и свѣжіе бѣлки.

1) Piorkowski. „Die spezifischen Sera“. Eine zusammenfassende Uebersicht der bis Anfang 1902 erschienenen diesbezüglichen Arbeiten. — Zentralbl. für Bakteriologie. 1902, Bd. 31. № 18 Ref.

Съ этимъ не соглашается Schmidt²⁾, который получалъ очень слабую сыворотку, впрыскивая мышечный препарат Schütze, но реакціи преципитации съ нативными бѣлками получить не могъ.

Изъ наиболѣе позднихъ авторовъ, работавшихъ съ препаратомъ по Schütze, Курротъ опять даетъ результаты, сходные съ результатами Schütze и Piorkowski. На стр. 68 и 69 своей диссертации онъ даетъ таблицы иммунизации 2-хъ кроликовъ мышечнымъ препаратомъ по Schütze. Сыворотки ему удается получить довольно высокаго титра: 1:10000 и 1:15000 по отношенію къ раствору препарата Schütze. Къ сожалѣнію, онъ только одну антисыворотку изслѣдуетъ параллельно и на растворъ лошадиной сыворотки и получаетъ титръ 1:20000 (а она же относительно раствора препарата 1:10000); но уже одно то, что онъ обѣими антисыворотками пользуется для изслѣдованія колбасъ, показываетъ, что онѣ дѣйствуютъ и на нативные бѣлки. Другими словами, Курротъ получалъ отъ впрыскиванія мышечнаго препарата Schütze, въ противоположность Schmidt'у, сыворотки и достаточно высокаго титра и дѣйствующія на нативные бѣлки.

Относительно полученныхъ Schütze антисыворотокъ къ кипяченому въ теченіи $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{2}$, 1, 2, $2\frac{1}{2}$ и 3 часовъ молоку сказать что-либо трудно, такъ какъ авторъ кратко говорить, что обѣ дѣйствовали, какъ сыворотки отъ впрыскиванія сырого молока.

Obermayer und Pick получали антисыворотку, впрыскивая вареную, но не свернувшуюся сыворотку, реакціонная способность которой по мѣрѣ удлиненія срока иммунизации животнаго увеличивалась, при чемъ сначала она реагировала только съ вареной сывороткой, затѣмъ по-

2) Schmidt. „Untersuchungen über die Erzeugung hochwertiger Muskeleiweiss-Antisera für die Fleischdifferenzierung“. — Biochem. Zeitschr. 1907. Bd. 5.

являлась способность реагировать съ коровьей сывороткой, которая нагревалась при 60°—80°, но не реагировала еще съ ненагрѣтой неизмѣненной сывороткой; и, наконецъ, послѣ еще болѣе долгаго иммунизированія появлялась и эта способность. Авторы такъ высказываются: „Wird zur Herstellung des Immunserums ein Rinderserum gewählt, das durch $\frac{1}{2}$ Stunde auf 70° bei leicht alkalischer Reaktion erhitzt worden war, so dass die Immunreaktion mit dem Normalimmunserum bereits stark abgeschwächt, so erhält man eine dritte Art Immunserums, das sowohl auf das bei 70° veränderte, als auch auf das gekochte und nicht minder auf das normale, genuine Rinderserum reagiert. Man erzeugt auf diese Weise ein Immunserum, das für die ganze Breite der Zustandsänderungen, welche das Rinderserum unter dem Einflusse der Erhitzung durchmacht, reaktionsfähig bleibt, also eine Art polyvalenten Serums“.

Въ слѣдующемъ году въ другой своей работѣ „Beiträge zur Kenntnis der Präzipitinbildung“ Obermayer und Pick¹⁾ иммунизировали кроликовъ варенымъ кристаллическимъ эдестиномъ и варенымъ яичнымъ бѣлкомъ и получали сыворотку, которая преципитировала какъ нативные, такъ и измѣненные нагреваніемъ бѣлки. Авторы считаютъ, что такая широкая преципитирующая способность этихъ сыворотокъ подобна какъ-бы преципитирующей способности сыворотки, полученной введеніемъ смѣси нормальной и вареной сыворотокъ: „Etwas Ähnliches lässt sich auch in der Weise erzielen, dass man ein Kaninchen mit einem Gemisch eines Normalserums und eines gekochten Serums vorbehandelt“.

Но съ этимъ мнѣніемъ совершенно не соглашается

1) Obermayer und Pick. „Beiträge zur Kenntnis der Präzipitinbildung“. — Über den Begriff der Art- und Zustandsspezifität (originäre und konstitutive Gruppierung) und die Beeinflussung der chemischen Eigenart des Tierkörpers“ — Wiener klin. Wochenschr. 1904. № 10.

Schmidt, который доказалъ это экспериментально, иммунизируя кроликовъ смѣсью изъ нативной и нагрѣтой отъ 85° до 90° сыворотками и опредѣляя затѣмъ преципитирующую ширину сыворотки — „Reaktionsbreite“, думая, что она будетъ аналогична ширинѣ сыворотки, полученной отъ впрыскиванія 70° бѣлка.

„Шириной реакціи“ (Reaktionsbreite) обозначается большая или меньшая способность иммунныхъ сыворотокъ реагировать съ бѣлками, денатурированными нагрѣваніемъ при различной температурѣ. Поэтому антисыворотка, имѣющая границами своей реакціонной способности съ одной стороны ненагрѣтый бѣлокъ, а съ другой — 70–75° бѣлокъ, обладаетъ меньшей „шириной реакціи“, чѣмъ сыворотка реагирующая и съ неизмѣненнымъ и съ 100° бѣлкомъ.

Чтобы избѣжать свертыванія сыворотки при нагрѣваніи до 85–90°, такъ какъ свернувшаяся сыворотка значительно медленнѣ всасывается въ организмъ, чѣмъ также нагрѣтая, но несвернувшаяся, Schmidt разбавлялъ сыворотку шестью объемами физиологическаго раствора; тогда послѣ нагрѣванія гомогенная, слегка густая, сѣрая масса, уже охлажденная, смѣшивается съ равнымъ объемомъ нативной сыворотки и впрыскивается по 40 к. с. (20 к. с. внутрибрюшинно и 20 к. с. подкожно). Иммунная сыворотка бралась послѣ 4–5 недѣльнаго иммунизирования. Но между „Gemisch“-преципитиномъ и 70°-преципитиномъ оказалась существенная разница, которая заключается въ томъ, что въ то время какъ 70°-преципитинъ реагируетъ и съ нагрѣтой до 100° сывороткой, преципитинъ, полученный отъ впрыскиванія смѣси сыворотокъ, не даетъ съ 100°-сывороткой реакціи. Значитъ, „ширина реакціи“ „Gemisch“-антисыворотки гораздо меньше ширины 70°-антисыворотки.

Что же касается самой реакціи преципитации, то она, по наблюденіямъ авторовъ, течетъ медленнѣ, осадки получаютъ скуднѣе, подобные преципитатамъ въ фильтрахъ бактерій.

У Löffler'a два рода сыворотокъ отличаются другъ отъ друга по ширинѣ своей реакціонной способности, такъ какъ 150°-преципитинъ сухого бѣлка обладалъ большой шириной, преципитируя и нативные бѣлки, а 150°-преципитинъ бѣлка въ растворѣ реагировалъ только съ бѣлкомъ обработаннымъ какъ впрыскиваемая жидкость. Объясненія этому явленію авторъ не даетъ.

Проф. Schmidt, работая надъ полученіемъ Hitze-преципитиновъ, подвергъ наиболѣе обстоятельному анализу получаемыя антисыворотки, стараясь не только констатировать существующія отклоненія Hitze-преципитиновъ отъ нативныхъ преципитиновъ (преципитиновъ полученныхъ введеніемъ неизмѣненныхъ бѣлковъ), но и объяснить причину этихъ отклоненій. Въ настоящее время надо считать, что работы проф. Schmidt'a есть единственныя обстоятельныя работы по вопросу о нагрѣтыхъ бѣлкахъ и преципитинной реакціи; поэтому на нихъ приходится остановиться подробнѣе.

Какъ было уже упомянуто, Schmidt нагрѣвалъ сыворотку въ разведеніи 1:1 въ теченіи $\frac{1}{2}$ часа на водяной банѣ при 70° С и затѣмъ впрыскивалъ эту жидкость 2 раза въ недѣлю по 10 к. с. подкожно и внутрибрюшинно; при чемъ половина кроликовъ (4 штуки) иммунизировалась такимъ образомъ обработанной сывороткой, а другіе 4 такой же сывороткой, къ которой передъ нагрѣваніемъ прибавлялось 2% кристаллической соды (растворъ получался $\frac{1}{71}$ норм. по отношенію къ содѣ). Проба крови бралась уже послѣ 4-го впрыскиванія. Полученныя антисыворотки параллельно съ нативными антисыворотками испытывались на ихъ дѣйствіе на нативную и нагрѣтую сыворотки. Опытъ ставился такъ, что сыворотка въ разведеніи 1:10 нагрѣвалась до опредѣленной температуры, при этихъ условіяхъ не происходитъ свертыванія сыворотки; затѣмъ эта нагрѣтая сыворотка разводилась 1:100, бралось ея 2 к. с. прибавлялось 10

капель преципитирующей сыворотки. Черезъ 24 часа замѣчалась высота осадка въ миллиметрахъ. Эти опыты собраны въ табл. № 9.

Изъ этой таблицы видно, что главное различіе между нативнымъ преципитиномъ и 70° преципитиномъ заключается въ томъ, что въ то время какъ при дѣйствіи на 70—75° сыворотку нативный преципитинъ даетъ уже болѣе слабую реакцію, 70° преципитинъ даетъ самую сильную реакцію.

Таблица № 9.

Растворъ 1:100	Нативный преципитинъ	70° преципитинъ (съ содой)		70° преципитинъ (безъ соды)	
		4 впрыск.	8 впрыск.	4 впрыск.	6 впрыск.
Неагр. сыв.	окол. 9 mm.	1—2 mm.	5 mm.	4 mm.	8 mm.
30 мин. 70° сыв.	" 7 "	4 "	6 "	6 "	10 "
60 " 70° "	" 7 "	5 "	6 "	6 "	10 "
30 " 75° "	" 6 "	6 "	6 "	8 "	12 "
60 " 75° "	" 5—6 "	6 "	5 "	8 "	11 "
30 " 80° "	" 2—3 "	5 "	4 "	7 "	10 "
60 " 80° "	" 2 "	5 "	4 "	6 "	8 "
30 " 100° "	0	3—4 "	3 "	1 "	6 "
60 " 100° "	0	3—4 "	3 "	1 "	5 "

Второе огромное различіе между этими антисыворотками заключается въ томъ, что 70° преципитинъ обладаетъ болѣе широкой реакціей по сравненію съ нативнымъ преципитиномъ. Дѣйствительно, изъ этой таблицы видно, что нативный преципитинъ не даетъ реакціи съ сывороткой нагрѣтой до 100° въ теченіи 30 минутъ, тогда какъ 70° — преципитинъ (какъ съ содой, такъ и безъ соды) реагируетъ и еще

довольно сильно, съ сывороткой, которая нагрѣвалась при 100° въ теченіи 1 часа. Ослабленіе преципитирующей силы нативной антисыворотки сравнительно съ силой 70° — антисыворотки замѣчается уже, какъ было упомянуто, при дѣйствіи на сыворотку, нагрѣтую до 70—75°, но особенно рѣзко это ослабленіе выступаетъ при реакціи съ 80°-ной сывороткой: нативный преципитинъ даетъ осадокъ черезъ 24 часа вышиной въ 2 mm, а 70° — преципитинъ черезъ то же время вышиной отъ 4 до 10 mm, т. е. вполне ясную и сильную реакцію.

Затѣмъ одной изъ характерныхъ чертъ Nitze-преципитиновъ является постепенное увеличеніе ширины реакціонной способности этихъ преципитиновъ при удлинении срока иммунизирования животного; это видно изъ сравненія величинъ осадковъ какъ при реакціи съ ненагрѣтой сывороткой, такъ и съ 100° — сывороткой послѣ 4-хъ впрыскиваний и послѣ 6-го и 8-го вспрскивания. Были поставлены опыты съ періодическимъ взятіемъ пробъ крови во время иммунизирования и при этомъ было замѣчено, что въ началѣ иммунизации антисыворотка проявляла преципитирующее дѣйствіе почти исключительно на сыворотку нагрѣтую до 70°—80°, а при дальнѣйшемъ иммунизированіи появлялась способность преципитировать какъ 100° сыворотку, такъ и нативную сыворотку, при чемъ эта способность въ дальнѣйшемъ усиливалась, что сказывалось въ увеличеніи величинъ преципитатовъ. Это вполне сходится съ наблюденіями Obermayer'a und Pick'a, которые тоже отмѣтили постепенное нарастаніе реакціонной способности по мѣрѣ удлинении срока иммунизирования.

Obermayer und Pick объясняютъ это явленіе тѣмъ, что впрыскиваемый ими матеріалъ, т. е. сыворотка вареная, но не свернувшаяся, содержитъ еще слѣды нативной сыворотки, которые только послѣ болѣе длительнаго иммунизирования могутъ вызвать появленіе и накопленіе въ сыво-

роткѣ животного достаточнаго для реакціи количества нативнаго преципитина.

Что же касается Schmidt'a, то онъ даетъ другое объясненіе этому явленію. Возможно, что вареный бѣлокъ содержитъ небольшое количество такихъ промежуточныхъ продуктовъ, которые хотя близко стоятъ къ инактивированному бѣлку, но все же еще слабо преципитируются нативнымъ преципитиномъ и при долгой иммунизации вызываютъ образованіе въ сывороткѣ нативныхъ преципитиновъ. Какъ то, такъ и другое объясненіе не основано ни на какихъ фактическихъ данныхъ и является вполнѣ гипотетичнымъ.

Относительно теченія самой реакціи преципитации при дѣйствіи Hitze-преципитиновъ Schmidt отмѣчаетъ слѣдующую разницу между Nativ- и Hitze-преципитинами: нативная сыворотка, реагируя съ нагрѣтыми бѣлками, даетъ почти такое же быстрое помутнѣніе, какъ и съ нативными бѣлками, но зато образованіе хлопьевъ замедляется и вся вышестоящая жидкость еще черезъ 24 часа остается мутной. Hitze-преципитины же, вступая въ реакцію съ нагрѣтыми бѣлками, даютъ совершенно нормальную картину преципитации: помутнѣніе образуется быстро, хлопья преципитата появляются скоро и вышестоящая жидкость просвѣтляется. Такимъ образомъ, если признать нормальнымъ теченіе реакціи при дѣйствіи нативныхъ антисыворотокъ на нативный бѣлокъ, то такое же нормальное теченіе получается и при дѣйствіи 70° — антисыворотки на 70°—75° бѣлокъ.

Наконецъ въ своей работѣ Schmidt касается и вопроса о специфичности этихъ реакцій. Хотя авторъ работалъ съ довольно сильно концентрированными растворами (1 : 100), однако гетерологическихъ помутнѣній у него никогда не наблюдалось при дѣйствіи 70° — преципитина ни съ нативнымъ, ни съ нагрѣтымъ бѣлкомъ. Для контроля

Schmidt ставилъ рядъ такихъ же разведеній съ бѣлками другихъ видовъ животныхъ. Относительно родственныхъ реакцій авторъ нашелъ, что 70° — лошадиная преципитирующая сыворотка реагируетъ съ нагрѣтой сывороткой осла въ такихъ же отношеніяхъ, какъ нативная лошадиная антисыворотка съ нативной кровяной сывороткой осла. Другими словами, Schmidt признаетъ, что преципитирующая сыворотка, полученная впрыскиваніемъ нагрѣтыхъ до 70° бѣлковъ, также специфична, какъ и антисыворотка отъ впрыскиванія неизмѣненныхъ бѣлковъ.

Болѣе подробно останавливаются на вопросѣ о специфичности Hitze-преципитиновъ Fornet und Müller, которые въ своей болѣе поздней работѣ ставятъ рядъ опытовъ для выясненія специфичности и на основаніи этихъ изслѣдованій даютъ таблицу, изъ которой видно, что преципитинъ съ гетерологическими бѣлковыми растворами реагируетъ только въ крѣпкихъ растворахъ этихъ бѣлковъ (1 : 10 и 1 : 100), которые далеко отстоятъ отъ титра этихъ антисыворотокъ; второе же отличіе заключается въ томъ, что реакція съ гетерологическими растворами получается не сразу, какъ съ гомологическими, а черезъ 10—15 минутъ и получается въ общемъ значительно слабѣе (табл. № 10).

Таблица № 10.

Родъ бѣлков. растворовъ	65° лошадиная антисыворотка реагируетъ съ:											
	Лошадин. сыворотка			Свиная сыворотка			Сывор. рога-таго скота			Сывор ро. скота + свиная аа		
Разведенія .	100	1000	10000	10	100	1000	10	100	1000	10	100	1000
Результатъ реакціи . . .	+	+	+	+	+	0	0	0	0	+	+	0
Наступленіе реакціи . . .	тот-часъ	тот-часъ	тот-часъ	черезъ 10 мин.	черезъ 15 мин.	—	—	—	—	черезъ 30 мин.	черезъ 60 мин.	—

Самую же реакцію Hitze-преципитиновъ съ гомологическими бѣлками они характеризуютъ только какъ реакцію наступающую медленнѣе и болѣе слабую по сравненію съ реакціей нативныхъ преципитиновъ. Хотя если сравнить дѣйствіе Hitze и — Nativ-преципитиновъ на растворъ нагрѣтыхъ бѣлковъ, то реакція первыхъ, т. е. Hitze-преципитиновъ, течетъ лучше, чѣмъ реакція съ нативной преципитирующей сывороткой.

Подводя итогъ всей литературѣ по полученію преципитиновъ къ нагрѣтымъ бѣлкамъ и изученію свойствъ этихъ преципитиновъ, можно сказать, что въ вопросѣ объ отношеніи преципитинной реакціи къ нагрѣтымъ бѣлковымъ веществамъ, какъ въ вопросѣ безусловно трудномъ, требующемъ для разрѣшенія сложной методики, и имѣющемъ сравнительно мало изслѣдователей, нѣтъ полной согласованности въ результатахъ отдѣльныхъ авторовъ, но все же надо признать, что большинствомъ авторовъ установлены болѣе или менѣе опредѣленно слѣдующіе факты:

1) Не только нативный бѣлокъ, вводимый тѣмъ или инымъ путемъ въ организмъ животнаго, можетъ вызывать образованіе преципитирующихъ веществъ въ сывороткѣ этого животнаго, но и бѣлки, денатурированные нагрѣваніемъ, вызываютъ такое же явленіе, при этомъ получаемыя иммунныя сыворотки обладаютъ уже нѣсколько другими свойствами. 2) Специфичность этихъ антисыворотокъ приблизительно такая же, какъ и специфичность нативныхъ антисыворотокъ. 3) Способность этихъ антисыворотокъ реагировать съ бѣлками, находящимися въ различныхъ степеняхъ денатурированія нагрѣваніемъ, значительно болѣе, чѣмъ, у нативныхъ антисыворотокъ, т. е. онѣ обладаютъ болѣе „Reaktionsbreite“, при чемъ

эта ширина реакціонной способности и сила самой реакціи увеличивается сообразно удлинению срока иммунизации животнаго. 4) Сама же реакція съ Hitze-преципитинами течетъ медленнѣе и слабѣе, чѣмъ съ нативными преципитинами, по зато, повидному, имѣетъ нормальное теченіе, т. е. вслѣдъ за помутнѣніемъ идетъ образованіе хлопьевъ, осѣданіе ихъ на дно и просвѣтленіе вышестоящей жидкости, чѣмъ эта реакція рѣзко отличается отъ реакціи нативныхъ преципитиновъ съ растворами нагрѣтыхъ бѣлковъ, гдѣ образованіе хлопьевъ и просвѣтленіе жидкости задерживается или совсѣмъ не происходитъ.

Совершенно особнякомъ стоятъ въ вопросѣ о специфичности антисыворотокъ, полученныхъ отъ денатурированныхъ бѣлковъ, работы Obermayer'a und Pick'a. Эти авторы, изслѣдуя Hitze-преципитины, подтверждаютъ способность ихъ реагировать какъ съ нативными, такъ и съ нагрѣтыми бѣлками, находя все же, что съ измѣненными нагрѣваніемъ бѣлками Hitze-преципитины реагируютъ сильнѣе. Что же касается специфичности Hitze-преципитиновъ, то Obermayer und Pick находятъ уменьшеніе ея по сравненію со специфичностью нативныхъ преципитиновъ и для объясненія этого факта предлагаютъ свою теорію.

На основаніи своихъ опытовъ они предлагаютъ различать двѣ специфичности: одна зависитъ отъ происхожденія бѣлка отъ того или иного вида животнаго, это такъ называемая „видовая специфичность“ или „специфичность происхожденія“ („originäre oder Art-Spezifität“), а другая зависитъ отъ фазы состоянія бѣлка, получившейся подъ влияніемъ физико-химическихъ воздѣйствій, — это „специфич-

ность конституции" или „специфичность состоянія“. („Konstitutions- oder Zustandsspezifizität“).

Эти специфичности сильно отличаются другъ отъ друга. Относительно „видовой специфичности“ надо сказать, что она не измѣняется ни отъ какихъ физико-химическихъ воздѣйствій, пока разрушеніе бѣлка не заходитъ далеко. Наоборотъ, „специфичность конституции“ легко измѣнить.

И такъ какъ подъ вліяніемъ физико-химическихъ воздѣйствій вызывается не одна фаза состоянія бѣлка, а нѣсколько вмѣстѣ находящихся фазъ, то въ результатѣ и получается при иммунизации животныхъ такими измѣненными бѣлками большая ширина реакціонной способности сыворотокъ. Въ теченіи иммунизации въ сывороткѣ животного сначала получаютъ преципитины къ тѣмъ веществамъ, которыхъ содержится много въ антигенѣ; а затѣмъ постепенно и преципитины къ веществамъ, которыхъ мало въ антигенѣ. Такимъ образомъ антисыворотки, полученныя отъ недолгаго иммунизирования и отъ болѣе продолжительнаго однимъ и тѣмъ же измѣненнымъ бѣлкомъ, отличаются другъ отъ друга. Этимъ нарастаніемъ реакціонной способности преципитирующихъ сыворотокъ Obermayer und Pick объясняютъ тотъ фактъ, что сыворотки, полученныя отъ иммунизации нагрѣтой до 70° коровьей сывороткой, дѣйствуютъ не только на многочисленные продукты распада отъ дѣйствія пепсина и трипсина коровьей сыворотки, фибрина, мышцъ и другихъ бѣлковъ, но также на бѣлковые дериваты отъ дѣйствія перекиси марганца.

Затѣмъ Obermayer und Pick иммунизировали кроликовъ смѣсью коровьей нормальной сыворотки то съ Witte-пептономъ или съ пепсинными и трипсинными продуктами перевариванія свернутой коровьей сыворотки, то, наконецъ, съ вареной коровьей сывороткой и Witte-пептономъ вмѣстѣ. Всѣ эти вещества въ отдѣльности, т. е. Witte-пептонъ, пепсинные и трипсинные продукты, а

также вареная сыворотка, не могли вызвать реакціи въ организмъ животного, а въ соединеніи съ нормальной кровяной сывороткой давали антисыворотки, которыя были въ состояніи дѣйствовать не только на нативную коровью сыворотку, но при достаточно долгой обработкѣ кролика и на вареную коровью сыворотку и на продукты перевариванія пепсиномъ и трипсиномъ и отъ дѣйствія перекиси марганца.

Видя, что Witte-пептонъ вызываетъ образованіе соотвѣтствующаго преципитина, авторы рѣшили изслѣдовать, зависитъ-ли это отъ „оригинальной группы“ пептона. Для этой цѣли кромѣ Witte-пептона (или что тоже самое Rinderfibrinpepsinalbumosen) примѣнялась для иммунизации кроликовъ пепсинная альбумоза (Pepsinalbumosen) изъ свернутой лошадиной сыворотки. Опыты показали весьма интересное явленіе, что лошадиная альбумоза вызываетъ также образованіе преципитиновъ рогатаго скота, какъ и коровья альбумоза. Получающаяся въ результатѣ иммунная сыворотка реагируетъ не только съ натуральной лошадиной сывороткой, но съ вареной и съ продуктами перевариванія трипсиномъ коровьей сыворотки, и также реагируетъ на вареную лошадиную сыворотку и на ея продукты трипсиннаго переваренія. Отсюда выходитъ, что образованіе преципитиновъ можно вызвать и опредѣленнымъ неспецифическимъ раздраженіемъ.

Такимъ образомъ въ этихъ опытахъ сыворотка обладала такъ называемой „Zustandsspezifizität“, благодаря которой она могла реагировать съ денатурированными бѣлками коровьей сыворотки, хотя вводился денатурированный бѣлокъ лошадиной сыворотки.

Разрабатывая далѣе свое ученіе о существованіи кромѣ „видовой специфичности“ еще „специфичности состоянія“, Obermayer und Pick¹⁾ иммунизировали животныхъ іодо-

1) Obermayer und Pick. „Ueber die chemischen Grundlagen der Arteigenheit der Eiweisskörper“ — Wien. klin. Wochenschr. 1906.

нитро и діазо-соединеніями бѣлковъ. При этомъ они нашли, что, напримѣръ, соединеніе бѣлка коровьей сыворотки съ іодомъ вызываетъ въ организмѣ кролика образованіе преципитиновъ, которые обладаютъ свойствомъ реагировать не только съ однимъ соединеніемъ коровьяго бѣлка съ іодомъ, но съ такими же соединеніями (іодистыми) бѣлковъ всѣхъ млекопитающихъ, птицъ и даже растений; однако здѣсь реакція съ коровьимъ бѣлкомъ рѣзче выражена, чѣмъ съ другими, т. е. сохраняется еще и „видовая специфичность“. Соединеніе бѣлка куриного яйца съ іодомъ не даетъ уже совсѣмъ „видовой специфичности“; также и нитро-соединеніе коровьяго бѣлка теряетъ свою „видовую специфичность“ и даетъ преципитинъ, реагирующій съ нитро-соединеніями всѣхъ бѣлковъ.

Freund¹⁾, повторяя работы Obermayer'a und Pick'a, подтвердилъ въ общемъ ихъ результаты съ іодистыми соединеніями бѣлковъ.

Въ общемъ ученіе Obermayer'a und Pick'a сводится къ тому, что преципитиногенъ при денатурированіи его можетъ обладать наряду съ „видовой специфичностью“ и „специфичностью состоянія“; при болѣе же сильномъ денатурированіи преципитиногенъ можетъ полностью лишиться „видовой специфичности“ и останется только „специфичность состоянія“.

Я остановился подробнѣе на ученіи Obermayer'a und Pick'a, такъ какъ въ дальнѣйшемъ своемъ изложеніи мнѣ часто придется ссылаться на него.

1) Freund. „Das biologische Verhalten jodierter Eiweisskörper“ — Biochem. Zeitschr. 1909, Bd. 20.

Глава 4.

Изслѣдованіе при помощи преципитиновъ, полученныхъ отъ измѣненныхъ нагрѣваніемъ и щелочью бѣлковъ (Hitze-Alkali-преципитины¹⁾).

Казалось-бы, что разъ нативный преципитинъ можетъ еще реагировать съ сывороткой, которая нагрѣвалась при 90° въ теченіи 1 часа; а Hitze-преципитинъ реагируетъ также съ сывороткой, нагрѣваемой такое же время при 100°, то вмѣстѣ съ этими теоретически разрѣшенными вопросами о возможности дифференцировать нагрѣтую сыворотку различныхъ видовъ животныхъ представляется разрѣшеннымъ и для практики важный вопросъ о примѣнмости біологической реакціи преципитации при опредѣленіи фальсификацій варенныхъ и копченыхъ мясныхъ продуктовъ. Дѣйствительно, трудно предположить, чтобы при какой-либо примѣняемой въ технику обработкѣ нагрѣваніемъ температура внутри мясныхъ продуктовъ превосходила эти цифры, въ особенности принимая во вниманіе плохую теплопроводность мясныхъ продуктовъ.

Но не надо упускать изъ вида одно очень важное обстоятельство, а именно, то, что всѣми авторами опыты ставились при соблюденіи одного условія: растворы бѣлковъ брались всегда въ такихъ разведеніяхъ, чтобы даже при нагрѣваніи до 100° въ теченіи продолжительнаго времени не происходило свертыванія бѣлка, такимъ образомъ бѣлковыя вещества всегда оказывались растворенными, а вслѣдствіе этого отпадала необходимость перевода измѣненныхъ бѣлковыхъ веществъ въ растворъ.

Не такъ обстоитъ дѣло на практикѣ, гдѣ на ряду съ такими случаями, когда часть бѣлковъ въ мясныхъ продуктахъ послѣ нагрѣванія сохраняетъ еще способность раство-

1) Въ дальнѣйшемъ изложеніи для краткости такіе преципитины я буду называть Hitze-Alkali-преципитинами.

ряться въ фізіологическомъ растворѣ повареной соли, часто бывають другіе случаи, когда бѣлокъ послѣ нагрѣванія перевести въ растворъ не представляется уже возможнымъ, не прибѣгая къ какимъ-либо болѣе сильнымъ химическимъ растворителямъ. Случаи съ растворимыми еще послѣ нагрѣванія бѣлками представляются мнѣ на основаніи теоретически добытыхъ результатовъ, а также на основаніи имѣющейся литературы по изслѣдованію нагрѣтыхъ мясныхъ продуктовъ, еще годными для примѣненія біологическаго метода опредѣленія видовъ бѣлка, пользуясь вышеуказанными измѣненіями въ технику производства этой реакціи.

Наоборотъ, въ тѣхъ случаяхъ, когда бѣлки становятся совершенно нерастворимыми, примѣненіе преципитации дѣлается невозможнымъ, такъ какъ раствореніе свернувшихся бѣлковъ съ помощью химическихъ реактивовъ настолько денатурируетъ эти бѣлки, что преципитация ихъ, хотя бы и Nitze-преципитинами, не удастся.

Проф. Schmidt¹⁾ изслѣдовалъ, какъ быстро теряетъ бѣлокъ способность преципитироваться нативными преципитинами, если этотъ бѣлокъ подвергать дѣйствію различныхъ щелочей въ различныхъ концентраціяхъ. Опыты главнымъ образомъ ставились съ ѣдкой натронной щелочью и содой. Такъ какъ безусловно денатурированіе бѣлка зависитъ отъ дѣйствія OH-ионовъ, то можно предположить заранее, что гидраты щелочей значительно сильнѣе денатурируютъ, чѣмъ менѣе содержащіе OH-ионовъ растворы амміака, соды, буры, двуфосфорнонатріевой соли и т. д.

Опыты съ ѣдкой щелочью ставились такъ: сыворотка всегда имѣла разведеніе 1 : 10; концентрація ѣдкой щелочи, въ смѣси уже, варьировала отъ $\frac{1}{2}$ норм. до $\frac{1}{100}$ норм. Эти смѣси оставались при 25—30° температурѣ и черезъ

1) Prof. Schmidt. „Einige Versuche über die Geschwindigkeit der Inaktivierung (Denaturierung) der präcipitablen Substanz durch Alkalien“ — Biochem. Zeitschr. Bd. 24. 1910 г.

извѣстные промежутки времени 10 к. с. сыворотки брались, разбавлялись 9-кратнымъ количествомъ фізіологическаго раствора (получалось разведеніе 1 : 100) и этотъ растворъ послѣ нейтрализаціи разбавленной уксусной кислотой до слабо-щелочной реакціи испытывался преципитиномъ, причемъ къ 2 к. с. этого раствора прибавлялось 10 капель преципитирующей сыворотки. Результаты сравнивались на основаніи количества осадковъ, которые обозначались въ процентахъ къ таковому же осадку раствора сыворотки 1 : 100 безъ ѣдкой щелочи.

Изъ этихъ опытовъ выяснилось, что инъактивированіе сывороточныхъ бѣлковъ ѣдкой натронной щелочью идетъ очень быстро и при комнатной температурѣ; такъ $\frac{1}{2}$ норм. Na OH (= 2%) разрушаетъ способность сыворотки къ реакціи почти моментально: черезъ 15 минутъ дѣйствія щелочистѣды преципитата, черезъ 1 часъ реакціи уже не получается, и вся жидкость остается прозрачной; $\frac{1}{20}$ норм. Na OH (= 0,2%) черезъ одинъ часъ даетъ только 20% осадка, а черезъ 7 часовъ только 5%. $\frac{1}{40}$ норм. Na OH (= 0,1%) черезъ часъ сокращаетъ осадокъ на 50%, черезъ 16 часовъ даетъ 15% и черезъ 24 часа 5%. $\frac{1}{100}$ норм. Na OH (= 0,04%) при комнатной температурѣ дѣйствуетъ слабо, такъ что черезъ 24 часа получается еще осадокъ, который представляетъ 80% сравнимаго осадка. Однако при болѣе высокой температурѣ необходимы значительно меньшія концентраціи ѣдкаго натра, чтобы сыворотка полностью инъактивировалась въ короткое время: такъ та же $\frac{1}{100}$ норм. щелочь при нагрѣваніи до 70° въ теченіи 15 минутъ настолько сильно инъактивируетъ, что реакціонная способность падаетъ до 10%.

Параллельно ставились опыты съ инъактивированіемъ содой, при чемъ оказалось, что $\frac{1}{2}$ норм. растворъ соды при комнатной температурѣ дѣйствуетъ слабѣе, чѣмъ $\frac{1}{100}$ растворъ NaOH, и черезъ 24 часа количество преципитата = 90%.

Значительно сильнее инъактивируетъ сода при нагрѣваніи: такъ ставились опыты съ различными концентраціями соды, дѣйствующими на сыворотку при 70° въ теченіи 30 минутъ, при этомъ оказалось, что въ то время какъ $\frac{1}{2}$ норм. сода въ теченіи 24 часовъ едва денатурируетъ при температурѣ 20—30°, при 70° уже $\frac{1}{14}$ и $\frac{1}{28}$ норм. растворъ соды значительно денатурируетъ бѣлокъ въ теченіи этихъ 30 минутъ, такъ что при $\frac{1}{14}$ норм. раствора осадокъ равнялся нулю; а при $\frac{1}{28}$ — 10—20%

Такимъ образомъ видно, что достаточно самой незначительной концентраціи щелочи, чтобы бѣлокъ такъ денатурировался, что способность преципитироваться нативной сывороткой почти полностью исчезаетъ. Значить, на основаніи этихъ данныхъ можно сказать, что нечего и думать преципитировать нативной антисывороткой свернувшіеся отъ нагрѣванія бѣлки мясныхъ продуктовъ, воспользовавшись для растворенія ихъ хотя бы щелочными растворами.

Въ 1912 году проф. W. A. Schmidt¹⁾ опубликовалъ работу подъ заглавіемъ: „Ueber ein Präcipitin, welches es ermöglicht, auch gekochtes (unlösliches) Eiweiss zu differenzieren“, въ которой онъ, убѣдившись на основаніи литературы и, главнымъ образомъ, на основаніи своихъ работъ въ невозможности преципитировать нагрѣтые до нерастворимости бѣлки предложенными до сихъ поръ преципитинами, предлагаетъ полученный имъ самимъ преципитинъ, съ помощью котораго можно дифференцировать нерастворимые отъ нагрѣванія бѣлки.

4 года до этого въ другой своей работѣ Schmidt говоритъ, что практика выдвигаетъ необходимость имѣть преципитинъ, дѣйствующій на нерастворимые бѣлки.

Въ послѣдней своей работѣ Schmidt исходилъ изъ

1) Prof. W. A. Schmidt. „Ueber ein Präcipitin, welches es ermöglicht, auch gekochtes (unlösliches) Eiweiss zu differenzieren“. — Zeitschr. für Immunitätsforsch. und experim. Therapie. 1912. Bd. 13. H. 2.

тѣхъ соображеній, что наилучшимъ растворителемъ свернувшихся бѣлковъ является натронная щелочь, такъ какъ сода слишкомъ слабый растворитель, хотя натронная щелочь, какъ это видно изъ его работы, значительно сильнее денатурируетъ, чѣмъ сода. Но такъ какъ свернувшійся бѣлокъ, растворенный въ щелочномъ растворѣ, уже не въ состояніи преципитироваться обыкновенными преципитинами, то необходимо получить особый, годный для этой цѣли, преципитинъ.

Schmidt'y удалось это сдѣлать, вводя животному въ качествѣ преципитиногена сыворотку, которая сначала нагрѣвалась, а потомъ обрабатывалась ѣдкимъ натромъ до потери реакціонной способности.

Schmidt получилъ такой преципитинъ оцупью, при чемъ сначала онъ, вводя нагрѣваніемъ и щелочью денатурированную сыворотку, не могъ получить никакого преципитина; впоследствии онъ нашелъ объясненіе этому факту: оказалось, что сыворотка подвергалась слишкомъ сильной обработкѣ щелочью, отъ которой бѣлокъ терялъ свой антигенный характеръ. Измѣнивъ обработку щелочью, Schmidt впалъ въ другую крайность, а именно: онъ получилъ преципитинъ, реагирующий только съ бѣлкомъ нагрѣтымъ, но не реагирующий съ нагрѣтымъ и обработаннымъ щелочью; это объяснялось тѣмъ, что обработка преципитиногена щелочью была слишкомъ слабая, а потому такой преципитиногенъ далъ только Hitze-преципитинъ. И только послѣ цѣлаго ряда неудачныхъ опытовъ Schmidt'y удалось, наконецъ, получить преципитинъ, реагирующий съ бѣлкомъ, который нагрѣваніемъ сдѣлался нерастворимымъ и только при помощи щелочи переведенъ въ растворъ. Преципитинъ съ такими свойствами названъ имъ „Hitze-Alkali-Präcipitin“.

Методика, выработанная Schmidt'омъ для полученія его преципитина, слѣдующая: каждый разъ передъ впрыскиваніемъ приготавлился инъекціонный матеріалъ. Для этого бралось 60 к. с. лошадиной сыворотки и разбавлялось та-

кимъ же количествомъ физиологическаго раствора поваренной соли, затѣмъ эта смѣсь нагрѣвалась въ 70°-водяной банѣ въ теченіи 30 минутъ, при этомъ вслѣдствіе разведенія сыворотки 1:1 не наступало свертыванія ея, а только она превращалась въ болѣе густую, но жидкую, сѣрую массу. Затѣмъ въ смѣсь вливалось 10 к. с. нормальнаго раствора ѣдкой натронной щелочи и она опять подвергалась нагрѣванію въ водяной банѣ при той же температурѣ въ теченіи 15—20 минутъ. Во время этого нагрѣванія можно замѣтить отщепленіе амміака, что говоритъ за молекулярныя измѣненія бѣлковъ, и жидкость опять становится легко подвижной и прозрачной. Наконецъ къ жидкости прибавляется 7—8 к. с. нормальнаго раствора соляной кислоты для удаленія избытка щелочи, отчего выпадаетъ незначительный осадокъ свернувшегося бѣлка; послѣ охлажденія эта жидкость вмѣстѣ съ осадкомъ вводится кроликамъ по 20 к. с. внутривенно. Впослѣдствіи Schmidt пересталъ нейтрализовать избытокъ щелочи, такъ какъ убѣдился, что онъ не вреденъ для кроликовъ, и въ то же время жидкость безъ прибавленія кислоты можетъ вводиться въ вены, какъ неимѣющая осадка бѣлкомъ.

Послѣ 5—10 впрыскиваній получалась сыворотка, содержащая Hitze-Alkali-преципитинъ; при этомъ авторъ замѣтилъ, что послѣ первыхъ впрыскиваній получается сыворотка, дѣйствующая только на нагрѣтый бѣлокъ, а послѣ дальнѣйшей иммунизации появляется преципитинъ и къ денатурированнымъ щелочью бѣлкамъ.

Hitze-Alkali-преципитинъ, по наблюденію Schmidt'a, обладаетъ слѣдующими главными свойствами: 1) онъ не реагируетъ съ нативной сывороткой, чѣмъ отличается отъ преципитина, полученнаго введеніемъ только нагрѣтаго бѣлка; 2) реагируетъ съ нативной сывороткой, но обработанной на холоду ѣдкой натронной щелочью, чѣмъ также отличается отъ Hitze-преципитина, который, какъ и нативный преципитинъ, не реагируетъ съ такой сывороткой; 3)

вступаетъ въ реакцію, какъ и Hitze-преципитинъ, съ нагрѣтой сывороткой, какъ до 70° такъ и до 100°, безъ обработки этой сыворотки щелочью; 4) реакція Hitze-Alkali-преципитина съ 100°-сывороткой такая же сильная („Starke Reaktion“), какъ и съ 70°-сывороткой, въ чемъ отличается отъ Hitze-преципитина, который съ 100°-сывороткой даетъ болѣе слабую реакцію („gute Reaktion“) 5) реагируетъ съ сывороткой, которая послѣ нагрѣванія растворялась только въ щелочномъ растворѣ, чего не дѣлаетъ Hitze-преципитинъ.

Всѣ реакціи Hitze-Alkali-преципитина параллельно съ реакціями Nativ- и Hitze-преципитиновъ приведены въ таблицѣ № 11.

Для испытанія, насколько способенъ Hitze-Alkali-преципитинъ реагировать съ бѣлкомъ, который послѣ нагрѣванія совершенно не растворимъ въ обыкновенныхъ растворителяхъ, т. е. въ физиологическомъ растворѣ безъ прибавленія соды и съ прибавленіемъ ея, Schmidt ставилъ опыты преципитации полученной имъ преципитирующей сывороткой съ лошадиной сывороткой, которая три часа нагрѣвалась въ кипящей водяной банѣ до полнаго высушиванія, а затѣмъ растворялась въ натронной щелочи (подробнѣе методика будетъ описана ниже). Съ такой сывороткой Hitze-Alkali-преципитинъ давалъ быстро помутнѣніе, а черезъ нѣсколько часовъ и образованіе хлопьевъ. Специфичность такой антисыворотки, по словамъ Schmidt'a, была одинакова со специфичностью нативной антисыворотки: „Es scheint somit, dass, solange ein mit Chemikalien misshandeltes Eiweiss überhaupt noch antigenen Charakter besitzt, auch die Artspezifität erhalten bleibt“.

Изъ свойствъ Hitze-Alkali-преципитина Schmidt обратилъ особенное вниманіе на отсутствіе реакціи съ нативной сывороткой, такъ какъ это противорѣчило, какъ было сказано, результатамъ Schütze, Piorkowski и др., работавшихъ съ препаратомъ Schütze.

Таблица № 11.

Растворы	Nativ — + преципит.	Hitze — + преципит.	Hitze-Alkali- + преципит.
Нативная сыворотка . . .	Сильн. реакція	Хорош. реакція	0 (nur äusserst geringe Trübung)
70° сыворотка (30 минутное нагревание)	Хорош. реакція	Сильн. реакція	Сильн. реакція
100° сыворотка (30 минутное нагревание)	0	Хорош. реакція	Сильн. реакція
70° сыворотка, инъактивированная NaOH (инъекционная жидкость для Hitze-Alkali-преципит.) .	0	0	Сильн. реакція
Вареная нерастворимая сыворотка, растворен. въ NaOH	0	0	Хорош. реакція
Нативная сыворотка, на холоду обработанная натронной щелочью . .	0	0	Сильн. реакція

Впослѣдствіи же оказалось, что это противорѣчитъ и результатамъ Куррота и моимъ. Такъ какъ нативный преципитинъ не реагируетъ съ инъекционнымъ матерьяломъ, примѣняемымъ Schmidt'омъ для получения Hitze-Alkali-преципитина, а полученный преципитинъ не реагируетъ съ нативной сывороткой, то Schmidt поставилъ опытъ, гдѣ онъ старался прослѣдить, какъ быстро нативная сыворотка при обработкѣ ея щелочью теряетъ способность преципитироваться нативнымъ преципитиномъ и, наоборотъ, приобретаетъ способность реагировать съ Hitze-Alkali-преципитиномъ.

Опытъ заключался въ слѣдующемъ: 10 к. с. лошадиной сыворотки смѣшаны были при комнатной температурѣ съ 80 к. с. физиологическаго раствора хлористаго натра и 10 к. с. нормальнаго раствора ѣдкой натронной щелочи.

Другими словами, здѣсь дѣйствовалъ $\frac{1}{10}$ норм. растворъ ѣдкаго натра на сыворотку въ разведеніи 1:10. Сразу послѣ смѣшенія, а потомъ черезъ различные промежутки времени изъ этой смѣси бралось по 10 к. с., тотчасъ разводились физиологическимъ растворомъ и нейтрализовались соляной кислотой до слабо-краснаго окрашиванія съ феноль-фталенномъ; а затѣмъ растворъ доводился до 100 к. с., и этотъ уже изслѣдовался съ нативнымъ и Hitze-Alkali-преципитиномъ. Получаемый преципитатъ выражался въ видѣ % къ преципитату при optimum реакціи.

Таблица № 12.

1:100 растворъ	Способность къ реакціи съ	
	Hitze-Alkali-преципит.	Nativ-преципит.
Сыворотка безъ обработ. NaOH (для сравнен.) .	0	[100]
Сыворотка обраб. NaOH. сразу послѣ смѣш. . .	40	80
Послѣ 5 мин. дѣйствія	60	60
„ 30 „ „	90	15
„ 1 часа „	100	5
„ 2 „ „	100	3
„ 4 „ „	100	почти 0
„ 9 „ „	75	0
„ 16 „ „	40	—
„ 24 „ „	30	—
„ 48 „ „	15	—
„ 96 „ „	5	—

Такимъ образомъ Schmidt получилъ, что параллельно исчезанію реакціи съ нативнымъ преципитиномъ идетъ нарастаніе реакціи съ Hitze-Alkali-преципитиномъ, при чемъ maximum реакціи съ послѣднимъ получается черезъ 30 минутъ и

остаётся таковымъ болѣе 4-хъ часовъ. За этотъ промежутокъ времени преципитатъ, полученный отъ дѣйствія нативнаго преципитина на обрабатываемую щелочью сыворотку падаетъ съ 15% до 0. Продержавшись нѣкоторое время на maximum'ѣ, реакція съ Hitze-Alkali-преципитиномъ начинаетъ падать, но очень медленно, такъ что черезъ 4 сутокъ дѣйствія ѣдкаго натра количество получающагося преципитата равняется 5% максимальнаго преципитата. Интересно отмѣтить, что 5% максимальнаго осадка даетъ нативный преципитинъ уже черезъ часъ дѣйствія щелочи, а черезъ 2 часа осадокъ равняется 3%, а потомъ падаетъ до 0. Паденіе реакціи съ Hitze-Alkali-преципитиномъ зависитъ отъ слишкомъ продолжительнаго дѣйствія щелочи на сыворотку и соответствуетъ тому явленію, что при слишкомъ длительномъ дѣйствіи щелочи теряется и антигенное свойство сыворотки, какъ это наблюдалъ Schmidt при полученіи своего преципитина.

Касаясь вопроса, что за продукты вызываютъ образование Hitze-Alkali-преципитиновъ, Schmidt предполагаетъ, что при обработкѣ сыворотки щелочью образуется цѣлый рядъ щелочныхъ альбуминовъ, различныхъ другъ отъ друга, и только при осторожной обработкѣ образуются альбуминаты, которые не теряютъ своихъ преципитиногенныхъ свойствъ. Въ образованіи же Hitze-Alkali-преципитина, по мнѣнію Schmidt'a, участвуютъ двѣ части сыворотки: одна — еще свертывающаяся часть сыворотки, вызываетъ въ организмѣ животного послѣ нѣсколькихъ первыхъ впрыскиваній преципитинъ, который реагируетъ только съ нагрѣтымъ бѣлкомъ; другая часть сыворотки, уже болѣе несвертывающаяся, обладаетъ меньшей преципитиногенной способностью, а потому только послѣ болѣе длительной иммунизации даетъ преципитинъ, дѣйствующій и на обработанный ѣдкимъ натромъ бѣлокъ.

Полученному Hitze-Alkali-преципитину Schmidt при-

даетъ большое значеніе при примѣненіи реакціи преципитации на практикѣ, а именно, въ тѣхъ случаяхъ, когда реакція съ помощью нативной сыворотки не удается или вслѣдствіе слишкомъ длительнаго нагрѣванія матерьяла, подлежащаго изслѣдованію, хотя бѣлки еще и растворимы въ физиологическомъ растворѣ, или же вслѣдствіе полной нерастворимости бѣлковъ въ обыкновенныхъ растворителяхъ.

Во всѣхъ случаяхъ Schmidt совѣтуетъ пробовать растворять изслѣдуемый объектъ въ физиологическомъ растворѣ поваренной соли и затѣмъ преципитировать нативной антисывороткой; если реакція съ нативнымъ преципитиномъ не удастся, то прямо изслѣдовать съ помощью Hitze-Alkali-преципитина, не пробуя Hitze-преципитина, такъ какъ Hitze-Alkali-преципитинъ также хорошо, и даже еще лучше, чѣмъ Hitze-преципитинъ, реагируетъ съ нагрѣтыми бѣлками.

Вообще, имѣя Hitze-Alkali-преципитинъ Schmidt не считаетъ нужнымъ имѣть Hitze-преципитинъ: „Durch das Hitze-Alkali-Präcipitin ist das Hitze-Präcipitin somit ganz überflüssig geworden“. Въ случаѣ же, если бѣлокъ объекта полностью не растворимъ въ физиологическомъ растворѣ, то растворяютъ его въ $\frac{1}{10}$ норм. растворѣ ѣдкаго натра съ нагрѣваніемъ въ водяной банѣ при 70° въ теченіи 15—20 минутъ и затѣмъ прямо изслѣдуютъ Hitze-Alkali-преципитиномъ послѣ нейтрализации. Способность Hitze-Alkali-преципитина реагировать при вышеописанныхъ условіяхъ съ совершенно нерастворимымъ въ обычныхъ растворителяхъ бѣлкомъ и представляетъ, по мнѣнію Schmidt'a, самое главное преимущество этого преципитина на практикѣ, въ чемъ убѣдился самъ Schmidt, получивъ указанія на лошадиное мясо, пользуясь этимъ преципитиномъ при изслѣдованіи колбасы съ 25% лошадиного мяса, нагрѣвавшейся въ кипящей банѣ въ теченіи 45 минутъ. Суповое же мясо („Suppenfleisch“) опредѣлить съ помощью Hitze-Alkali-преципитина Schmidt'у не удалось.

Признавая, что биологическій преципитинный способ открытія мяса различныхъ видовъ животныхъ долженъ имѣть большое значеніе при контролѣ надъ мясными продуктами, какъ единственно вѣрный методъ среди извѣстныхъ до сихъ поръ, главнымъ образомъ, химическихъ методовъ, и въ то же время вполне соглашаясь съ мнѣніемъ другихъ изслѣдователей, что примѣненіе биологическаго метода часто встрѣчается на практикѣ непреодолимое препятствіе, если подвергаются изслѣдованію нагрѣтые мясные продукты, необходимо согласиться съ Schmidt'омъ, что предлагаемый имъ Hitze-Alkali-преципитинъ, если подтвердится способность этого преципитина реагировать съ измѣненнымъ щелочью бѣлкомъ, долженъ значительно расширить область примѣненія биологическаго метода на практикѣ.

Въ виду всего этого профессоръ Евгеній Алексѣевичъ Шепилевскій предложилъ мнѣ заняться изученіемъ свойствъ различныхъ преципитиновъ, полученныхъ по способу Schmidt'a, въ предположеніи, что такимъ образомъ можно бы нащупать основу для примѣненія биологической пробы и къ денатурированнымъ бѣлкамъ.

Однимъ изъ существенныхъ недостатковъ обѣихъ работъ Schmidt'a о преципитинахъ къ измѣненнымъ бѣлкамъ [„Studien über Präcipitinreaktion und erhitzte Eiweissstoffe“ и „Ueber ein Präcipitin, welches es ermöglicht, auch gekochtes (unlösliches) Eiweiss zu differenzieren“] является полное отсутствіе какихъ-либо цифровыхъ данныхъ: такъ Schmidt не показываетъ, съ какимъ титромъ получаютъ у него сыворотки къ измѣненнымъ бѣлкамъ, а въ послѣдней работѣ, приводя таблицу, гдѣ сравнивается дѣйствіе 3-хъ различныхъ преципитиновъ (Nativ-Hitze und Hitze-Alkali-Präcipitin), онъ даетъ такіа обозначенія получаемымъ результатамъ: „gute Reaktion“, „starke Reaktion“; не давая никакихъ цифровыхъ измѣреній этихъ преципитатовъ, Schmidt тѣмъ самымъ лишаетъ возможности дальнѣйшимъ изслѣдовате-

лямъ сравнить получаемые ими результаты съ его собственными данными.

Такимъ образомъ моей задачей было также всѣ изслѣдованія вести возможно точнѣе, пользуясь всюду цифровыми, а вмѣстѣ съ тѣмъ и вполне сравнимыми, данными.

Собственные опыты.

Глава 5.

Общая методика.

Мной всего было иммунизировано 33 кролика, причемъ иммунизация производилась сыворотками и мышечными экстрактами, какъ нативными, такъ и денатурированными по Schmidt'y, а также выжатымъ мяснымъ сокомъ, щелочнымъ и содовымъ экстрактами изъ мяса.

Я иммунизировалъ только кроликовъ, какъ животныхъ наиболѣе пригодныхъ для выработки преципитирующихъ сыворотокъ, и которыми почти исключительно пользуются всѣ работающіе съ реакціей преципитации; такъ какъ опыты съ иммунизованіемъ болѣе крупныхъ животныхъ — какъ лошадей, ословъ, барановъ, козъ и собакъ (Uhlenhuth, Wassermann, Schüller, Schütze и др.) не дали благоприятныхъ въ смыслѣ полученія преципитирующихъ сыворотокъ результатовъ, а введеніе бѣлковъ морскимъ свинкамъ даетъ очень слабо дѣйствующую сыворотку. Кролики получались изъ г. Юрѣва, г. Вендена и изъ Кѣлецкой губерніи; какой-либо существенной разницы въ способности кроликовъ, полученныхъ изъ различныхъ мѣстъ, вырабатывать специфическія сыворотки, кромѣ обычныхъ индивидуальныхъ колебаній этой способности, не замѣчалось. Кро-

лики взвѣшивались передъ началомъ иммунизациі, а затѣмъ ежедневно, и въ дни впрыскиваній взвѣшивались передъ впрыскиваніемъ, такимъ образомъ можно было наблюдать за малѣйшими колебаніями въ вѣсѣ животныхъ, при чемъ на другой день послѣ впрыскиванія вѣсѣ ихъ въ большинствѣ случаевъ болѣе или менѣе падалъ, но на 2-ой — на 3-ій день опять достигалъ прежняго и даже превосходилъ его, такъ что къ концу иммунизациі вѣсѣ большинства животныхъ или оставался такимъ же, какимъ былъ до начала иммунизациі, или же даже повышался; и только нѣсколько кроликовъ отъ тѣхъ или другихъ причинъ, главнымъ образомъ, отъ развитія гнойниковъ въ брюшной стѣнкѣ дали паденіе вѣса, а одинъ кроликъ во время иммунизациі погибъ.

Иммунизировались всѣ животныя интраперитонеально въ виду того, что этотъ способъ является однимъ изъ лучшихъ въ смыслѣ всасыванія вводимыхъ бѣлковъ; другіе способы менѣе пригодны, такъ какъ при подкожномъ введеніи иммунизирующаго матерьяла вообще часто получаютъ гнойники въ подкожной клѣтчаткѣ, а въ данномъ случаѣ, вводя щелочную жидкость, можно ожидать особенно частаго развитія ихъ и даже омертвѣнія кожи; что же касается интравенозныхъ впрыскиваній, то ими нельзя было пользоваться, такъ какъ сыворотка, обработанная по Schmidt'у, давала иногда небольшой осадокъ, повидимому, бѣлка и безъ нейтрализаціи соляной кислотой.

Для внутрибрюшинныхъ впрыскиваній помощникъ держалъ кролика внизъ головой, захвативъ одной рукой переднія лапы, другой — заднія, отъ чего исчезала опасность пораненія кишечныхъ стѣнокъ, затѣмъ передъ 1-мъ впрыскиваніемъ выбривалась шерсть въ задней части брюшной стѣнки, мѣсто это вымывалось каждый разъ спиртомъ, захватывалось въ складку указательнымъ и большимъ пальцами лѣвой руки, стараясь захватить въ складку и пристѣ-

ночный листокъ брюшины, и затѣмъ иммунизирующая жидкость вводилась съ помощью шприца съ слегка затупленной иглой. Мнѣ никогда не приходилось прибѣгать къ разрѣзамъ кожи и подкожной клѣтчатки, какъ это рекомендуютъ для облегченія введенія затупленной иглы Uhlenhuth und Weidanz, Julius Citron¹⁾, P. Müller²⁾ и др., такъ какъ слегка затупленная игла при небольшомъ усилии довольно легко проникаетъ черезъ неповрежденную брюшную стѣнку (большее усиліе необходимо при болѣе толстой кожѣ у сѣрыхъ и черныхъ кроликовъ).

Такія впрыскиванія кролики получали: меньшая часть черезъ 4 дня въ 5-ый, а большая — чаще, черезъ 2 дня въ 3-ий, какъ это рекомендуетъ Schmidt, при чемъ частое введеніе бѣлковъ оказалось болѣе пригоднымъ, такъ какъ, не уменьшая способности животныхъ вырабатывать иммунныя тѣла, этотъ способъ значительно сокращаетъ время иммунизациі. Пользоваться же предложеннымъ Fernet und Müller'омъ „Schnellimmunisierungsmethode“ мнѣ не пришлось, такъ какъ съ одной стороны этотъ методъ далеко не всѣми признается годнымъ для полученія антисыворотокъ, напимѣръ: Bonhoff³⁾, Tsuzuki⁴⁾, Miessner und Trapp⁵⁾, Wiedenmann⁶⁾ и др. не только подтверждаютъ результаты Fernet'a und Müller'a, но нѣкоторые (Bonhoff und Tsuzuki) находятъ даже, что получаемыя

1) Julius Citron. „Die Methoden der Immunodiagnostik und Immunotherapie und ihre praktische Verwertung“. Leipzig 1910.

2) Paul Th. Müller. „Technik der serodiagnostischen Methoden“ — Jena 1909.

3) Bonhoff und Tsuzuki. „Über die Schnellimmunisierungsmethode von Fernet und Müller“. — Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. experim. Therap. 1909. Bd. 4.

4) Tsuzuki. „Über die Schnellimmunisierungsmethode nach Fernet und Müller“. Zeitschr. für Immunitätsforsch. u. exper. Therapie 1909 Bd. 4.

5) Miessner und Trapp. „Die Komplementbildung bei Rotz und ihre Beziehung zur Syphilisreaktion“ — Zentralbl. für Bakter. 1909 Bd. LII.

6) Wiedenmann. „Über die aktive Immunisierung von Kaninchen gegen Drusestreptokokken“ Inaug.-Diss. Bern. 1909.

этимъ способомъ сыворотки болѣе специфичны; въ то же время рядъ работъ, вышедшихъ изъ Гигіеническаго Института при Страстбургскомъ Университетѣ (Haendel, Trommsdorf, Steffenhagen¹⁾), не подтвердилъ пригодности этого метода; съ другой же стороны, если даже признать годность этого способа, примѣненіе его въ моихъ случаяхъ было невозможно, такъ какъ для полученія Hitze-Alkali-преципитина по Schmidt'у надо отъ 5 до 10 впрыскиваній.

Взятіе пробы крови для опредѣленія титра сыворотки производилось на 5—6 день послѣ 4—5 впрыскиванія у кроликовъ, иммунизируемыхъ нативной сывороткой и нативнымъ мышечнымъ экстрактомъ, и послѣ 6—7 впрыскиванія у кроликовъ, подвергавшихся иммунизированію денатурированными бѣлками. Иногда пробное взятіе крови приходилось повторять послѣ нѣсколькихъ добавочныхъ впрыскиваній, когда при первомъ взятіи титръ сыворотки оказывался недостаточно высокимъ.

Кровь бралась изъ краевой вены уха; для этого на мѣстѣ взятія крови шерсть выстригалась, ухо вымывалось сулемовымъ растворомъ и обсушивалось, а затѣмъ острыми кровными ножницами вырѣзался кусочекъ кожи надъ краевой веной, при чемъ или сразу же перерѣзалась и вена, или же она перерѣзывалась вслѣдъ за вырѣзаніемъ куска кожи. Необходимо пользоваться при этомъ обязательно острыми ножницами, такъ какъ тупыми легко получается раздавливаніе стѣнокъ вены и тогда получить необходимое количество крови не удастся. Для вскрытія вены и для полученія достаточнаго кровотока необходимо бываетъ получить гиперэмію уха и вмѣстѣ съ тѣмъ набухлость краевой вены. Для этого рекомендуются различные способы: опусканіе кролика головой внизъ, наложеніе ватнаго шарика, смоченнаго горячей водой, на корень уха, натирание ушной

1) Цитирую по Uhlenhuth und Weidanz „Praktische Anleitung“ и т. д.

лопасти ксилоломъ, легкое поколачиваніе по уху ножницами и т. д. Уже одно вымываніе уха сулемовымъ растворомъ даетъ нѣкоторую гиперэмію его, но главное къ чему я прибѣгалъ для полученія гиперэмии, это было возможно болѣе близкое приближеніе уха къ Ауэровской горѣлки, которой я пользовался какъ источникомъ свѣта.

Мнѣ хотѣлось бы особенно рекомендовать этотъ способъ вызванія гиперэмии, какъ весьма дѣйствительный, постоянно имѣющийся подъ рукой и въ то же время весьма удобный. Дѣйствительно, гиперэмія вызывается здѣсь отчасти свѣтовыми лучами, но главнымъ образомъ тепловыми; наступаетъ она довольно быстро, продолжительность дѣйствія этого агента всецѣло зависитъ отъ экспериментатора, такъ какъ по мѣрѣ устраненія надобности въ гиперэмію достаточно отнести кролика дальше отъ горѣлки и ранку зажать ватнымъ шарикомъ, тогда на глазахъ быстро происходитъ сжатіе всей кровеносной сѣти уха и очень скорая остановка кровотока. Надо еще указать на слѣдующее обстоятельство, что гиперэмію такимъ способомъ надо получить до вскрытія вены, т. е. въ противномъ случаѣ, т. е. когда вена вскрыта, но гиперэмии нѣтъ, а вслѣдствіе этого нѣтъ и достаточнаго кровотока, вызваніе этого кровотока приближеніемъ уха къ источнику свѣта встрѣчаетъ одно неблагоприятное обстоятельство, а именно: засыханіе медленно выступающей крови въ корку и тромбозированіе тѣмъ вены.

Этотъ способъ вызванія набуханія венъ уха кролика не новый; о немъ вскользь говоритъ Paul Müller въ своей книгѣ „Technik der serodiagnostischen Methoden“ на стр. 2: „Noch zweckmässiger ist es jedoch, das Ohr während der ganzen folgenden Prozedur aus nächster Nähe mit einer elektrischen Glühbirne zu bestrahlen...“ и на эти же слова Müller'a указываютъ Uhlenhuth und Weidanz на стр. 196: „Um während der ganzen Dauer der Operation eine starke

Schwellung der Blutgefäße zu haben, ist es zweckmässig, das Ohr des Tieres aus nächster Nähe mit einer elektrischen Birne zu bestrahlen (P. Th. Müller) . . .“

Но Müller предлагаетъ этотъ способъ при производствѣ интравенозныхъ впрыскиваній въ ухо кролика. На основаніи же своихъ опытовъ я могу рекомендовать этотъ способъ для вызыванія гипереміи и при взятіи пробъ крови изъ уха.

Въ началѣ своихъ изслѣдованій я пользовался нѣсколько разъ вытираніемъ уха ватнымъ шарикомъ съ ксилоломъ и остался недоволенъ полученными результатами, такъ какъ гиперемія, дѣйствительно, получалась сильная, но остановить кровотеченіе, когда набрано достаточное количество крови, очень трудно вслѣдствіе длительного дѣйствія ксилола, такъ что напрасно терялось каждый разъ по нѣсколько кубиковъ крови. Точно также, по моему мнѣнію, излишняя потеря крови получается при перерѣзкѣ ушной лопасти (Fiehe и др.), такъ какъ и здѣсь остановка кровотечения болѣе затруднительна. Получая же гиперемію отчасти вытираніемъ уха сулемовымъ растворомъ и главнымъ образомъ нагрѣваніемъ горѣлкой, я останавливалъ кровотеченіе легко, относя кролика, какъ было сказано, отъ горѣлки и прижимая ранку ватнымъ шарикомъ, при чемъ не надо было наложенія пинцета.

Вытекающая кровь въ количествѣ отъ 2 до 5 к. с. собиралась въ стерильныя маленькія пробирки, которыя затѣмъ ставились на 1 часъ въ термостатъ при 37°, образовавшійся кровяной свертокъ отдѣлялся платиновой иглой отъ стѣнокъ пробирки, и онѣ ставились на 24 часа на холодъ; по прошествіи этого времени отдѣлившаяся сыворотка отсасывалась тонкими пипетками, какъ это практикуется въ Гигіеническомъ Институтѣ проф. Е. А. Шепи-левскаго, въ пробирки для центрифугированія и затѣмъ центрифугируется для удаленія случайно могущихъ попасть

форменныхъ элементовъ крови; потомъ сыворотка опять отсасывается и употребляется для изслѣдованія на опредѣленіе титра ея и, если хватитъ количества ея, специфичности.

Когда предварительнымъ изслѣдованіемъ пробы крови было установлено, что сыворотка имѣетъ достаточно высокій титръ, кроликъ обезкровливался мною по способу Ziemke; при чемъ, чтобы избѣжать опалесценціи сыворотки, животное послѣдніе 24 часа оставлялось безъ пищи. Для взятія всей крови кроликъ укладывался въ станокъ, шерсть на шеѣ коротко обстригалась, кожа вымывалась послѣдовательно спиртомъ, обильно эфиромъ и смазывалась іодной пастой. Такъ какъ есть указанія, что при хлороформированіи кролика сыворотка получается окрашенной въ красноватый цвѣтъ, а благодаря этому появленіе реакціи въ такихъ сывороткахъ менѣе замѣтно (Hauser¹⁾, Kister und Wolff²⁾, я не хлороформировалъ кроликовъ; къ тому же не было особой необходимости, потому что кролики совершенно спокойно переносили всю послѣдующую операцію, что происходило, возможно, отъ мѣстнаго анестезированія эфиромъ кожи шеи. Затѣмъ стерилизованными инструментами дѣлался продольный разрѣзъ на шеѣ, отступя на $\frac{1}{2}$ —1 с. отъ средней линіи въ ту или другую сторону; когда мышцы шеи оказывались обнаженными, то пинцетами они раздвигались и изолировалась отъ окружающей кѣтчатки и блуждающаго нерва сонная артерія, на которую накладывалось близко другъ отъ друга двѣ лигатуры; часть сонной артеріи, лежащая центрально (ближе къ сердцу) лигатуръ, захватывалась осторожно за одну стѣнку ея и окружающую кѣтчатку пеономъ; артерія между лигатурами перерѣзалась, затѣмъ центральный конецъ ея направлялся въ отвер-

1) Hauser см. выше.

2) Kister und Wolff. „Zur Anwendbarkeit des serodiagnost. Blutprüfungsverfahrens“ — Zeitschr. f. Hygiene 1902. Bd. 41.

Они же. „Zur Anwendung der Uhlenhuthschen Reaktion“. — Zeitsch. für Med. Beamte 1902. H. 7.

стіе широкой и большой пробирки и, наконецъ, артерія вторично перерѣзалась между центральной лигатурой и пепаномъ. Кровь сильной струей попадала въ пробирку, при чемъ измѣнить своего направленія она не можетъ, такъ какъ артерія удерживается пепаномъ. Въ большинствѣ случаевъ вся кровь вытекала черезъ эту артерію, но иногда вслѣдствіе-ли тромбоза ея или отъ другой причины токъ крови прекращался.

Вскрытіе сонной артеріи другой стороны давало возможность получить тогда еще 5—15 к. с. крови, поэтому не лишне бываетъ на всякій случай вскрыть потомъ и другую артерію, въ особенности если экспериментаторъ заинтересованъ получить возможно больше крови и если кровотечение изъ первой артеріи остановилось, а дѣятельность сердца, хотя бы слабая, еще есть. Въ такихъ случаяхъ можно еще передъ вскрытіемъ второй артеріи отрѣзать дальше кусочки первой артеріи, такъ какъ тромбозированіе и спаденіе стѣнокъ ея происходитъ чаще у самаго мѣста разрѣза. Надавливаніе на брюшную и грудную полости даетъ возможность вытечь и остаткамъ крови. Такимъ образомъ удавалось получать отъ 60 до 100 к. с. крови, смотря по величинѣ кролика.

Кровь для образованія хорошаго плотнаго свертка ставилась на 1—1½ часа въ термостатъ при 37° C., затѣмъ образовавшійся свертокъ платиновымъ шпателькомъ отдѣлялся отъ стѣнокъ пробирки, которая ставилась на 24 часа въ холодное мѣсто. Отдѣлившаяся сыворотка отсасывалась осторожно пипеткой и подвергалась центрифугированію.

Нѣкоторыя сыворотки получались слегка окрашенными въ красноватый цвѣтъ. При взятіи крови отъ каждаго кролика я пользовался двумя пробирками; въ первую — собиралась бѣлая часть сыворотки, а когда первая оказывалась наполненной, то оставшаяся еще сыворотка собиралась во вторую пробирку; при этомъ было замѣчено, что сыворотка

въ первой пробиркѣ получалась желтоватаго цвѣта, безъ красноватаго оттѣнка, а сыворотка во второй пробиркѣ красноватаго цвѣта. Чѣмъ объяснить это явленіе, не знаю. Мною обѣ части сыворотокъ отъ трехъ кроликовъ, т. е. сыворотка изъ 1-ой пробирки и изъ 2-ой, были испытаны отдѣльно на ихъ титръ и специфичность и разницы между ними не было найдено; поэтому во всѣхъ такихъ случаяхъ съ неодинаковой окраской сыворотки въ 1-ой и во 2-ой пробиркахъ, обѣ части сыворотки сливались вмѣстѣ.

Опалесцирующая сыворотка получена была одинъ разъ отъ кролика № 19, а потому была профильтрована черезъ фильтръ Berkefeld'a. Всѣ остальные сыворотки фильтровать не приходилось. Сыворотки наливались въ бутылочки оранжеваго стекла, въ 10—15 к. с. вмѣстимостью, съ притертыми пробками, которыя послѣ прибавленія 3—4 капель хлороформа на 10 к. с. сыворотки плотно закупоривались и обвязывались пергаментной бумагой. Держались онѣ въ прохладномъ мѣстѣ безъ доступа свѣта. Почти во всѣхъ сывороткахъ черезъ нѣкоторое время послѣ прибавленія хлороформа получалось помутнѣніе, которое въ видѣ незначительнаго осадка осѣдало на дно, а вся остальная сыворотка оставалась прозрачной. Это образованіе осадка не вліяло на титръ сыворотки; требовалось только болѣе осторожное взятіе жидкости сверху, чтобы не поднять осадка и не получить мутноватой сыворотки.

Полученныя преципитирующія сыворотки изслѣдовались для опредѣленія титра ихъ и специфичности по способу Uhlenhuth'a und Beumer'a¹⁾. Подробнѣе методика этихъ изслѣдованій будетъ описана при изложеніи полученія и испытанія отдѣльныхъ антисыворотокъ. Здѣсь надо еще упомянуть о томъ, что примѣняемая для реакціи по-

¹⁾ Uhlenhuth und Beumer. „Praktische Anleitung zur gerichtlichen Blutuntersuchung mittels der biologischen Methode“. Zeitsch. f. Mediz. Beamte. 1903, № 5 и 6.

суда должна быть безусловно чистой, а нѣкоторая и стерильной.

Для опыта преципитации употреблялись пробирки 6—7 mm. въ діаметрѣ и 11 ст. высоты, которыя помѣщались въ соответствующіе штативы. Для разливанія разведеній сыворотки или экстракта примѣнялись стерильныя пипетки, причемъ для каждой сыворотки и экстракта необходима отдѣльная стерильная пипетка.

При постановкѣ опытовъ какъ съ нативными, такъ и съ денатурированными бѣлками я пользовался переслаиваніемъ жидкостей (Schicht-probe Fornet'a u. Müller'a), какъ болѣе точнымъ методомъ, при чемъ сначала въ пробирку вливалъ 0, 1 к. с. иммунной сыворотки, какъ болѣе тяжелой, а затѣмъ сверху, держа пробирку наклонно и осторожно спуская каплю за каплей по стѣнкѣ ея, переслаивалъ 1 к. с. разведенія сыворотки или экстракта. При такихъ условіяхъ мнѣ удавалось почти всегда получать рѣзкую границу между сывороткой и выше находящейся жидкостью. Въ послѣднее время появилась работа Pfeiler'a¹⁾ „Ein neues Präzipitationsröhrchen“, гдѣ авторъ предлагаетъ для преципитации вмѣсто пробирокъ Uhlenhuth'a свои: 3 см. высоты и 3 mm. ширины съ широкимъ и плоскимъ ободкомъ. Пробирки ставятся въ штативъ и рѣзкое переслаиваніе жидкостей достигается тѣмъ, что жидкость копаются на ободокъ, а оттуда постепенно спускается по стѣнкѣ пробирки, благодаря чему граница получается рѣзкая. Сначала закапывается сыворотка, а потомъ изслѣдуемая жидкость. Однако, далеко не всѣ изслѣдователи въ такой послѣдовательности переслаиваютъ жидкости; такъ P. Müller, Citron, Uhlenhuth, Weidanz, Wedemann, проф. А. В. Григорьевъ²⁾ и другіе сначала наливаютъ въ пробирки раз-

1) Pfeiler. „Ein neues Präzipitationsröhrchen“ — Zentralbl. für Bakter. Orig. 1913. Bd. 70 H. 5 и 6.

2) Проф. А. В. Григорьевъ. „Къ методикѣ примѣненія реак-

веденіе сыворотки или экстракта, а затѣмъ, держа пробирку въ наклонномъ положеніи, по стѣнкѣ ея спускаютъ иммунную сыворотку, которая, будучи тяжелѣе, опускается на дно пробирки; наоборотъ, Fornet und Müller, Baier und Reuchlin, Fiehe, Pfeiler и др. переслаиваютъ въ такомъ порядкѣ, какъ это дѣлалъ я.

Легче всего замѣтить только что появляющееся помутнѣніе, если разсматривать пробирки при падающемъ свѣтѣ на черномъ фонѣ, т. е. помѣстивъ сзади пробирокъ черную бумагу.

Глава 6.

Преципитины, полученные отъ введенія нативныхъ сыворотокъ.

Неизмѣненными (нативными) сыворотками мною было иммунизировано 6 кроликовъ: по 2 кролика лошадиной, коровьей и свиной (кролики №№ 1—6).

Лошадиная сыворотка получалась мной изъ крови, которая стерильнымъ путемъ, введя каплю съ резиновой трубкой въ vena jugularis, собиралась въ большія Эрленмейеровскія колбы, въ 500—1000 к. с. вмѣстимостью, отъ лошадей въ Юрьевскомъ Ветеринарномъ Институтѣ. Коровья кровь добывалась на бойнѣ г. Юрева изъ перерѣзанныхъ шейныхъ сосудовъ коровъ и быковъ въ такія же колбы. Тамъ же я получалъ и свиную кровь изъ большихъ сосудовъ сердца или изъ самаго сердца.

Для полученія изъ этой крови сыворотки колбы ставились на 1—1½ часа въ термостатъ и, по образованіи свертка, онъ отдѣлялся отъ стѣнокъ колбы платиновымъ

щипомъ Uhlenhuth'a въ судебно-медицинской практикѣ. Русскій Врачъ 1913 № 34.

шпателькомъ, послѣ чего колбы ставились въ холодное мѣсто. На другой день сыворотка отсасывалась большой пипеткой, центрифугировалась и хранилась въ темныхъ стеклянкахъ съ притертой пробкой съ прибавленіемъ хлороформа въ прохладномъ мѣстѣ.

Передъ впрыскиваніемъ необходимое количество сыворотки наливалось въ стерильныя небольшія чашки Петри и ставились на 15—20 минутъ въ термостатъ при 37° для улетучиванія хлороформа и нагрѣванія самой сыворотки. Впрыскивалась сыворотка 4-мъ кроликамъ черезъ 2 дня въ 3-ій, а 2-мъ черезъ 4 дня въ 5-ый; при чемъ заразѣ вводилось въ брюшную полость по 5 к. с. сыворотки; при первомъ же впрыскиваніи вводилось меньше: отъ $2\frac{1}{2}$ до 4 к. с. Исключеніе представляетъ только кроликъ № 3, который 3 раза получалъ меньше 5 к. с., что объясняется вообще незначительной величиной этого кролика и сильнымъ паденіемъ вѣса его. Этотъ кроликъ погибъ послѣ 6 впрыскиваній, точной причины на вскрытіи установить не удалось. Впрыскиваній каждый кроликъ получилъ 6—8.

Опредѣленіе титра и специфичности нативныхъ анти-сыворотокъ, какъ было уже сказано, производилось по способу Uhlenhuth'a und Beumer'a. Для этого приготовлялись слѣдующія разведенія той сыворотки, которая вводилась данному кролику (гомологической сыворотки), съ 0,85% растворомъ поваренной соли: 1:500, 1:1000, 1:5000, 1:10000, 1:15000, 1:20000 и 1:30000; а затѣмъ слѣдующія разведенія гетерологическихъ сыворотокъ 1:50, 1:100 и 1:200; при чемъ если изслѣдовалась лошадиная преципитирующая сыворотка, то обязательно она испытывалась на ея специфичность и съ коровьей и со свиной сывороткой и, наоборотъ, коровья антисыворотка — на лошадиную и свиную, а свиная антисыворотка — на лошадиную и коровью. Въ случаѣ, если бы данныхъ разведеній оказалось мало, и преципитация съ гетерологическими сыворотками получалась

еще въ разведеніи 1:200, то дополнительно дѣлались разведенія 1:500 и 1:1000, какъ это было съ сывороткой крол. № 1. Всѣ эти разведенія переслаивались съ 0,1 к. с. испытуемой иммунной сыворотки и, наконецъ, въ одной пробиркѣ переслаивали антисыворотку съ чистымъ 0,85% растворомъ Na Cl.

Такой длинный рядъ пробирокъ давалъ полную картину постепеннаго убыванія силы реакціи по мѣрѣ разведенія сыворотокъ. Конечно такой опытъ ставился только съ иммунной сывороткой, окончательно полученной отъ кролика, т. е. при обезкровливаніи его по окончаніи иммунизации. Что же касается испытанія сыворотки при взятіи пробы крови изъ уха кролика во время иммунизации, то здѣсь я слѣдовалъ точно указаніямъ Uhlenhuth'a und Beumer'a, ставя рядъ только изъ 6 пробирокъ въ виду незначительнаго количества сыворотки: разведенія соотвѣтствующей сыворотки 1:1000, 1:10000 и 1:20000 и разведенія чужой сыворотки 1:200, 1:500 и 1:1000.

А. Дѣйствіе на нативные бѣлки.

Опредѣленіе титра и специфичности 5 нативныхъ анти-сыворотокъ приведены въ таблицѣ № 13.

Такимъ образомъ полученные нативныя преципитирующие сыворотки обладали титромъ 1:10000—1:20000. Специфичность же ихъ была различна: въ то время какъ сыворотки №№ 2 и 5 были вполне специфичны и не давали съ чужими сыворотками реакціи и въ разведеніи 1:50; сыворотка № 1 давала реакцію съ коровьей сывороткой 1:500 и со свиной 1:200, т. е. обладала сравнительно небольшой специфичностью; двѣ остальные сыворотки №№ 4 и 6 помѣщались по своей специфичности по серединѣ: сывор. № 4 давала реакцію съ лошадиной кровяной сывороткой въ разведеніи 1:100 и со свиной 1:50; а сыв. № 6 съ лошадиной и коровьей 1:50.

Таблица № 13¹⁾.

№ Кролик.	Антисывор.	Лошадн. сыворотка										Коровья сыворотка										Свиная сыворотка									
		50	100	200	500	1000	5000	10000	15000	20000	30000	50	100	200	500	1000	5000	10000	15000	20000	30000	50	100	200	500	1000	5000	10000	15000	20000	30000
1	Лошад.	—	—	—	++	++	++	++	++	++	0	+	+	+	+	0	—	—	—	—	—	+	+	+	0	—	—	—	—	—	—
2	„	—	—	—	++	++	++	++	++	0	0	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	0	0	0	—	—	—	—	—	—	—
4	Коров.	++	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	++	++	++	++	++	?	0	+	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—
5	Свиная	0	0	0	—	—	—	—	—	—	—	0	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	++	++	++	+	?	0	0	—
6	„	+	0	0	—	—	—	—	—	—	—	+	0	0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	++	+	++	+	0	0	0	—

Это явление нормальное, так как специфичность сывороток только количественная. Объ этом так говорит проф. А. В. Григорьев²⁾: „Какъ извѣстно, частичные преципитины содержатся во всякой реактивной сывороткѣ, но въ очень маломъ количествѣ, такъ что присутствіе ихъ не обнаруживается даже при продолжительномъ срокѣ наблюденія за ходомъ сывороточной реакціи; однако, въ рѣдкихъ случаяхъ, подѣ влияніемъ пока совсѣмъ еще не изученныхъ причинъ, они вырабатываются въ организмѣ животного въ гораздо большемъ количествѣ, чѣмъ обыкновенно, какъ о томъ имѣются указанія въ литературѣ³⁾, и тогда реактивная сыворотка, приготовленная противъ одного рода крови, начинаетъ давать реакцію, лишь въ болѣе слабой формѣ и черезъ болѣе долгій промежутокъ времени, и со многими другими родами крови“ . . . Способствующими условіями для полу-

1) Обозначеніе въ этой таблицѣ, какъ и въ послѣдующихъ, такое: — реакція не дѣлалась; 0 — реакціи не получилось; ? — слѣды реакціи; + реакція ясная и ++ реакція очень рѣзкая.

2) Проф. А. В. Григорьевъ. „Новые простые практическіе приемы приготовленія и храненія сильнодѣйствующей реактивной сыворотки Uhlenhuth'a“. — Русскій Врачъ 1911 г. № 36.

3) Leers. „Die forensische Blutuntersuchung“. 1910.

ченія неспецифическихъ осадковъ, какъ говоритъ проф. А. В. Григорьевъ въ своей послѣдней статьѣ (Русскій Врачъ. 1913 г. № 34, стр. 1191), является крѣпость изслѣдуемаго бѣлковаго раствора и высокая чувствительность преципитирующей сыворотки.

Что касается получающихся реакцій, то рѣзко отличаются реакціи съ гомологической и гетерологическими сыворотками: въ первомъ случаѣ реакція въ разведеніяхъ 1 : 500, 1 : 1000 и даже 1 : 5000 получается сразу, при чемъ помутнѣніе ясно видно, когда еще пробирка только ставится въ штативъ, черезъ 3—5 минутъ это помутнѣніе превращается въ ясную муть, а черезъ 10 минутъ въ хлопьевидный осадокъ. Съ разведеніемъ сыворотки 1 : 10000 и дальше реакція наступаетъ медленнѣе, но черезъ 20 минутъ наблюденіе вполне можно прекратить, такъ какъ всѣ помутнѣнія уже появляются за это время. Въ общемъ можно сказать, что эти реакціи вполне удовлетворяли требованіямъ Uhlenhuth'a.

Не такъ обстояло дѣло съ реакціями съ чужими сыворотками: здѣсь реакціи появлялись значительно позже, иногда черезъ 10—15 минутъ и бывали очень незначительныя. При наслаиваніи на специфическія сыворотки физиологическаго раствора реакціи ни разу не получалось.

Эти же антисыворотки изслѣдовались для опредѣленія титра ихъ по отношенію къ мышечнымъ экстрактамъ, которыми иммунизировалась другая серія кроликовъ. Экстракты готовились слѣдующимъ образомъ: бралось свѣжее мясо лошади, коровы и свиньи и пропускалось черезъ котлетную машинку, затѣмъ брались равныя по вѣсу количества рубленого мяса и физиологическаго раствора и помѣщались въ колбы, которыя подвергались 24-хъ часовому взбалтыванію въ Schüttelapparat'ѣ для лучшаго извлеченія бѣлковыхъ веществъ. Послѣ этого экстрактъ выжимался руками черезъ бумажный платокъ и фильтровался черезъ обыкновенный фильтр, смоченный физиологическимъ растворомъ; полу-

ченный прозрачный экстракт нейтральной или слабо-кислой реакции сохранялся также, какъ сыворотка, тоже давая черезъ нѣкоторое время выпаденіе незначительнаго, но большаго, чѣмъ у сыворотокъ, осадка. Съ этими экстрактами ставилась реакція преципитации; разведенія этихъ вытяжекъ съ физиологическимъ растворомъ всегда давали нейтральную реакцію. Приготавливались разведенія съ такимъ же расчетомъ, какъ и сыворотки, т. е. разведеніе мышечнаго экстракта 1:10 обозначало, что былъ взятъ 1 к. с. неразбавленнаго экстракта и прибавлено 9 к. с. физиологическаго раствора.

Изъ таблицы № 14 видно, что преципитирующія сыворотки животныхъ, иммунизированныхъ нативными сыворотками, реагируютъ съ экстрактами изъ мяса животныхъ только въ сравнительно небольшихъ разведеніяхъ; такъ одна только сыворотка № 4 реагировала въ разведеніи экстракта 1:1000; всѣ же другія сыворотки реагируютъ или въ разведе-

Таблица № 14.

№№ кролик.	Антисыворотка	Лошад. экстр.					Коровій экстр.					Свиной экстр.				
		50	100	500	1000	5000	50	100	500	1000	5000	50	100	500	1000	5000
1	Лошад. . .	+	+	+	0	0	+	0	0	—	—	0	0	0	—	—
2	" . .	+	+	+	0	0	0	0	0	—	—	0	0	0	—	—
4	Коров. . .	?	0	0	—	—	+	+	+	+	0	0	0	0	—	—
5	Свиная . .	0	0	0	—	—	0	0	0	—	—	+	+	0	0	0
6	" . .	0	0	0	—	—	0	0	0	—	—	+	+	0	0	0

деніи 1:500 или 1:100. Значитъ, если бы опредѣлять титръ этихъ антисыворотокъ по мышечнымъ экстрактамъ, то всѣ онѣ имѣли бы титръ значительно меньшій, чѣмъ онѣ имѣютъ по отношенію къ сывороточнымъ растворамъ. Подобно тому какъ уменьшается способность этихъ антисыворотокъ реагировать съ болѣе высокими разведеніями экстрактовъ изъ мяса своего вида животныхъ, такое же уменьшеніе замѣчается и по отношенію къ растворамъ экстрактовъ изъ

мяса другихъ видовъ животныхъ, напр. сывор. № 1 давала гетерологическое помутнѣніе съ коровьей сывороткой въ разведеніи 1:500, а со свиной 1:200; съ мышечнымъ коровьимъ экстрактомъ даетъ только въ разведеніи 1:50, а со свинымъ даже при этомъ разведеніи (1:50) не даетъ никакого помутнѣнія. Тѣ же антисыворотки, которыя давали реакцію съ растворами чужихъ сыворотокъ въ разведеніи 1:50 и 1:100 (№№ 4 и 6) становились почти совсѣмъ специфичными. Другими словами, эти преципитирующія сыворотки при реагированіи съ мышечными экстрактами становятся какъ-бы менѣ чувствительными, но зато болѣе специфичными, по сравненію съ дѣйствіемъ ихъ на растворы своихъ антигеновъ, т. е. неизмѣненныхъ сыворотокъ.

Объясненіе этому факту можетъ быть двоякое: или какъ полагаетъ Schmidt въ своей работѣ „Untersuchungen über die Erzeugung hochwertiger Muskeleiweiss-Antisera für die Fleischdifferenzierung“, бѣлокъ сывороточный отличается биологически отъ мышечнаго бѣлка, а потому преципитирующая сыворотка, полученная отъ введенія сывороточныхъ бѣлковъ, реагируетъ съ растворами выжатаго мышечнаго сока значительно слабѣе, чѣмъ преципитирующая сыворотка, полученная введеніемъ животному выжатаго мышечнаго сока. Отрицать существованіе биологической разницы между сывороточнымъ и мышечнымъ бѣлкомъ не возможно; но какова эта разница и какъ она влияетъ на выработку преципитиновъ — въ настоящее время сказать нельзя.

Вообще же на выработку специфическихъ преципитиновъ въ организмъ животнаго теперь имѣется такой взглядъ: при введеніи кролику сывороточныхъ бѣлковъ получаютъ преимущественно сывороточные преципитины, т. е. реагирующіе только съ сывороточными бѣлками; этихъ преципитиновъ вырабатывается болѣе всего, но рядомъ съ ними вырабатываются и такъ называемые общіе преципитины, которые реагируютъ съ бѣлками другихъ органовъ того же вида

животныхъ, но ихъ значительно меньше; а потому реакція преципитациі съ другими бѣлками получается слабѣе. Въ данномъ случаѣ одно изъ объясненій этому пониженію чувствительности антисыворотокъ надо искать въ незначительномъ содержаніи въ нихъ такихъ общихъ преципитиновъ, которые могли бы вызывать реакцію съ мышечными бѣлками. Поэтому Schmidt и даетъ въ своей работѣ таблицу, гдѣ ясно видна разница въ дѣйствиі сывороточныхъ и мышечныхъ преципитиновъ на одинъ и тотъ же мышечный бѣлокъ (табл. № 15).

Таблица № 15.

№ 1		
20% растворъ выжатого сока изъ человѣческаго мяса	+ Menschen-Presssaft-Antiserum.	Моментальная очень сильная реакція. Выс. осадка чер. 24 ч. — 6 mm.
№ 2		
Тоже	+ Menschen-Blut-Antiserum.	Очень слабое помутнѣніе. Высота осадка — 0,5 mm.

Другое объясненіе такому пониженію преципитирующей способности полученныхъ мною антисыворотокъ можно искать въ значительно меньшемъ содержаніи бѣлковъ въ мышечныхъ экстрактахъ по сравненію съ сыворотками. Такъ Uhlenhuth, Weidanz und Wedemann рекомендуютъ при приготовленіи мышечнаго экстракта изъ изслѣдуемаго матерьяла получать разведеніе мышечнаго бѣлка 1:300, что будетъ соотвѣтствовать разведенію сыворотки 1:1000. Я также ниже приведенными опытами химическаго опредѣленія бѣлка въ сывороткахъ и экстрактахъ могу подтвердить, что экстракты содержатъ значительно меньше бѣлка и уже разведенія экстрактовъ 1:500 даютъ только намекъ на существованіе бѣлка, тогда какъ въ сывороткѣ, разведенной 1:5000, химически бѣлокъ еще опредѣлимъ. Если теперь принять во вниманіе, что содержаніе бѣлка въ испытуемыхъ

растворахъ играетъ большую роль въ реакціи преципитациі, при чемъ незначительное содержаніе бѣлка уменьшаетъ чувствительность реакціи, а слишкомъ большое содержаніе его увеличиваетъ чувствительность и способствуетъ появленію гетерологическихъ помутнѣній, то находимое нами явленіе уменьшенія чувствительности и увеличенія специфичности при дѣйствиі антисыворотокъ на мышечные экстракты можетъ быть объяснено незначительнымъ содержаніемъ бѣлковъ въ этихъ экстрактахъ, а также содержаніемъ небольшого количества общихъ преципитиновъ въ антисывороткахъ.

Б. Дѣйствіе на бѣлки, обработанные по Schmidt'у.

Дальнѣйшее испытаніе антисыворотокъ, полученныхъ введеніемъ нативныхъ сыворотокъ, производилось для рѣшенія вопроса, получается ли реакція преципитациі при дѣйствиі этихъ антисыворотокъ на кровяную сыворотку, обработанную по Schmidt'у нагреваніемъ при 70° въ теченіи 30 минутъ и щелочью при той же температурѣ въ теченіи 15 минутъ. Полученная послѣ такой обработки щелочная жидкость нейтрализовалась осторожнымъ прибавленіемъ нормальнаго раствора соляной кислоты, при этомъ по мѣрѣ нейтрализаціи образовывался въ жидкости небольшой осадокъ. Когда реакція становится совсѣмъ слабо-щелочной (осадокъ въ то время еще незначительный), нейтрализація прекращается; жидкость, ставшая послѣ фильтрованія прозрачной, разводилась физиологическимъ растворомъ отъ 1:50 и выше; реакція этихъ разведеній всегда бывала нейтральной. Затѣмъ преципитирующія сыворотки испытывались на этотъ антигенъ по Schmidt'у. Нейтрализація щелочной жидкости передъ постановкой опыта преципитациі производилась на томъ основаніи, что всѣми авторами, изучавшими вліяніе химическихъ агентовъ на реакцію преципитациі, было установлено, что щелочь мѣшаетъ реакціи, такъ какъ, повидимому, растворяетъ преципитатъ (Biondi,

Ferrai, Linossier et Lemoine, Vincent¹⁾ Аксеновъ²⁾ и др.). Поэтому работающие съ преципитинной реакцией (Uhlenhuth, Weidanz und Wedemann, Fornet und Müller, Schmidt и др.) высказываются, что реакція растворовъ должна быть нейтральной или слабо-кислой или слабо-щелочной.

Результаты изслѣдованія всѣхъ 5 преципитирующихъ сыворотокъ были отрицательны даже въ разведеніи 1 : 50; помутнѣнія не было ни со своими, ни съ чужими сыворотками, обработанными по Schmidt'y. Время наблюденія за ходомъ этой реакціи продолжалось 1½ часа, такъ какъ имѣются указанія, что реакція съ денатурированными бѣлками течетъ значительно медленнѣе, чѣмъ съ нативными. Однако и при такомъ продолжительномъ наблюденіи реакція оставалась безусловно отрицательной.

Объяснить это надо только денатурированіемъ бѣлковъ сыворотки при обработкѣ ихъ нагрѣваніемъ и щелочью, такъ что бѣлки уже теряютъ способность преципитироваться нативными преципитинами. Объяснить же отрицательный результатъ отсутствіемъ или недостаткомъ бѣлковъ нельзя, такъ какъ химически бѣлокъ былъ опредѣлимъ еще въ разведеніяхъ нейтрализованнаго антигена Schmidt'a 1 : 1000 (см. добавленіе, таблица № 81), реакція же съ сывороткой не получалась и въ разведеніи 1 : 50.

Такой же отрицательный результатъ получился при дѣйствіи нативныхъ антисыворотокъ на мышечные экстракты, обработанные тоже по Schmidt'y съ послѣдующей нейтрализацией. И здѣсь наблюденіе продолжалось 1½ часа. Химическое опредѣленіе бѣлка давало еще указаніе на присутствіе его въ разведеніи 1 : 100, (см. табл. № 81), а реакція

1) Vincent. „Le diagnostic médico-legale du sang humain“. — Ann. d'hygiène et med. leg. 1904 № 1.

2) Л. В. Аксеновъ. „Экспериментальное изученіе различныхъ вліяній на теченіе и исходъ реакціи Uhlenhuth'a примѣнительно къ судебно-медицинскимъ случаямъ.“ Дисс. СПб 1913 г.

съ антисыворотками уже въ разведеніи 1 : 50 была отрицательна.

В. Дѣйствіе на 100° — бѣлокъ.

Изслѣдованіе антисыворотокъ на кипяченую сыворотку дало тоже отрицательный результатъ. Для этого опыта сыворотка обрабатывалась слѣдующимъ образомъ: разведеніе сыворотки бралось 1 : 50, этотъ растворъ наливался въ небольшую колбочку, которая помѣщалась въ кипящую водяную баню такъ, чтобы уровень раствора былъ на 5 см. ниже уровня воды въ банѣ, такимъ образомъ достигалось равномерное нагрѣваніе всей массы жидкости. Первые 3—5 минутъ клались на нагрѣваніе раствора до желаемой температуры, а затѣмъ нагрѣваніе продолжалось 30 минутъ. Такія предосторожности, какъ они указаны у Schmidt'a, соблюдались во всѣхъ случаяхъ нагрѣванія какого либо матерьяла. При нагрѣваніи же до температуры менѣе 100° еще соблюдались слѣдующія условія: чтобы получить желаемую температуру въ нагрѣваемомъ растворѣ, температура бани держалась на 1° выше желаемой, т. е. при нагрѣваніи раствора до 70° баня держалась на 71°, при чемъ колебанія допускались не болѣе $\pm 1^\circ$. Полученная послѣ ½ часового кипяченія сыворотка въ разведеніи 1 : 50 представлялась слегка опалесцирующей, поэтому она подвергалась фильтрованію черезъ двойной фильтръ и дѣлались изъ нея разведенія 1 : 100 и 1 : 500.

Оказалось, что послѣ 1½ часового наблюденія никакого помутнѣнія въ растворѣ сыворотки 1 : 50 не было. Изслѣдованіе же на бѣлокъ дало положительный результатъ. Такимъ образомъ и здѣсь отсутствіе преципитации надо объяснять такимъ измѣненіемъ отъ нагрѣванія бѣлковъ, что реакція ихъ съ нативными преципитинами становится невозможной.

Такіе же отрицательные результаты получились и при дѣйствіи антисыворотокъ на мышечный экстрактъ, нагрѣтый до 100° въ теченіи 30 минутъ.

Установивъ, что бѣлки, нагрѣтые до 100°, а также обработанные по Schmith'у, не могутъ преципитироваться нативными преципитинами, я кипятилъ въ теченіи 30 минутъ сыворотку въ 0,1% растворѣ соды, что давало возможность мнѣ брать болѣе крѣпкіе растворы сыворотки, а а именно: 1:25, безъ боязни получить свертываніе ея. Растворъ содовый былъ такого состава: *natrii bicarbonici* 1,0; *natrii chlorati* 8,5; *aquae destillatae* 1000 к. с. Дѣйствительно, послѣ 1/2 часового нагрѣванія въ кипящей банѣ растворъ оставался совершенно прозрачнымъ. Послѣ незначительнаго прибавленія для нейтрализаціи раствора соляной кислоты, при чемъ осадка не образовывалось, ставилась реакція преципитации съ сыворотками отъ кроликовъ №№ 1, 2, 4, 5 и 6. Реакція получалась отрицательная. Химически же бѣлокъ былъ опредѣлимъ. Значить, все же денатурированіе при этихъ условіяхъ было настолько сильное, что полное устраненіе свертыванія при кипяченіи бѣлка, а также болѣе крѣпкій растворъ его, не измѣнили отрицательнаго результата преципитации нативными преципитинами.

Г. Опредѣленіе термостабильности преципитируемыхъ веществъ бѣлка.

Желая выяснить, при какой же температурѣ нагрѣванія бѣлки теряютъ способность преципитироваться, были поставлены слѣдующіе опыты съ постепеннымъ нагрѣваніемъ разведенія сыворотки 1:100 съ физиологическимъ растворомъ до различныхъ температуръ въ теченіи 30 и 45 минутъ и съ послѣдующимъ испытаніемъ ихъ на преципитацию нативными преципитинами. Такимъ образомъ, были испытаны всѣ 5 антисыворотокъ, и всѣ онѣ дали вполне согласные результаты, которые можно представить въ видѣ таблицы № 16, гдѣ количество крестовъ указываетъ на силу реакціи. При этомъ надо замѣтить, что замѣтной разницы между нагрѣваніемъ въ теченіи 30 и 45 минутъ не наблюдалось.

Таблица № 16.

Развед. сыв-ки	Продол. нагрѣв.	т° нагрѣв.	Результ. реакціи съ нативн. антисыв.	Развед. сыв-ки	Продол. нагрѣв.	т° нагрѣв.	Результ. реакціи съ нативн. антисыв.
1:100	45 м.	65°	+++	1:100	45 м.	84°	+
"	"	70°	+++	"	"	85°	+
"	"	75°	++	"	"	86°	0
"	"	80°	+	"	"	87°	0
"	"	82°	+	"	"	88°	0

Отсюда видно, что при нагрѣваніи раствора сыворотки 1:100 въ теченіи 45 минутъ при температурѣ 85° сывороточные бѣлки сохраняютъ еще способность давать преципитатъ при дѣйствіи на нихъ нативныхъ преципитиновъ; при нагрѣваніи же до 86° эта способность бѣлковъ пропадаетъ, и реакція даетъ отрицательный результатъ даже черезъ 1 1/2 часа стоянія. Надо еще замѣтить, что чѣмъ выше нагрѣвается растворъ сыворотки, тѣмъ меньше образуется осадка и тѣмъ медленнѣе появляется онъ, такъ что при нагрѣваніи до 85° осадокъ появляется только черезъ 10—15 минутъ и очень незначительный, но еще ясно видный.

Такимъ образомъ, изъ этихъ опытовъ можно признать, что сывороточный бѣлокъ только при 45-ти минутномъ нагрѣваніи при 86° теряетъ способность реагировать съ нативными преципитинами.

Полученные результаты показываютъ, что при моихъ условіяхъ опыта, т. е. при разведеніи 1:100 и нагрѣваніи въ теченіи 45 минутъ, разрушеніе преципитируемыхъ веществъ сывороточнаго бѣлка происходитъ при 86°, т. е. болѣе согласуется съ данными Чистовича (80°), Eisenberg'a (78°) и др. и, наоборотъ, довольно рѣзко отличается отъ результатовъ Schütze, Nuttall, Fornet, Müller, Schmidt, Obermayer und Pick и др., которые для денатурированія бѣлка считаютъ необходимымъ температуру ки-

пѣнія и нѣкоторые даже въ теченіи продолжительнаго времени. Сравнивая эти результаты съ результатами, помѣщенными въ таблицѣ № 8, мы замѣчаемъ необычайное сходство, но только Fernet und Müller нашли, что при 86° бѣлокъ теряетъ способность вызывать образованіе антитѣлъ въ сывороткѣ животнаго, а въ моихъ опытахъ при 86° бѣлокъ терялъ способность преципитироваться нативными антисыворотками.

Такимъ образомъ изъ моихъ результатовъ можно сдѣлать выводъ, что отрицательная реакція нативныхъ преципитиновъ съ антигеномъ Schmidt'a зависитъ не отъ нагрѣванія сыворотки въ теченіи 45 минутъ при 70°, такъ какъ послѣ этого нагрѣванія получается еще достаточно рѣзкая реакція, а отъ какой-то другой причины.

Д. Стойкость преципитируемыхъ веществъ бѣлка къ щелочи.

Такъ какъ бѣлокъ при обработкѣ по Schmidt'y подвергается еще денатурированію щелочью, то мною изслѣдовано вліяніе одной только щелочи, въ условіяхъ обработки по Schmidt'y, на сывороточный бѣлокъ. Для этого я бралъ 15 к. с. сыворотки и разводилъ ее равнымъ количествомъ физиологическаго раствора, къ этому раствору прибавлялъ 2,5 к. с. нормальнаго раствора ѣдкаго натра и затѣмъ половину этого раствора оставлялъ стоять въ теченіи 15 мин. при комнатной температурѣ, другую половину подвергалъ нагрѣванію въ водяной банѣ при 70° въ теченіи тѣхъ же 15 минутъ. Другими словами, соблюдалась и пропорція при разведеніяхъ и продолжительность дѣйствія щелочи, какъ это дѣлаетъ Schmidt для полученія своего антигена, но только одна часть подвергалась дѣйствію щелочи при комнатной температурѣ, другая при 70°. Черезъ 15 минутъ эти растворы нейтрализовались нормальнымъ растворомъ соляной кислоты до слабо-щелочной реакціи, фильтровались и дѣлались разведенія, съ которыми ставилась реакція преци-

питаціи. Такой обработкѣ подвергались всѣ три кровяныя сыворотки: лошадиная, коровья и свиная, такъ что нативные преципитины изслѣдовались на свою сыворотку и на чужія. Наконецъ, ставился опытъ съ дѣйствіемъ сыворотки неиммунизированнаго кролика на сыворотки, подвергнутыя обработкѣ щелочью, для рѣшенія вопроса, не вызываютъ-ли денатурированныя ѣдкимъ натромъ сыворотки помутнѣнія со всякой, даже неспецифической, сывороткой; результатъ былъ отрицательный.

Изъ этого опыта видно, что обработка ѣдкимъ натромъ по Schmidt'y, но при комнатной температурѣ, денатурируетъ сыворотку не до полной потери преципитаціи и замѣчается только нѣкоторое ослабленіе преципитаціи такимъ образомъ обработанной сыворотки, выражающееся въ томъ, что преципитатъ получается въ меньшихъ разведеніяхъ. Точно также обработка щелочью не вызываетъ особыхъ измѣненій въ появленіи гетерологическихъ помутнѣній.

Т а б л и ц а № 17.

№№ кролик.	Антисыворотка	Сыв-ка обработ. ѣдкимъ натромъ — 15 мин. комн. t°											
		Лошадиная						Коровья					
		50	100	500	1000	5000	10000	50	100	500	1000	5000	10000
1	Лошад.	—	++	+	+	?	0	+	+	0	—	—	—
2	"	—	+	+	+	0	0	0	0	0	—	—	—
4	Коров.	+	+	0	—	—	—	—	+	+	+	?	0
5	Свиная	0	0	0	—	—	—	0	0	0	—	—	—
6	"	0	0	0	—	—	—	0	0	0	—	—	—

Эти результаты совершенно не сходятся съ результатами, полученными Schmidt'омъ, такъ какъ онъ при дѣйствіи нативнаго преципитина на обработанный щелочью на холоду бѣлокъ реакціи не получалъ. Возможно, что обработка его была совершенно другая; это не извѣстно, такъ какъ въ своей работѣ онъ говоритъ, что реакція была

отрицательна съ „nativem Serum in der Kälte mit NaOH behandelt“. Но сколько было прибавлено щелочи и сколько времени длилось дѣйствіе ея, онъ не говоритъ. Поставленные же мною опыты въ условіяхъ денатурированію по Schmidt'y, но при комнатной температурѣ, дали только уменьшеніе реакціи.

Совсѣмъ другіе результаты получаются, когда сыворотка обрабатывается щелочью при 70°. Ни одна изъ 5 антисыворотокъ, а также и нормальная кроличья сыворотка, не дали помутнѣнія даже въ разведеніи 1 : 50 этой денатурированной щелочью при 70° сыворотки. Такимъ образомъ въ то время, какъ опредѣленная обработка щелочью при комнатной температурѣ даетъ только незначительное пониженіе преципитируемыхъ свойствъ сывороточнаго бѣлка, такая же обработка при 70° полностью денатурируетъ бѣлокъ сыворотки, такъ что тотъ даже въ крѣпкихъ растворахъ не преципитируется больше нативными преципитинами.

Что же касается измѣненія бѣлка сыворотки при приготовленіи антигена по Schmidt'y, то, зная теперь отдѣльно дѣйствіе нагрѣванія и щелочи при этихъ условіяхъ, можно думать, что главную роль въ денатурированіи бѣлка играетъ щелочь при 70°, но, конечно, не остается безъ вліянія и столь продолжительное нагрѣваніе бѣлка передъ прибавленіемъ щелочи.

Е. Дѣйствіе на экстракты изъ органовъ.

Затѣмъ было испытано дѣйствіе преципитирующихъ сыворотокъ на экстракты изъ почекъ, печени и селезенки. Приготовленіе этихъ экстрактовъ было обычное: брались по возможности обезкровленные органы лошади, коровы и свиньи, пропускались черезъ котлетную машинку, прибавлялось равное по вѣсу количество фізіологическаго раствора, смѣшивалось и ставилось въ колбѣ въ Schüttelapparat на

сутки, затѣмъ процѣживалось черезъ бумажную ткань и черезъ фильтръ. Такъ какъ полной прозрачности экстракта такимъ путемъ добиться не возможно, и кромѣ того въ немъ легко выпадаетъ осадокъ, то передъ опытомъ экстракты подвергались фильтрованію съ кизельгуромъ по 2 способамъ. Или экстрактъ изъ органа взбалтывался съ небольшимъ количествомъ прокаленной инфузорной земли и затѣмъ фильтровался черезъ обыкновенный фильтръ, смоченный фізіологическимъ растворомъ (Салазкинъ, Курротъ, Thierfeld и др.). Или же я покрывалъ бумажный фильтръ на воронкѣ кашицеобразной массой изъ кизельгура и фізіологическаго раствора и черезъ него пропускалъ экстрактъ, пользуясь для ускоренія фильтрованія разрѣжающимъ насосомъ. Въ результатѣ получался совершенно прозрачный, болѣе или менѣе окрашенный экстрактъ, съ которымъ и ставилась реакція преципитации.

Результаты приведены въ табл. №№ 18, 19 и 20.

Первый выводъ, который можно сдѣлать при разсмотрѣніи этихъ таблицъ, тотъ, что всѣ 5 преципитирующихъ сыворотокъ, полученныхъ введеніемъ нормальныхъ сыворотокъ, реагируютъ, только въ различныхъ степеняхъ, со всѣми экстрактами. И тутъ же надо отмѣтить, что реакція специфичная, такъ какъ ни разу не было помутнѣнія съ экстрактами изъ органовъ другого вида животнаго.

Преципитация же съ гомолическими экстрактами далеко не достигаетъ титра антисыворотокъ, такъ какъ наибольшее разведеніе экстракта, съ которымъ получалась еще преципитация, было 1 : 1000; но значительно чаще преципитация не шла дальше 1 : 500 и даже 1 : 100. Рѣзче всего реакція получалась съ почечнымъ экстрактомъ, затѣмъ съ селезеночнымъ и слабѣе всего съ печеночнымъ. Что же касается отдѣльныхъ антисыворотокъ, то найти въ ихъ дѣйствіи на отдѣльные экстракты какую-либо согласованность довольно трудно: такъ сыворотки №№ 1 и 2 вообще обла-

Таблица № 18.

№№ кролик.	Антисыворотка	Натуральный экстракт из печени														
		Лошади					Коровы					Свиньи				
		50	100	500	1000	5000	50	100	500	1000	5000	50	100	500	1000	5000
1	Лошад.	+	+	0	0	0	0	0	—	—	—	0	0	—	—	—
2	"	+	+	?	0	0	0	0	—	—	—	0	0	—	—	—
4	Коров.	0	0	—	—	—	+	+	?	0	0	0	0	—	—	—
5	Свиная	0	0	—	—	—	0	0	—	—	—	+	+	0	0	0
6	"	0	0	—	—	—	0	0	—	—	—	+	+	?	0	0

Таблица № 19.

№№ кролик.	Антисыворотка	Натуральный экстракт из почки														
		Лошади					Коровы					Свиньи				
		50	100	500	1000	5000	50	100	500	1000	5000	50	100	500	1000	5000
1	Лошад.	++	+	+	?	0	0	0	—	—	—	0	0	—	—	—
2	"	++	+	+	+	0	0	0	—	—	—	0	0	—	—	—
4	Коров.	0	0	—	—	—	++	+	+	?	0	0	0	—	—	—
5	Свиная	0	0	—	—	—	0	0	—	—	—	+	+	?	0	0
6	"	0	0	—	—	—	0	0	—	—	—	+	+	0	0	0

Таблица № 20.

№№ кролик.	Антисыворотка	Натуральный экстракт из селезенки														
		Лошади					Коровы					Свиньи				
		50	100	500	1000	5000	50	100	500	1000	5000	50	100	500	1000	5000
1	Лошад.	++	+	+	0	0	0	0	—	—	—	0	0	—	—	—
2	"	++	+	+	?	0	0	0	—	—	—	0	0	—	—	—
4	Коров.	0	0	—	—	—	+	+	?	0	0	0	0	—	—	—
5	Свиная	0	0	—	—	—	0	0	—	—	—	+	+	0	0	0
6	"	0	0	—	—	—	0	0	—	—	—	+	+	+	?	0

дают довольно сильным преципитирующим действием на все экстракты; сыворотки же №№ 4 и 5 сильнее дей-

ствуют на почечный экстракт, но одинаково на печеночный и селезеночный, и, наконец, сыворотка № 6 сильнее всего реагирует с селезеночным экстрактом и слабее всего с почечным. С нормальной сывороткой кролика реакции не получалось.

Объяснить получение реакции только в крепких растворах экстрактов, а также отсутствие закономерности в этих реакциях, одним только недостаточным содержанием белка в экстрактах не возможно, тем более, что содержание белков во всех экстрактах, как это показали мои химические исследования, приблизительно одинаково, при чем часто еще химически белок определим в этих разведениях, где реакция преципитации дает уже отрицательный результат. (Сравн. таблицы №№ 18, 19, 20 и № 81). Очевидно, что объяснение всему этому, также как и вообще появлению реакции с экстрактами из органов, надо искать в существовании „общих преципитинов“.

Здесь необходимо подробнее рассмотреть литературу по этому вопросу.

Подобно тому, как целый ряд исследователей (Strube¹⁾, Kister und Wolff²⁾, Hamburger³⁾, Ide⁴⁾, Kratter⁵⁾, Таранухин⁶⁾, Uhlenhuth und Beumer⁷⁾, и др.), работавших над вопросом о „биологиче-

1) Strube. „Beitrag zum Nachweis von Blut und Eiweiss auf biologischem Wege“. — Deutsche med. Wochenschr. 1902, № 24.

2) Kister und Wolff. „Zur Anwendbarkeit des seradiagnost. Blutprüfungsverfahrens“. — Zeitschr. f. Hygiene 1902, № 41.

3) Hamburger. „Zur Differenzierung des Blutes (Eiweiss) biologisch verwandter Tierspezies“. — Deutsch. med. Wochenschr. 1905, № 6.

4) Ide. Bulletin de l'Académie royale de médecine de Belgique 1903.

5) Kratter. „Über den forensisch. Wert der biolog. Methode zur Unterscheidung von Tier und Menschenblut“. Wien. klin. Wochenschr. 1901.

6) Таранухин. „Къ вопросу о распознавании видовъ крови на основании сывороточной пробы“. Вѣстникъ Обществ. Гигіены. 1906. Январь.

7) Uhlenhuth und Beumer. см. выше.

ской" (Michaelis und Oppenheimer¹⁾) или „видовой“ специфичности преципитинной реакции (Obermayer und Pick²⁾), отвергъ существованіе абсолютной специфичности этой реакции; точно также большинство авторовъ, занимавшихся вопросомъ о „химической“ специфичности или объ „областной“ специфичности (regionäre Spezifität Grund'a³⁾) пришло къ такому выводу, что полной специфичности нѣтъ, и сыворотка, полученная отъ кролика, иммунизированнаго выдѣленнымъ чистымъ бѣлкомъ, всегда, правда, въ болѣе слабой степени, реагируетъ съ растворами другого химически чистаго бѣлка.

Надъ полученіемъ сыворотокъ, специфичныхъ для изолированныхъ химически чистыхъ бѣлковъ, работали Nolf⁴⁾, Rostoski⁵⁾, Landsteiner und Calvo⁶⁾, Linossier et Lemoine⁷⁾, Michaelis⁸⁾, Michaelis und Oppenheimer, Fuhrmann⁹⁾ и др. и всѣ они сходятся въ томъ, что полученные специфическія сыворотки образуютъ преципитатъ не съ однимъ только бѣлкомъ, служившимъ для иммунизациіи. Кромѣ того становились опыты для рѣшенія

1) Michaelis und Oppenheimer. „Ueber Immunität gegen Eiweisskörper“. Arch. für Anat. und Phys. 1902.

2) Obermayer und Pick. „Beiträge zur Kenntnis d. Präzipitinbildung“. Wien. klin. Wochenschr. 1904 № 10.

3) Grund. „Über organspezifische Präcipitine und ihre Bedeutung“. — Deutsch. Archiv für klin. Medizin 1906. Bd. 87.

4) Nolf. „Contribution à l'étude des sérums antihématiques“ — Annal. de l'Inst. Pasteur 1900, Bd. 14.

5) Rostoski. „Zur Kenntnis der Präcipitine“. Würzburg 1902.

6) Landsteiner und Calvo. „Zur Kenntnis der Reaktionen des normalen Pferdeserums“. Zentralbl. f. Bakter. 1902, Bd. 31, № 15.

7) Linossier et Lemoine. „Sur les substances précipitantes des albumines (précipitins contenus dans certains sérums spécifiques)“. Compt. rend. de la soc. de biol. 1902. T. LIV.

8) Michaelis. „Untersuchungen über Eiweisspräcipitine“. — Verhandl. d. Vereins f. inn. Med. 1901/1902. Zentr. f. Bakter. Bd. 32, № 6; Deutsche med. Woch. 1902, № 41; Berl. klin. Woch. 1902, № 21.

9) Fuhrmann. „Ueber Präcipitine und Lysine“, Hofmeisters Beitr. z. chem. Phys. und Pathol. 1903, Bd. 3.

вопроса, насколько можетъ быть специфична сыворотка по отношенію къ бѣлкамъ различныхъ органовъ одного и того же вида животныхъ („regionäre Spezifität“), такъ Artus und Vansteenberghe¹⁾ получали преципитинъ впрыскиваніемъ асцитической жидкости, который реагировалъ и съ кровяной сывороткой; Butza²⁾ однимъ преципитиномъ дѣйствовалъ и на кровяную сыворотку и на плевритическій экссудатъ; Schlossmann und Moro³⁾ и др. доказали преципитинной реакціей идентичность кровяной сыворотки и альбумина молока и т. д. Особенно же подробные опыты съ полученіемъ преципитирующихъ сыворотокъ при впрыскиваніи экстрактовъ изъ различныхъ органовъ поставили Grund и Forssner⁴⁾. И всѣ эти изслѣдователи пришли къ тѣмъ же результатамъ, какъ и работавшіе надъ полученіемъ антисыворотокъ отъ введенія чистыхъ бѣлковъ, что получающіяся преципитирующие сыворотки реагируютъ не только со своимъ бѣлкомъ, но и съ бѣлками изъ другихъ органовъ.

Особнякомъ стоятъ изслѣдованія Uhlenhuth'a⁵⁾ надъ бѣлкомъ хрусталика, которому удалось получить, вводя экстрактъ изъ хрусталика, вполне специфическую сыворотку, не реагирующую ни съ кровяной сывороткой, ни съ экстрактами изъ органовъ, ни съ бѣлкомъ стекловиднаго

1) Artus und Vansteenberghe. Compt. rend. de la soc. de biol. 1902, № 8. Refer. Zeitschr. f. Medizinalbeamte 1902, № 13.

2) Butza. „Un nouveau moyen pratique pour distinguer le sang de l'homme“. Compt. rend. de la soc. de biol. T. LIV, 1902. Refer. Zeitsch. f. Medizinalbeamte 1903, № 13.

3) Schlossmann und Moro. „Zur Kenntnis der Arteigenheit der verschiedenen Eiweisskörper in der Milch“. — Münch. med. Woch. 1903, № 14.

4) Forssner. „Ueber die Möglichkeit isolierte Eiweisskörper bezw. eiweisshaltige Flüssigkeiten, welche aus einem und demselben Organismus stammen, durch die Präcipitinreaktion zu differenzieren“. — Münch. med. Wochenschr. 1905, № 19.

5) Uhlenhuth. „Zur Lehre von der Unterscheidung verschiedener Eiweissarten mit Hilfe spezifischer Sera“. Festschrift für Robert Koch 11. Dezemb. 1903.

тѣла, но зато эта сыворотка давала реакцію съ экстрактами изъ хрусталика другихъ видовъ животныхъ.

Отсутствіе полной специфичности этихъ преципитирующихъ сыворотокъ объясняютъ тѣмъ, что впрыскиваніе какихъ-либо бѣлковыхъ тѣлъ вызываетъ въ организмѣ животного образованіе различныхъ преципитиновъ, изъ которыхъ одни строго специфичны, т. е. реагируютъ только съ вводимымъ животному бѣлкомъ, а остальные — общіе для другихъ бѣлковыхъ тѣлъ, которые и обуславливаютъ появленіе преципитации съ растворами бѣлковъ, неупотреблявшихся для иммунизации животныхъ. Чѣмъ больше въ организмѣ животного образуется специфичныхъ преципитиновъ, тѣмъ специфичнѣе получится иммунная сыворотка, и, наоборотъ, чѣмъ больше общихъ къ различнымъ бѣлкамъ преципитиновъ въ сывороткѣ, тѣмъ менѣе она специфична.

Однако, если примѣнять способъ элективнаго насыщенія, какъ это показали Ascoli¹⁾, Michaelis²⁾, Weichardt³⁾, Maragliano⁴⁾, Strube, Mertens⁵⁾, Grund, Forssner и др., то удастся получать сыворотки специфичныя для тѣхъ или другихъ бѣлковъ. Объ этомъ такъ говоритъ въ своей работѣ Forssner: „Ziemlich allgemein nimmt man an, dass dies darauf beruht, dass die einzelnen Eiweisskörper teils gemeinsame, teils spezifische Partialpräcipitine erzeugen“.

При элективномъ насыщеніи происходитъ связываніе общихъ преципитиновъ, благодаря чему иммунная сыворотка перестаетъ реаги-

1) Ascoli. „Zur Kenntnis der Präzipitinwirkung und der Eiweisskörper des Blutserums“. — München. medic. Wochenschr. 1902 № 34.

2) Michaelis. „Weitere Untersuchungen über Eiweisspräcipitin“. — Deutsch. med. Wochenschr. 1904 № 34.

3) Weichardt. „Ueber die Syncytiotoxine.“ — Hygien. Rundschau 1903.

4) Maragliano. Berlin. klin. Wochenschr. 1904 № 27.

5) Mertens. Deutsch. med. Wochenschr. 1904 № 6.

ровать съ тѣми бѣлками, общіе преципитины которыхъ были связаны.

Полное насыщеніе иммунной сыворотки къ чужому экстракту или чужому бѣлку не даетъ насыщенія по отношенію къ своему экстракту или своему бѣлку, такъ какъ преципитатъ получается, но немного слабѣе. Но если попробовать насыщать антисыворотку къ своему экстракту (сывороткѣ или бѣлку), то здѣсь насыщаются и специфичныя и всѣ общіе преципитины и реакціи ни со своими, ни съ чужими бѣлками уже болѣе не получается.

Заслуга Forssner'a заключается еще въ томъ, что онъ свои опыты поставилъ такъ, что исключалась всякая возможность приписывать образованіе и существованіе общихъ преципитиновъ нахожденію во всякомъ органѣ крови. Это было подтверждено и Grund'омъ.

Переходя теперь къ своимъ опытамъ преципитации экстрактовъ почки, печени и селезенки антисыворотками, полученными иммунизацией кроликовъ нормальными сыворотками, можно при помощи ученія объ общихъ преципитинахъ вполне ясно объяснить всѣ особенности этихъ реакцій.

Такъ какъ всегда общихъ преципитиновъ образуется въ сывороткѣ значительно меньше, чѣмъ специфичныхъ, то и преципитирующая сила сыворотки по отношенію къ экстрактамъ значительно слабѣе. Затѣмъ, въ виду того, что реакція съ растворами экстрактовъ изъ органовъ зависитъ не только отъ количества бѣлка въ растворахъ, а также отъ количества общихъ преципитиновъ, реагирующихъ съ этимъ экстрактомъ, въ антисывороткѣ, то этимъ и объясняется фактъ, когда разведенія экстрактовъ изъ органовъ, химически еще содержащія бѣлокъ, даютъ отрицательный результатъ при біологической реакціи. Наконецъ, способностью сыворотокъ вырабатывать различное количество общихъ преципитиновъ къ тѣмъ или другимъ экстрактамъ изъ органовъ и объясняется, что одна сыворотка сильнѣе

реагируетъ съ однимъ экстрактомъ, а другая — съ другимъ. Напримѣръ: сыворотки №№ 4 и 5 содержатъ больше общихъ преципитиновъ къ почечнымъ бѣлкамъ и меньше къ печеночнымъ и селезеночнымъ, а потому сильнѣе реагируютъ съ первымъ экстрактомъ; и, наоборотъ, сыворотка № 6, очевидно, содержитъ больше общихъ преципитиновъ къ селезеночнымъ экстрактамъ, а потому сильнѣе и реагируетъ съ нимъ, чѣмъ съ другими.

Ж. Дѣйствіе элективнаго насыщенія на сыворотки.

Для подтвержденія вышесказаннаго мною было поставлено нѣсколько опытовъ элективнаго насыщенія преципитирующихъ сыворотокъ по отношенію къ бѣлкамъ тѣхъ или иныхъ органовъ; результаты этихъ опытовъ вполне согласуются съ данными другихъ авторовъ и еще болѣе доказываютъ существованіе въ иммунныхъ сывороткахъ какъ специфичныхъ, такъ и общихъ преципитиновъ.

Сыворотка № 2 мною была насыщена въ различныхъ порціяхъ по отношенію ко всѣмъ 3-мъ экстрактамъ, сыворотка № 6 по отношенію къ почечному и печеночному экстрактамъ и сыворотка № 4 — къ селезеночному. Насыщеніе антисыворотокъ производилось слѣдующимъ образомъ: бралось по 3 к. с. преципитирующей сыворотки въ пробирку для центрифугированія и прибавлялось по 0,3 к. с. того или иного экстракта, но всегда экстракта изъ органовъ того же вида животныхъ; эта смѣсь оставлялась стоять приблизительно около 24 часовъ на холоду; иногда сразу послѣ прибавленія экстракта, иногда послѣ стоянія образуется помутнѣніе, которое и осѣдаетъ на дно. Черезъ 24 часа эта смѣсь въ этихъ же пробиркахъ подвергается центрифугированію, послѣ котораго прозрачная жидкость осторожно отсасывается въ другую пробирку, куда опять прибавляется 0,3 к. с. того же экстракта, и все опять оставляется на 24 часа на холоду; послѣ чего вторично отцентрифугирован-

ная и отсосанная прозрачная сыворотка испытывалась на кровяную сыворотку и на всѣ экстракты. Результаты испытанія преципитирующихъ сыворотокъ послѣ насыщенія тѣмъ или другимъ экстрактомъ представлены въ табл. № 21; здѣсь иммунныя сыворотки изслѣдовались только на гомологическіе экстракты изъ органовъ и на свою кровяную сыворотку.

Т а б л и ц а № 21.

№№ кролик.	Антисывор.	Чѣмъ насыщ. алась	Кол. антис.	Кол. экстр.	Экстрактъ изъ:									Кровян. сывор.				
					почки			печени			селезен.			100	500	1000	5000	10000
					25	50	100	25	50	100	25	50	100					
2	лош.	лош. почка	3,0	0,6	0	0	0	+	0	0	+	+	?	++	+	+	0	0
"	"	" печень	"	"	+	+	+	0	0	0	+	+	?	++	++	+	+	0
"	"	" селез.	"	"	+	0	0	?	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0
4	коров.	кор. селез.	"	"	+	+	0	?	0	0	0	0	0	+	+	0	0	0
6	свин.	свин. почка	"	"	?	0	0	+	?	0	+	0	0	+	+	+	0	0
"	"	" печень	"	"	+	?	0	0	0	0	+	0	0	+	+	+	0	0

Такимъ образомъ выходитъ, что при насыщеніи преципитирующихъ сыворотокъ прибавленіемъ 2 раза по 0,3 к. с. экстракта изъ того или другого органа получается сыворотка, не дающая больше реакціи преципитации съ этимъ экстрактомъ.

Согласно ученію объ общихъ и специфичныхъ преципитинахъ это явленіе надо объяснить тѣмъ, что всѣ бывшіе въ сывороткѣ общіе преципитины для даннаго экстракта оказались связанными, а потому эта сыворотка теряетъ способность реагировать съ даннымъ экстрактомъ; только сыворотка № 6, которая насыщалась экстрактомъ изъ свиной почки, давала еще съ этимъ экстрактомъ въ разведеніи 1 : 25 слѣды реакціи.

Вмѣстѣ съ полнымъ уничтоженіемъ реакціи преципитации съ экстрактомъ, которымъ насыщалась преципитиру-

*) 1 : 250 . . . +; 1 : 500 . . . 0.

щая сыворотка, замѣчается довольно значительное ослабленіе реакціи и съ другими экстрактами и съ кровяной сывороткой, однако никогда не бываетъ, чтобы здѣсь реакція также полностью исчезала. Особенно рѣзкое ослабленіе реакціи замѣчается при насыщеніи антисыворотокъ №№ 2 и 4 селезеночнымъ экстрактомъ, и именно при дѣйствіи на кровяную сыворотку. Возможно, что это объясняется большимъ содержаніемъ крови въ селезеночномъ экстрактѣ, такъ что насыщая этимъ экстрактомъ, тѣмъ самымъ насыщаемъ къ кровяной сывороткѣ; но надо сказать, что наиболѣе неясные результаты съ полученіемъ органопресипитирующихъ сыворотокъ, а также съ насыщеніемъ ихъ, получались у Grund'a и Forssner'a съ селезеночнымъ экстрактомъ.

Такое ослабленіе пресипитаціи съ другими экстрактами и сывороткой также объяснить можно, пользуясь ученіемъ объ общихъ пресипитинахъ.

Forssner такъ говоритъ въ своей статьѣ о полученныхъ имъ результатахъ: введеніе экстракта печени морскихъ свинокъ вызываетъ въ сывороткѣ иммунизируемыхъ кроликовъ выработку различныхъ пресипитиновъ; одни изъ нихъ реагируютъ какъ съ кровяной сывороткой, экстрактами почки и селезенки, такъ и съ экстрактомъ печени; другіе не реагируютъ съ кровяной сывороткой и экстрактомъ селезенки, а только съ экстрактами почки и печени; третьи были строго специфичны для печеночной ткани. Пресипитины, получающіеся введеніемъ экстракта почекъ, оказываются такого же характера: часть ихъ была общая для всѣхъ 4-хъ растворовъ, другая — общая для печеночной и почечной ткани, а третья — строго специфична для почечной ткани.

Отсюда ясно, что, связывая пресипитины къ какому-нибудь экстракту, мы тѣмъ самымъ связываемъ и часть пресипитиновъ къ другимъ экстрактамъ, т. е. тѣмъ самымъ ослабляемъ пресипитацію съ ними. Это признается всѣми авторами, работавшими надъ этимъ вопросомъ; и въ виду

ослабленія вообще пресипитирующей силы сыворотки при насыщеніи, Uhlenhuth такъ высказывается: „Wir sind der Ansicht, dass diese Methoden viel zu wenig exakt sind, um für die forensische Praxis in Betracht zu kommen; sie haben lediglich ein theoretisch-wissenschaftliches Interesse“.

И дѣйствительно, если мы сейчасъ еще далеки отъ примѣненія на практикѣ специфическихъ органопресипитирующихъ сыворотокъ, то все же надо признать, что разработка этого вопроса имѣетъ огромный интересъ какъ для ученія объ иммунитетѣ, такъ и для бѣлковой химіи и биологій вообще.

Что же касается до существованія во всякой пресипитирующей сывороткѣ общихъ пресипитиновъ, а вслѣдствіе этого полученіе пресипитаціи не только съ бѣлковымъ растворомъ, примѣнявшимся для иммунизации, но и съ другими бѣлковыми растворами того же вида животного, хотя и въ болѣе слабой степени, то, по моему мнѣнію, это имѣетъ большое значеніе для практики, такъ какъ даетъ возможность получать реакцію съ мясными продуктами, полученными изъ различныхъ органовъ животного.

Поставленные опыты съ дѣйствіемъ нативныхъ пресипитиновъ на экстракты изъ органовъ или денатурированные по способу Schmidt'a или нагрѣваніемъ до 100° съ содой и безъ нея въ теченіи 30 минутъ — всѣ дали отрицательные результаты, зависящіе, очевидно, отъ измѣненія бѣлковыхъ веществъ экстрактовъ.

Результаты всѣхъ изслѣдованій надъ реакціей пресипитаціи нативныхъ пресипитиновъ съ различными бѣлковыми растворами, какъ нативными, такъ и денатурированными, представлены въ видѣ слѣдующей таблицы.

Т а б л и ц а № 22.

Антисыворотка, полученная отъ введенія нативной сыворотки.

Растворы	Результатъ	Растворы	Результатъ	Растворы	Результатъ
Кровян. сывор.	++++	Мыш. экстр. 100° — 30'	0	Сыв-ка по Schm. комн. t°	+++
Нативн. мыш. экстрактъ	++	Сыв-ка + 0,1% соды 100° — 30'	0	Тоже - 70°	0
Сыворотка по Schmidt'y	0	Мыш. экстр. + 0,1% соды 100° — 30'	0	Экстр. печени	+
Мыш. экстр. по Schmidt'y	0	Сыв-ка — 70° — 45'	++	Экстр. почки	++
Сыв-ка 100° — 30'	0	Сыв-ка — 86° — 45'	0	Экстр. селез.	++

Въ этой таблицѣ 0 обозначаетъ отсутствіе реакціи; +-реакція въ разведеніяхъ ниже 1:500; ++ въ разведеніи 1:500 и выше, +++ въ разведеніи 1:1000 и выше, и ++++ 1:10000 и выше.

1. Реакція нативныхъ преципитирующихъ сыворотокъ съ неизмѣненнымъ бѣлкомъ подчиняется требованіямъ Uhlenhuth'a; но эти требованія не приложимы къ реакціямъ нативнаго преципитина съ нагрѣтыми бѣлками.
2. Большинство преципитирующихъ сыворотокъ специфичны только количественно.
3. Всѣ антисыворотки реагируютъ съ бѣлками другихъ органовъ (экстрактами органовъ), но въ болѣе слабой степени; примѣняя способъ элективнаго насыщенія по Weichardt'y, можно получать специфичныя для опредѣленнаго бѣлка сыворотки.
4. Нативный преципитинъ не реагируетъ съ бѣлками, подвергнутыми обработкѣ по Schmidt'y, а также нагрѣтыми до 100° съ содой и безъ нея, но реагируетъ при обработкѣ бѣлка щелочью при комнатной температурѣ.

5. Сыворотка при условіи нагрѣванія въ теченіи 45 мин. и при разведеніи 1:100 съ физиологическимъ растворомъ теряетъ способность преципитироваться нативнымъ преципитиномъ при 86°.

Глава 7.

Преципитины, полученные отъ введенія сыворотки, денатурированной по Schmidt'y.

По способу Schmidt'a для полученія согласно его результатамъ антисыворотокъ, дѣйствующихъ на нагрѣтый и обработанный щелочью бѣлокъ, мной было иммунизировано 10 кроликовъ (№№ 7-16), причемъ 2 иммунизировались свиной сывороткой и по 4 — коровьей и лошадиной сыворотками. Изъ 10 кроликовъ 8 дали достаточно высокій титръ, а 2 — слишкомъ низкій, несмотря на то, что иммунизация длилась одинаковое время.

Поэтому сыворотки этихъ 2-хъ кроликовъ (№№ 11 и 12), обрабатывавшихся коровьей сывороткой, для изслѣдованія не примѣнялись.

Матерьяломъ, служившимъ для иммунизации кроликовъ, была сыворотка, которая обрабатывалась точно по указаніямъ Schmidt'a.

Бралось равное количество по объему сыворотки и физиологическаго раствора повареной соли и смѣсь нагрѣвалась въ водяной банѣ при 70° въ теченіи 1/2 часа съ соблюденіемъ всѣхъ предосторожностей, при которыхъ сама нагрѣваемая смѣсь должна была имѣть эту температуру, т. е., какъ было уже указано, уровень смѣси держался на 5 ст. ниже уровня воды въ банѣ; t° банн держалась на 71°, съ колебаніемъ не больше одного градуса въ сторону плюса и минуса, и на нагрѣваніе смѣси до 70° добавлялось еще 3—5 минутъ. Послѣ 1/2 часового нагрѣванія смѣсь дѣлалась

густой и сѣраго цвѣта; затѣмъ сюда прибавлялось нормальнаго раствора натронной щелочи по такому расчету, что 10 к. с. ея прибавляется къ 120 к. с. смѣси, отъ чего жидкость при незначительномъ взбалтываніи дѣлалась опять легко подвижной и прозрачной. Эта смѣсь, уже съ натронной щелочью, опять подвергалась нагрѣванію при той же температурѣ въ теченіи 15 минутъ. Во время этого нагрѣванія замѣчается выдѣленіе амміака, что, по мнѣнію Schmidt'a, указываетъ на наступленіе молекулярныхъ измѣненій бѣлка. Послѣ охлажденія такимъ образомъ обработанной сыворотки я примѣнялъ ее, вводя по 20 к. с. заразъ внутрибрюшинно.

Schmidt предлагаетъ или нейтрализовать эту щелочную жидкость, прибавляя сюда 7—8 к. с. нормальнаго раствора соляной кислоты, или же вводить безъ нейтрализаціи, такъ какъ вреда отъ такой щелочной жидкости для животныхъ онъ не видѣлъ. Я также долженъ согласиться, что введеніе щелочной жидкости не вызываетъ никакихъ болѣзненныхъ явленій у кроликовъ при жизни, а также и не вызываетъ измѣненій въ брюшинѣ, въ чемъ я могъ убѣдиться, подвергая всѣхъ кроликовъ послѣ обезкровливанія вскрытію.

Поэтому я при своихъ опытахъ всегда вводилъ жидкость-антигенъ по Schmidt'у безъ нейтрализаціи. И самъ Schmidt рекомендуетъ вводить щелочную жидкость безъ нейтрализаціи, видя преимущество въ томъ, что щелочная жидкость, какъ совершенно прозрачная, можетъ вводиться даже внутривенно, тогда какъ при нейтрализаціи соляной кислотой выпадаетъ незначительный осадокъ бѣлка, который, конечно, мѣшаетъ инъекціямъ, но который необходимо впрыскивать съ жидкостью („mit dem entstandenen Niederschlag sofort eingespritzt“). Мною было замѣчено, что не только при нейтрализаціи выпадаетъ осадокъ, но и безъ нея въ щелочной жидкости при полномъ охлажденіи выпадаетъ очень мелкій, незначительный, бѣловатаго цвѣта осадокъ, который легко проходитъ даже черезъ самую тонкую иглу шприца.

Этотъ антигенъ приготовлялся мной каждый разъ передъ самымъ впрыскиваніемъ или передъ постановкой опыта преципитациі съ нимъ и примѣнялся сразу послѣ охлажденія, что дѣлалось мной для полученія совершенно одинаковыхъ условій, такъ какъ при болѣе долгомъ стояніи бѣлковой жидкости съ натронной щелочью возможны дальнѣйшія измѣненія бѣлковъ подъ вліяніемъ этой щелочи, какъ это было установлено Schmidt'омъ въ работѣ: „Einige Versuche über die Geschwindigkeit der Inaktivierung (Denaturierung) der präcipitablen Substanz durch Alkalien“. Каждый кроликъ получалъ отъ 10 до 11 впрыскиваній, причемъ 8 кроликовъ получали эти впрыскиванія черезъ 2 дня въ 3-ій, а 2 — черезъ 4 дня въ 5-ый. Переносили кролики, несмотря на то, что жидкость была щелочная и вводилась по 20 к. с. черезъ 2 дня въ 3-ій, иммунизацию также легко, какъ и иммунизацию нормальными сыворотками.

Schmidt рекомендуетъ дѣлать каждому кролику 5—10 впрыскиваній, потому что вообще, по его мнѣнію, иммунитетъ къ нагрѣтымъ бѣлкамъ получается медленно, а при полученіи Hitze-Alkali-преципитина онъ замѣтилъ, что послѣ первыхъ 3—5 впрыскиваній сыворотка реагируетъ почти только съ нагрѣтой сывороткой и только послѣ дальнѣйшей иммунизациі появляется реакція и съ обработаннымъ щелочью бѣлкомъ. Однако мной это явленіе не было подтверждено, такъ какъ повторныя взятія крови изъ уха кролика показали, что какъ въ началѣ иммунизациі, такъ и въ концѣ ея сыворотка преципитируетъ антигенъ, но только по мѣрѣ удлиненія срока иммунизациі возрастаетъ преципитирующая сила сыворотки, не измѣняясь качественно.

А. Дѣйствіе на бѣлки денатурированные по Schmidt'у.

Определеніе титра антисыворотокъ по Schmidt'у производилось также по способу Uhlenhuth'a und Beumer'a

на свой антигенъ, при этомъ сразу послѣ обработки сыворотки щелочью она нейтрализовалась до слабо-щелочной реакціи осторожнымъ прибавленіемъ нормального раствора соляной кислоты. Образующійся при нейтрализаціи хлопьевидный осадокъ отфильтровывался, послѣ чего дѣлались дальнѣйшія разведенія съ физиологическимъ растворомъ.

Необходимо обратить вниманіе на то, что при нейтрализаціи надо соблюдать осторожность, доводя реакцію до слабощелочной и прекращая нейтрализацію, какъ только появится первый незначительный осадокъ. Бояться, что реакція будетъ еще слишкомъ щелочная, нечего, такъ какъ при дальнѣйшемъ разведеніи физиологическимъ растворомъ она всегда будетъ нейтральная. Между тѣмъ если нейтрализовать соляной кислотой до полной нейтральной реакціи, то выпадаетъ очень обильный осадокъ бѣлка, растворъ становится очень бѣднымъ бѣлкомъ, а это рѣзко сказывается на опредѣленіи титра, какъ было мною уже разъ замѣчено. Поэтому я всегда прекращалъ нейтрализацію при выпаденіи самаго незначительнаго осадка.

Титры всѣхъ 10 антисыворотокъ представлены въ таблицѣ № 23, въ которой указана и специфичность антисыворотокъ.

Такимъ образомъ изъ 10 сыворотокъ, полученныхъ иммунизацией кроликовъ по способу Schmidt'a, 2 имѣли титръ по отношенію къ своему антигену 1:15000, 6 — 1:10000, 1 — 1:1000 и 1 — 1:500. Въ виду незначительнаго титра двухъ послѣднихъ сыворотокъ дальнѣйшія изслѣдованія съ ними не производились.

Вообще же надо сказать, что титръ во всѣхъ сывороткахъ былъ средней величины, что, вѣроятно, объясняется вообще большей трудностью полученія высокихъ по титру антисыворотокъ къ нагрѣтому бѣлку, какъ на это указывалъ и Schmidt.

Къ сожалѣнію самъ Schmidt въ своихъ работахъ съ

Таблица № 23.

№ кролик.	Антисыворотка	Антигенъ по Schmidt'у изъ сыворотки																				
		Лошади							Коровы							Свиньи						
		100	500	1000	5000	10000	15000	20000	100	500	1000	5000	10000	15000	20000	100	500	1000	5000	10000	15000	20000
7	Лошад.	++	++	+	+	0	0	0	+	0	0	0	—	—	—	+	+	0	0	—	—	—
8	"	++	++	+	+	+	+	0	+	+	+	0	—	—	—	+	+	0	0	—	—	—
9	"	++	+	+	+	+	0	0	+	+	+	0	—	—	—	+	+	+	0	—	—	—
10	"	++	+	+	+	+	0	0	+	+	0	0	—	—	—	+	+	0	0	—	—	—
11	Коров.	+	0	0	0	+	—	—	+	+	+	0	0	0	0	+	+	0	0	—	—	—
12	"	+	0	0	0	—	—	—	+	+	0	0	0	0	0	+	0	0	0	—	—	—
13	"	+	+	0	0	—	—	—	++	++	+	+	+	0	0	+	+	+	0	—	—	—
14	"	+	+	0	0	—	—	—	++	++	+	+	+	0	0	+	+	+	0	—	—	—
15	Свинья	+	+	0	0	—	—	—	+	+	0	0	—	—	—	++	+	+	+	+	+	0
16	"	+	+	0	0	—	—	—	+	+	0	0	—	—	—	+	+	+	+	+	0	0

преципитинной реакціей нагрѣтыхъ бѣлковъ не указываетъ точно, какого титра сыворотки ему удавалось получать какъ при введеніи нагрѣтаго бѣлка, такъ и нагрѣтаго съ послѣдующей обработкой щелочью. Такъ, не указывая титра, Schmidt только говоритъ: „ergab nach 5—10 Injektionen brauchbare Sera“. Поэтому нельзя сказать, удавалось-ли Schmidt'у получать болѣе сильныя антисыворотки или нѣтъ.

Относительно специфичности своихъ антисыворотокъ Schmidt тоже говоритъ довольно неясно: „Besondere Versuche ergaben, dass die Reaktionen des Hitze-Alkali-Präcipitins in gleicher Weise artspezifisch sind, wie die des Nativ-Präcipitins“. А въ другомъ мѣстѣ такъ: „Artfremdes natives und erhitztes Serum wurde, wie die vielen Kontrollen ergaben, durch das 70°-Präcipitin nicht verändert; die Reaktionen sind somit — ebenso wie die des Nativ-Präcipitins — spezifisch“.

Изъ этихъ цитатъ, видно, что цифровыхъ данныхъ о специфичности Schmidt не даетъ, а потому трудно понять до какой степени специфичны полученные имъ сыворотки, такъ какъ и сравненіе его съ нативными сыворотками не рѣшаетъ вопроса въ виду отсутствія и здѣсь какого-либо

постоянства специфичности, а тѣмъ болѣе абсолютной специфичности. Между тѣмъ изъ этихъ фразъ можно даже вывести мнѣніе о полной специфичности этихъ антисыворотокъ, такъ какъ, не указывая разведенія гетерологическихъ сыворотокъ, можно думать, что нѣтъ реакции и съ крѣпкими растворами ихъ.

Согласиться съ этимъ на основаніи своихъ опытовъ я никакъ не могу, такъ какъ если сравнить специфичность полученныхъ мной нативныхъ антисыворотокъ со специфичностью Nitze-Alkali-преципитина, то ясно видно, что послѣдній уступаетъ нативному преципитину. Дѣйствительно, большинство антисыворотокъ Schmidt'a реагировало еще съ разведеніями 1:500 чужихъ сыворотокъ, а нѣкоторыя и при разведеніи 1:1000, тогда какъ мои нативныя антисыворотки давали реакцію въ среднемъ въ разведеніи 1:50, и только одна (сывор. № 1) — 1:500. Такимъ образомъ, я не могу сравнивать специфичность антисыворотокъ по Schmidt'y со специфичностью нативныхъ антисыворотокъ.

Также довольно рѣзко отличается теченіе самой реакции и образованіе преципитата при дѣйствіи сыворотокъ Schmidt'a и нативныхъ преципитиновъ. Такъ, при дѣйствіи послѣднихъ образованіе помутнѣнія начинается, особенно въ болѣе крѣпкихъ растворахъ, сразу послѣ приливанія преципитиногена къ сывороткѣ и можно считать, что 20 минутъ вполне достаточно для наблюденія за ходомъ реакции, какъ этого требовалъ Uhlenhuth, причемъ вслѣдъ за помутнѣніемъ наступаетъ образованіе хлопьевъ, а въ результатъ обильный осадокъ на днѣ пробирокъ. Не то мы видимъ при испытаніи антисыворотокъ Schmidt'a на свой антигенъ; здѣсь помутнѣніе даже въ разведеніяхъ 1:100 и 1:500 начинается появляться только черезъ 5—10 минутъ и въ теченіи 1 часа можно видѣть появленіе преципитата въ болѣе слабыхъ

растворахъ антигена; въ особенности же такое медленное появленіе преципитата наблюдается въ реакціяхъ съ гетерологическими растворами. Дальнѣйшее же теченіе реакціи обычно, т. е. вслѣдъ за появленіемъ помутнѣнія идетъ образованіе хлопьевъ и осѣданіе ихъ на дно, а вышестоящая жидкость просвѣтляется. Преципитатъ никогда не бываетъ здѣсь такимъ обильнымъ, какъ при нативномъ преципитинѣ.

Такимъ образомъ замѣченное Weidanz'омъ, Borchmann'омъ, Uhlenhuth'омъ, Wedemann'омъ, Schmidt'омъ и др., явленіе замедленнаго образованія осадка при дѣйствіи нативныхъ преципитирующихъ сыворотокъ на нагрѣтые бѣлки наблюдается и въ моихъ опытахъ при дѣйствіи Nitze-Alkali-преципитина на свой антигенъ. Даже относительно теченія реакціи нативныхъ преципитиновъ съ нативнымъ бѣлкомъ не все авторы соглашаются съ Uhlenhuth'омъ (Таранухинъ, Fiehe, Müller und Fernet и др.); такъ напримѣръ, пр.-доц. Таранухинъ¹⁾ высказывается о требованіяхъ Uhlenhuth'a слѣдующимъ образомъ: „Такія строгія требованія можно предъявлять только при работѣ съ величинами постоянными“. А ни сыворотка, ни растворъ крови не постоянны. . . „Время реакціи приходится поэтому, сообразуясь чаще всего съ качествомъ изслѣдуемаго объекта, измѣнять и пользоваться Уленгутовскимъ росписаніемъ только какъ руководящей схемой. Для начала реакціи приходилось отводить до 10—20 минутъ, для послѣдующаго усиленія мути до $\frac{1}{2}$ —1 часу и для конца реакціи (выпаденія осадка) отъ 1—2 часовъ“. . .

Поэтому я считаю необходимымъ въ теченіи 1 часа наблюдать за ходомъ реакціи и только по истеченіи этого времени дѣлать тѣ или другіе выводы. У Schmidt'a опять же мы не нашли указаній, какъ протекаетъ у него эта реакція.

1) Таранухинъ. „Примѣненіе сывороточной пробы Уленгута въ Россіи съ практической цѣлью судебно-медицинской экспертизы“. Вѣстникъ Обществ. Гигіены и т. д. Февраль 1911 г.

Значить, при изслѣдованіи антисыворотокъ, полученныхъ по способу Schmidt'a, на свой антигенъ оказалось, что антисыворотки обладаютъ достаточно высокимъ титромъ; специфичность ихъ менѣе рѣзко выражена; образование осадка затягивается и самый осадокъ получается менѣе обильный, при чемъ выше-стоящая жидкость просвѣтляется.

Кромѣ того при постановкѣ этого опыта каждая иммунная сыворотка переслаивалась съ физиологическимъ растворомъ поваренной соли и, наконецъ, всѣ 3 антигена: лошадиный, коровій и свиной, въ разведеніи 1 : 100 испытывались мной на нормальную кроличью сыворотку. Во всѣхъ случаяхъ результатъ былъ совершенно отрицательный.

Изслѣдование преципитирующихъ сыворотокъ Schmidt'a на мышечные экстракты, обработанные также, какъ и сыворотки, нагрѣваніемъ и щелочью по Schmidt'y, дало слѣдующіе результаты:

Таблица № 24.

№№ кроликовъ	Антисыво- ротка	Экстракты изъ мышцъ обработ. по Schmidt'y											
		Лошади				Коровы				Свиньи			
		20	60	100	200	20	60	100	200	20	60	100	200
7	Лошад.	+	+	0	0	0	0	—	—	0	0	—	—
8	"	+	+	0	0	0	0	—	—	0	0	—	—
9	"	+	+	0	0	0	0	—	—	?	0	—	—
10	"	+	+	0	0	?	0	—	—	0	0	—	—
13	Коров.	0	0	—	—	+	+	+	0	0	0	—	—
14	"	0	0	—	—	+	+	+	0	0	0	—	—
15	Свиная	0	0	—	—	0	0	—	—	+	+	0	0
16	"	0	0	—	—	0	0	—	—	+	+	0	0

При этихъ изслѣдованіяхъ брались разведенія мышечныхъ экстрактовъ 1 : 20, 1 : 60, 1 : 100 и 1 : 200, такъ какъ въ болѣе сильныхъ разведеніяхъ преципитация уже не получалась.

Объясненіе этому надо искать также, какъ и при дѣйствіи нативныхъ преципитиновъ на натуральные мышечные экстракты, въ черзчуръ незначительномъ содержаніи бѣлковъ въ экстрактѣ, а также въ выработкѣ слишкомъ незначительнаго количества общихъ преципитиновъ; при чемъ въ экстрактахъ, обработанныхъ по Schmidt'y, бѣлковъ еще меньше, чѣмъ въ неизмѣненныхъ мышечныхъ экстрактахъ, такъ какъ часть бѣлка теряется при нейтрализаціи послѣ обработки щелочью, что, дѣйствительно, и согласуется съ данными химическаго изслѣдованія бѣлка. Если сравнить по таблицамъ №№ 81 и 82 содержаніе бѣлковъ въ неизмѣненныхъ и денатурированныхъ по Schmidt'y мышечныхъ экстрактахъ, то въ первыхъ бѣлка по Эсбаху 7,9—9,9‰ и онъ опредѣлимъ въ разведеніяхъ 1 : 500, а въ денатурированныхъ по Schmidt'y — по Эсбаху 0,75—1,0‰ и опредѣляется въ разведеніи 1 : 100.

Изъ 8 антисыворотокъ 2 дали преципитацию со своимъ экстрактомъ въ разведеніи 1 : 100, а остальные только въ разведеніи 1 : 60. Преципитатъ въ этихъ опытахъ былъ еще болѣе незначителенъ и появленіе его тоже замедлялось; въ общемъ и здѣсь теченіе реакціи было обычное для нагрѣтыхъ бѣлковъ. Что же касается специфичности реакціи, то она была почти полная, такъ какъ только 2 сыворотки (№№ 9 и 10) дали съ чужими экстрактами въ разведеніи 1 : 20 слѣды реакціи. Это объясняется тоже незначительнымъ содержаніемъ бѣлковъ въ обработанныхъ по Schmidt'y экстрактахъ, такъ что здѣсь реакція съ чужими экстрактами не получается на томъ же основаніи, на какомъ она не получается въ большихъ разведеніяхъ антигена изъ чужой сыворотки.

Такимъ образомъ надо думать, что главное значеніе въ специфичности реакціи съ экстрактами по сравненію съ реакціей съ сыворотками играетъ недостаточное содержаніе бѣлковъ въ первыхъ.

Б. Дѣйствіе на нативные бѣлки.

Далѣе преципитирующія сыворотки были изслѣдованы на разведенія нормальной кровяной сыворотки лошади, коровы и свиньи.

Изъ 8 антисыворотокъ 3 дали преципитацию въ разведеніяхъ своихъ сыворотокъ 1:1000, 2 — 1:5000 и 3 — 1:10000. Если будемъ сравнивать титръ каждой сыворотки съ ихъ способностью преципитировать нативную кровяную сыворотку (табл. №№ 23 и 25), то увидимъ, что кромѣ сыворотокъ №№ 9 и 10, которыя въ обоихъ случаяхъ даютъ преципитацию при разведеніи 1:10000, всѣ другія сыворотки слабѣе реагируютъ съ нативной кровяной сывороткой, чѣмъ со своими антигенами; однако разница здѣсь незначительная: такъ, реагируя съ антигеномъ въ разведеніяхъ 1:10000 и 1:15000, съ нативной сывороткой онѣ реагируютъ въ разведеніи 1:1000 и 1:5000.

Относительно теченія реакціи надо сказать, что появляются помутненія въ общемъ скорѣе, чѣмъ при дѣйствіи на антигенъ, но по сравненію съ реакціей нативнаго преципитина на нативный бѣлокъ наступленіе реакціи медлен-

Таблица № 25.

№№ кролик.	Антисыворотка	Нативная кровяная сыворотка																	
		Лошади						Коровы						Свиньи					
		100	500	1000	5000	10000	15000	20000	100	500	1000	5000	10000	15000	20000	100	500	1000	5000
7	Лошад.	+	+	+	0	0	0	0	0	0	0	—	—	—	—	0	0	0	—
8	"	+	+	+	0	0	0	0	0	0	0	—	—	—	—	0	0	0	—
9	"	+	+	+	+	+	0	0	0	0	0	—	—	—	—	0	0	0	—
10	"	+	+	+	+	+	0	0	0	0	0	—	—	—	—	0	0	0	—
13	Коров.	0	0	0	—	—	—	—	+	+	+	+	0	0	0	0	0	0	—
14	"	+	0	0	—	—	—	—	+	+	+	+	0	0	0	+	0	0	—
15	Свинья	0	0	0	—	—	—	—	0	0	0	—	—	—	—	++	+	+	+
16	"	+	0	0	—	—	—	—	?	0	0	—	—	—	—	++	+	+	0

нѣе; а преципитатъ получается такой же, какъ и при дѣйствіи на антигенъ.

Здѣсь можетъ быть рѣчь только о приблизительной величинѣ осадковъ, такъ какъ измѣреній преципитатовъ по вѣсу или по объему не производилось.

Эти результаты стоятъ въ полномъ противорѣчьи съ результатами Schmidt'a, который, изслѣдуя полученный имъ Hitze-Alkali-преципитинъ на нативную сыворотку, такъ опредѣляетъ реакціонную способность: 0 (nur äusserst geringe Trübung); въ другихъ мѣстахъ онъ прямо указываетъ, что характерная черта этого преципитина та, что онъ не реагируетъ съ нативной сывороткой, а на стр. 176 этой же работы Schmidt даетъ таблицу, гдѣ показываетъ, какъ постепенно увеличивается преципитирующая сила его антисыворотки при обработкѣ преципитиногена щелочью, при чемъ и здѣсь этотъ преципитинъ не даетъ никакой реакціи съ нативной сывороткой.

Чѣмъ объясняется такая разница между результатами Schmith'a и нашими — не извѣстно, и здѣсь опять-таки приходится пожалѣть, что Schmidt не приводитъ въ своей работѣ ни одного протокола изслѣдованія его антисыворотокъ, давая только сводку ихъ и то безъ цифровыхъ данныхъ; такъ напримѣръ: не извѣстно даже сколько сыворотокъ, содержащихъ Hitze-Alkali-преципитинъ, было имъ изслѣдовано и какъ производились эти изслѣдованія.

Нужно еще сказать, что полученные мною данныя не стоятъ особнякомъ въ литературѣ по изслѣдованію сыворотокъ кроликовъ, иммунизированныхъ денатурированными бѣлками. Schütze, Piorkowski и въ послѣднее время Курротъ, работая съ мышечнымъ препаратомъ Schütze, получали антисыворотки, которыя реагировали съ нативными бѣлками, съ чѣмъ также не могъ согласиться Schmidt. Затѣмъ Loeffler полученнымъ отъ впрыскиванія 150° сухого бѣлка

преципитиномъ вызывалъ осадокъ и въ растворѣ нативныхъ бѣлковъ. Obermayer und Pick введеніемъ вареной сыворотки, варенаго яичнаго бѣлка и варенаго кристаллическаго эдестина получали сыворотки, которыя реагировали какъ съ растворами своихъ антигеновъ, такъ и нативныхъ бѣлковъ. Наконецъ, Hitze-Präcipitin Schmidt'a также реагировалъ съ нативными сыворотками, и только по отношенію къ иммуннымъ сывороткамъ, полученнымъ по его способу и по способу Schütze, Schmidt отрицаетъ способность къ реакціи съ нативными сыворотками. Мои же опыты, какъ было упомянуто, указываютъ, что таковая способность у этихъ антисыворотокъ существуетъ.

Если разсматривать специфичность этихъ опытовъ, то видно, что только двѣ антисыворотки (№№ 14 и 16) даютъ съ гетерологическими растворами преципитацию въ разведеніи 1:100; остальные же 6 даютъ полную специфичность (самое меньшее разведеніе было 1:100). Такая специфичность тѣмъ болѣе интересна, что, если сравнить ее со специфичностью тѣхъ же сыворотокъ при дѣйствіи на антигены, то разница получается огромная: тамъ реакція съ гетерологическимъ антигеномъ получается еще въ разведеніи 1:500 и даже 1:1000; здѣсь же почти полная специфичность.

Точное объясненіе этому факту сейчасъ трудно найти, но если вспомнить вышеприведенное ученіе Obermayer'a und Pick'a, то въ этомъ ученіи можно найти болѣе или менѣе достовѣрное объясненіе такой разницѣ между специфичностью къ антигену и къ нативнымъ бѣлкамъ. На основаніи наблюдений, сдѣланныхъ Obermayer'омъ und Pick'омъ, способность сыворотокъ, полученныхъ по способу Schmidt'a, реагировать въ большихъ разведеніяхъ — 1:500 и 1:1000 съ антигеномъ изъ чужой сыворотки, нужно объяснить тѣмъ, что эти сыворотки кромѣ „специфичности происхожденія“ обладаютъ „специфичностью состоянія“ (Zu-

stands-Spezifität), благодаря которой онѣ реагируютъ и съ денатурированными бѣлками чужихъ сыворотокъ, находящимися въ тѣхъ же „фазахъ состоянія“. Преимущество же, которое онѣ выказываютъ по отношенію къ антигену своей сыворотки, надо объяснить „специфичностью происхожденія“.

Что же касается почти полной специфичности при реакціи съ нормальной кровяной сывороткой, то это основывается на томъ, что здѣсь дѣйствуетъ только „специфичность происхожденія“, и такъ какъ Zustands-Spezifität здѣсь проявляться не можетъ, то и получается такая разница при реакціи на антигенъ и на нативную сыворотку. У Obermayer'a и Pick'a также при иммунизации лошадиной пепсинной альбумозой антисыворотки реагируютъ только съ денатурированными бѣлками коровьей сыворотки, но не съ нативными.

И наоборотъ, при дѣйствіи на вареную сыворотку, гдѣ опять проявляется дѣйствіе „Zustands-Spezifität“, сыворотки реагируютъ съ чужими бѣлками въ большихъ разведеніяхъ, какъ это будетъ видно дальше. Наконецъ, по отношенію къ реакціи этихъ антисыворотокъ съ мышечнымъ экстрактомъ, обработаннымъ по Schmidt'у, большую специфичность почти всѣхъ антисыворотокъ въ этой реакціи надо объяснить слишкомъ незначительнымъ количествомъ бѣлка, отчего Zustands-Spezifität не можетъ проявиться.

Насколько правильно такое объясненіе и подтвердится ли оно въ будущемъ, сказать сейчасъ трудно; но надо признать, что въ настоящее время это одно изъ наиболѣе подходящихъ объясненій.

Затѣмъ были поставлены опыты съ преципитацией этими антисыворотками натурального мышечнаго экстракта.

Вслѣдствіе небольшого содержанія бѣлковъ и въ натуральныхъ экстрактахъ антисыворотки реагировали только при разведеніи 1:250 и 1:500, специфичность при этихъ опытахъ оказалась полной, такъ что и тѣ 2 антисыворотки (№№ 14 и 16), которыя при реакціи съ натуральной кро-

вяной сывороткой давали еще преципитацию съ чужой сывороткой, въ этихъ опытахъ не давали реакціи, очевидно, вследствие малаго содержанія бѣлковъ, съ гетерологическими бѣлками. Преципитатъ былъ скудный, появлялся черезъ 5—10 минутъ.

Во всякомъ случаѣ изъ этихъ опытовъ видно, что сыворотки кроликовъ, иммунизированныхъ бѣлками, денатурированными нагрѣваніемъ и щелочью по способу Schmidt'a,

Таблица № 26.

№№ кролик.	Антисыворотка	Нативный мышечный экстрактъ											
		Лошади				Коровы				Свиньи			
		100	250	500	1000	100	250	500	1000	100	250	500	1000
7	Лошад.	+	+	0	0	0	—	—	—	0	—	—	—
8	"	+	+	0	0	0	—	—	—	0	—	—	—
9	"	+	+	+	0	0	—	—	—	0	—	—	—
10	"	+	+	+	0	0	—	—	—	0	—	—	—
13	Коров.	0	—	—	—	+	+	+	0	0	—	—	—
14	"	0	—	—	—	+	+	?	0	0	—	—	—
15	Свинья	0	—	—	—	0	—	—	—	+	+	?	0
16	"	0	—	—	—	0	—	—	—	+	+	0	0

реагируютъ не только съ натуральными сыворотками, но и съ неизмѣненнымъ мышечнымъ экстрактомъ.

В. Дѣйствіе на бѣлки, обработанные щелочью при комнатной температурѣ.

Подобно тому, какъ нативные преципитины, полученные иммунизированиѣмъ кроликовъ нормальной кровяной сывороткой, испытывались на сыворотку, которая при комнатной температурѣ обрабатывалась ѣдкимъ натромъ по Schmidt'у въ теченіи 15 минутъ, а затѣмъ нейтрализовалась нормальнымъ растворомъ соляной кислоты, точно также и Hitze-Alkali-преципитинъ изслѣдовался на такимъ образомъ обработанную сыворотку. Тѣмъ болѣе было интересно произ-

вести эти изслѣдованія, что въ работѣ Schmidt'a они имѣются, а потому необходимо было сравнить его результаты съ моими.

Таблица № 27.

№№ кролик.	Антисыворотка	Сыворотка + NaOH — 15 мин. при комнатной t°														
		Лошади						Коровы					Свиньи			
		50	100	500	1000	5000	10000	50	100	500	1000	5000	10000	50	100	500
7	Лошад.	+	+	+	+	0	0	+	0	0	—	—	—	+	0	0
8	"	+	+	+	+	+	0	+	+	?	—	—	—	+	0	0
9	"	++	++	++	++	+	0	++	+	0	—	—	—	++	++	++
10	"	+	+	+	+	+	0	+	+	?	—	—	—	++	+	0
13	Коровы	+	+	0	—	—	—	+	+	+	+	0	0	+	+	0
14	"	+	+	0	—	—	—	+	+	+	+	0	0	+	+	0
15	Свинья	+	0	0	—	—	—	+	0	0	—	—	—	++	++	+
16	"	+	0	0	—	—	—	+	+	0	—	—	—	++	++	+

Реакція въ этихъ опытахъ протекала довольно быстро, такъ что черезъ 5—10 минутъ появлялся уже преципитатъ, который былъ въ разведеніяхъ со своей сывороткой 1:50, 1:100 и 1:500 въ большинствѣ случаевъ значительный и, наоборотъ, съ чужими сыворотками всегда не обильный. Преципитация со своими сыворотками получалась при разведеніяхъ 1:1000—1:10000 (5 антисыворотокъ 1:1000, 2 — 1:5000 и 1 — 1:10000), значитъ, давая приблизительно самыми высшими тѣ же разведенія, которыя получаются при дѣйствіи этихъ антисыворотокъ на нативную кровяную сыворотку (табл. № 25). По отношенію же къ результатамъ испытанія этихъ антисыворотокъ на свой антигенъ, оказалось, что реакція съ разведеніями антигена была болѣе чувствительная, т. е. антигенъ разводился больше, чѣмъ сыворотка, обработанная щелочью при комнатной температурѣ.

Schmidt опредѣляетъ силу этой реакціи въ своей таблицѣ какъ „starke Reaktion“.

Что же касается преципитацинъ съ растворами чужихъ

сыворотокъ, то видно изъ таблицы, что специфичность при этихъ опытахъ занимаетъ какъ бы середину между специфичностью при изслѣдованіи на антигенъ (при опредѣленіи титра сыворотокъ) и при изслѣдованіи на нативный сывороточный бѣлокъ (табл. №№ 23, 25 и 27). Дѣйствительно, въ этихъ опытахъ нѣтъ ни одной сыворотки, которая не реагировала бы съ чужими сыворотками; однако, нигдѣ эта реакція не получается въ такихъ сильныхъ разведеніяхъ, какъ это наблюдается при изслѣдованіи на антигенъ. Такъ наибольшее разведеніе чужой сыворотки, при которомъ получалась еще реакція въ видѣ слѣдовъ ея, было 1:500 (антисыв. №№ 8 и 10); остальные же давали въ разведеніяхъ 1:50 и 1:100. Тогда какъ при опредѣленіи титра нѣкоторыя антисыворотки давали еще въ разведеніи 1:1000 и большинство — 1:500.

Объясненіе этому факту тоже можно найти въ выводахъ изъ работъ Obermayer'a и Pick'a. Мнѣ представляется, что въ сывороткѣ, обрабатываемой ѣдкимъ натромъ при комнатной температурѣ въ теченіи 15 минутъ, образуются различные продукты денатурированія бѣлковыхъ тѣлъ подѣ влияніемъ щелочи. Не извѣстно, будутъ-ли это уже щелочные альбуминаты или другіе промежуточные продукты, очень близко стоящіе къ неизмѣненнымъ бѣлкамъ, химически которые до сихъ поръ совершенно не выдѣлены. Tierfeld¹⁾ на стр. 413—414 такъ говоритъ о промежуточныхъ продуктахъ распада бѣлковъ подѣ влияніемъ ферментовъ, воды и высокой температуры, минеральныхъ кислотъ, щелочей, окисляющихъ веществъ, бактерій и т. д. „Die Hauptmenge des Gemisches der Spaltungsprodukte, speziell die ganze Menge der der Muttersubstanz noch näher stehenden und noch Eiweisscharakter zeigenden Produkte der

1) Felix Hoppe. Seyler's Handbuch der physiologisch- und pathologisch-chemischen Analyse. Bearbeitet von Dr. H. Tierfeld. 1909. 8 Auflage.

Hydrolyse, harrt trotz vielfacher Bemühungen noch der Entwirrung“.

Во всякомъ случаѣ можно предполагать, что таковыя же промежуточные продукты въ связи съ другими образуются и при приготовленіи изъ сыворотки антигена. Отсюда ясно, что въ иммунной сывороткѣ получаются преципитины къ этимъ промежуточнымъ веществамъ, образовавшимся подѣ влияніемъ щелочи. Значитъ, при дѣйствіи антисыворотокъ по Schmidt'y на сывороточный бѣлокъ, обработанный натронной щелочью при комнатной температурѣ, проявляется вторая специфичность этихъ сыворотокъ — „специфичность состоянія“, которая и обуславливаетъ образованіе преципитата съ хотя и чужими сыворотками, но содержащими одинаковыя промежуточные продукты денатурированія бѣлка, безразлично какого вида животного. Но такъ какъ при такомъ дѣйствіи щелочи продуктовъ образуется безусловно меньше или что тоже: денатурированіе бѣлка не идетъ такъ далеко, какъ это бываетъ при полученіи антигена, то и преципитация получается въ болѣе крѣпкихъ разведеніяхъ чужихъ сыворотокъ.

При обиліи могущихъ образоваться промежуточныхъ продуктовъ и въ виду недостаточности нашихъ знаній въ этой области нечего и думать выдѣлить тѣ продукты, которые вызываютъ неспецифическія помутнѣнія и тѣмъ самымъ подойти ближе къ вопросу о специфичности.

Г. Дѣйствіе на 70° — бѣлокъ.

Далѣе сыворотки, полученные по способу Schmidt'a, изслѣдовались на кровяную сыворотку своего и чужого вида животныхъ, которая подвергалась нагреванію въ водяной банѣ при 70° въ теченіи 30 минутъ въ разведеніи 1:50 съ физиологическимъ растворомъ повареной соли; свертыванія при этомъ не происходило и по охлажденіи 70° — сыворотка приливалась къ преципитину.

Таблица № 28.

№№ кролик.	Антисыворотка.	Сыворотка нагрѣтая при 70° — 30 минутъ																				
		Лошади						Коровы						Свиньи								
		50	100	500	1000	5000	10000	50	100	500	1000	5000	10000	50	100	500	1000	5000	10000	15000		
7	Лошад.	+	+	+	+	0	0	0	+	+	0	—	—	—	—	+	0	0	—	—	—	—
8	”	++	+	+	+	+	+	0	+	+	+	—	—	—	—	+	+	0	—	—	—	—
9	”	++	+	+	+	+	+	0	0	+	+	0	—	—	—	+	+	0	—	—	—	—
10	”	++	+	+	+	+	+	0	0	+	+	0	—	—	—	+	+	0	—	—	—	—
13	Коров.	+	?	0	—	—	—	—	+	+	+	+	+	0	0	0	+	+	0	—	—	—
14	”	+	+	?	—	—	—	—	+	+	+	+	0	0	0	+	+	0	—	—	—	—
15	Свиная	+	+	0	—	—	—	—	+	+	0	—	—	—	—	++	+	+	+	+	0	0
16	”	+	+	0	—	—	—	—	+	+	0	—	—	—	—	+	+	+	+	0	0	0

Появление преципитата въ этихъ опытахъ было болѣе медленное, такъ что наблюденіе продолжалось 1 часъ; количество преципитата было довольно значительное, въ особенности съ крѣпкими разведеніями своей сыворотки.

Что же касается разведеній, при которыхъ получается еще реакція, такъ онѣ приблизительно такія же, какъ и при изслѣдованіи антисыворотокъ на сывороточный бѣлокъ, обработанный ѣдкой натронной щелочью въ теченіи 15 минутъ при комнатной температурѣ (табл. № 27). Правда, въ отдѣльныхъ сывороткахъ замѣчается незначительное колебаніе то въ сторону плюса, то въ сторону минуса, по сравненію съ тѣми опытами, при чемъ въ иной сывороткѣ одинакова реакція со своимъ бѣлкомъ, но различна съ чужими; въ другой сывороткѣ, наоборотъ, одинакова специфичность, но не одинакова реакція съ гомологическимъ бѣлкомъ. Однако, всѣ эти колебанія весьма не значительны, большинство изъ нихъ въ сторону плюса, и въ общемъ эти опыты тоже надо поставить по своей специфичности между опытами съ антигеномъ и съ нативной кровяной сывороткой, а если сравнить съ реакціей со щелочнымъ бѣлкомъ (табл. № 27), то надо сказать, что съ

70°-сывороткой преципитация съ гетерологическимъ бѣлкомъ получается въ большихъ разведеніяхъ; другими словами, здѣсь реакція менѣе специфична. Отсюда можно думать, что при нагрѣваніи до 70° въ теченіи 30 минутъ бѣлки больше денатурируются, чѣмъ при дѣйствіи щелочи въ теченіи 15 минутъ при комнатной температурѣ; а потому въ зависимости отъ существованія " специфичности состоянія " специфичность въ этихъ опытахъ становится меньше.

Надо думать, что преципитины, которые вызываютъ здѣсь реакцію съ гетерологическимъ бѣлкомъ, уже иные, чѣмъ при реакціи со щелочной сывороткой, а именно: тѣ преципитины, которые вырабатываются въ сывороткѣ кролика отъ введенія промежуточныхъ продуктовъ сывороточнаго бѣлка, образовавшихся подъ вліяніемъ нагрѣванія; тогда какъ въ предыдущемъ опытѣ, надо предполагать, скорѣе дѣйствуютъ преципитины, образовавшіеся отъ введенія щелочныхъ бѣлковъ. Окончательно рѣшить этотъ вопросъ при современномъ состояніи нашихъ знаній о преципитинной реакціи не представляется возможнымъ.

Можно было бы съ другой стороны подойти къ этому вопросу, а именно: Schmidt въ своихъ опытахъ замѣтилъ, что при долгомъ храненіи этихъ антисыворотокъ исчезаетъ у нихъ способность реагировать со щелочнымъ бѣлкомъ, а остается только способность къ преципитацин съ нагрѣтыми бѣлками; на основаніи этого явленія онъ заключаетъ, что въ такихъ иммунныхъ сывороткахъ содержится два преципитина: одинъ реагируетъ съ нагрѣтымъ бѣлкомъ, другой со щелочнымъ. Вотъ интересно было бы такую антисыворотку, потерявшую способность реагировать со щелочнымъ бѣлкомъ, испытать на сыворотку, нагрѣтую при 70° въ теченіи 30 минутъ, и на сыворотку, обработанную ѣдкимъ натромъ при комнатной температурѣ въ теченіи 15 минутъ. Если бы реакція въ первомъ случаѣ получилась, а со щелочнымъ бѣлкомъ нѣтъ, то это указывало бы,

что преципитины здѣсь дѣйствуютъ различные. Къ сожалѣнію, Schmidt'омъ такихъ опытовъ не было поставлено, а мнѣ не приходилось наблюдать исчезновенія въ иммунной сывороткѣ способности къ реакціи со щелочнымъ бѣлкомъ.

Schmidt изслѣдовалъ свои антисыворотки на 70°-сывороточный бѣлокъ, но сравнить его результаты съ моими опять-таки нельзя, такъ какъ онъ эту реакцію опредѣляетъ только какъ „starke Reaktion“.

Д. Дѣйствіе на 100°-бѣлки.

Затѣмъ сыворотки были мною изслѣдованы на 100°-сывороточный бѣлокъ. Для этого бралась сыворотка въ разведеніи 1 : 100 съ физиологическимъ растворомъ поваренной соли, нагрѣвалась въ кипящей банѣ въ теченіи 30 минутъ, въ результатѣ получалась опалесцирующая жидкость; послѣ фильтрованія черезъ двойной фильтр опалесценція становилась совсѣмъ слабая, и изъ этой жидкости дѣлались дальнѣйшія разведенія. Слабая опалесценція этихъ разведеній совершенно не мѣшаетъ реакціи; такъ Schmidt тоже замѣчаетъ въ своей работѣ о нагрѣтыхъ бѣлкахъ, что опалесценція растворовъ не мѣшаетъ опредѣленію реакціи, хотя ставить контрольные опыты необходимо, но рѣдко, по его мнѣнію, приходится прибѣгать къ сравненію съ контролемъ.

Проф. А. В. Григорьевъ въ своей послѣдней статьѣ (Русскій Врачъ 1913 г. № 34) тоже говоритъ, что при переслаиваніи жидкостей не мѣшаетъ реакціи, если испытуемая жидкость представляется немного опалесцирующей или даже слегка мутноватой, и большее значеніе имѣетъ „безусловная прозрачность реактивной сыворотки“. Фильтрація же черезъ кизельгуръ избѣгалась, такъ какъ существуютъ вполне опредѣленные указанія, что фильтрація съ кизельгуромъ ослабляетъ способность сыворотки преципитироваться. Помутнѣніе получалось быстро: черезъ 5—10

минутъ. Скоро вслѣдъ за этимъ образовывался значительный преципитатъ, особенно большой въ разведеніяхъ 1 : 100 и 1 : 500. Быстрота появленія помутнѣнія и величина преципитата рѣзко отличаются при изслѣдованіи Hitze-Alkali-преципитина и нативнаго преципитина,

Таблица № 29.

№№ кролик.	Антисыворотка	Сыворотка нагрѣтая при 100° въ течен. 30 мин.																				
		Лошади						Коровы						Свиньи								
		100	500	1000	5000	10000	15000	20000	100	500	1000	5000	10000	15000	20000	100	500	1000	5000	10000	15000	20000
7	Лошад.	++	++	+	+	+	0	0	+	+	+	0	—	—	—	+	+	+	0	—	—	—
8	„	++	+	+	+	+	0	0	+	+	+	0	—	—	—	+	+	+	0	—	—	—
9	„	++	++	+	+	+	0	0	+	+	+	0	—	—	—	+	+	+	0	—	—	—
10	„	++	++	+	+	+	0	0	+	+	+	0	—	—	—	+	+	0	0	—	—	—
13	Коров.	+	+	+	0	—	—	—	++	+	+	+	+	+	0	+	+	+	0	—	—	—
14	„	+	+	+	0	—	—	—	++	++	+	+	+	0	+	+	+	0	—	—	—	—
15	Свиная	+	+	+	0	—	—	—	+	+	+	0	—	—	—	++	++	+	+	?	0	0
16	„	+	+	0	0	—	—	—	+	+	0	0	—	—	—	++	++	+	+	?	0	0

такъ какъ въ послѣднемъ случаѣ помутнѣніе при реакціи съ нагрѣтыми бѣлками получается медленно и преципитатъ бываетъ необильный. Это вполне согласуется съ таковыми же наблюденіями Schmidt'a надъ нагрѣтыми бѣлками.

Нѣкоторыя сыворотки въ этихъ опытахъ съ 100°-бѣлкомъ давали реакцію въ большихъ разведеніяхъ, чѣмъ со своимъ антигеномъ (сывор. №№ 7, 13, 14). Чѣмъ объясняется это, сказать трудно, но возможно, что количествомъ бѣлка, котораго въ антигенѣ меньше, чѣмъ въ 100°-сывороткѣ, такъ какъ при нейтрализаціи щелочной жидкости выпадаетъ осадокъ; но болѣе опредѣленное объясненіе найти сейчасъ трудно.

Точно также трудно объяснить появленіе въ этихъ опытахъ еще меньшей специфичности, чѣмъ съ антигеномъ. Единственно возможное предположеніе, что и здѣсь бѣлковъ больше и что при 100°-нагрѣваніи больше получается продуктовъ денатурированія бѣлковъ. Во всякомъ случаѣ всѣ

преципитирующія сыворотки дали съ чужими бѣлками преципитацию еще въ разведеніяхъ 1:1000, кромѣ сыворотки № 16, которая давала только въ разведеніи 1:500.

Эту реакцію Schmidt называетъ въ своей работѣ „starke Reaktion“, но относительно вопроса о специфичности, безусловно наиболѣе интересующаго насъ, у него кромѣ общаго заключенія о специфичности антисыворотокъ, указаній нѣтъ.

Въ этой реакціи рѣзко сказывается разница между преципитиномъ Schmidt'a и нативнымъ: въ то время какъ первый реагируетъ съ 100⁰-бѣлкомъ сильно, легко и въ большихъ разведеніяхъ, нативный преципитинъ не даетъ никакой реакціи.

Параллельно эти антисыворотки были испытаны на мышечный экстрактъ, который при тѣхъ же условіяхъ подвергался нагреванію при 100⁰. Послѣ нагреванія получался обильный хлопчатый осадокъ, отфильтровавъ который, я получалъ совершенно прозрачный растворъ, при чемъ химически бѣлокъ въ этомъ растворѣ нельзя было опредѣлить. Реакція преципитации оказалась совершенно отрицательной.

Чтобы уменьшить разведеніе мышечнаго экстракта, мною такіе же опыты были поставлены съ экстрактомъ, который нагревался въ разведеніи 1:25 съ физиологическимъ растворомъ; однако и при этомъ разведеніи реакціи не получалось, при чемъ химически опредѣлить бѣлокъ не удавалось.

Въ виду того, что здѣсь причина отрицательной реакціи можетъ заключаться въ томъ, что весь или большая часть бѣлка экстракта свертывается и профильтрованная жидкость не содержитъ химически опредѣлимаго бѣлка, мною эти антисыворотки были изслѣдованы на мышечный экстрактъ, который разводился 1:25 физиологическимъ растворомъ поваренной соли содержащимъ 0,1% соды (соды 1,0; поваренной соли 8,5 и воды 1000). Затѣмъ этотъ ра-

створъ подвергался нагреванію въ кипящей банѣ въ теченіи 30 минутъ; свертыванія бѣлка не получалось; щелочная реакція раствора доводилась посредствомъ соляной кислоты до слабо щелочной, при этомъ получалось едва замѣтное помутнѣніе раствора, который фильтровался черезъ простой фильтр и, будучи совершенно прозрачнымъ, испытывался антисыворотками по Schmidt'y. При изслѣдованіи этихъ растворовъ на бѣлокъ съ помощью азотной кислоты получалась или опалесценція ясно замѣтная или же муть. Реакція же преципитации въ данномъ случаѣ получилась очень слабая.

6 антисыворотокъ реагировало только въ разведеніи 1:25, и то инныя совсѣмъ слабо, и двѣ (№№ 9 и 14) дали въ разведеніи 1:50 незначительную реакцію.

Такимъ образомъ удержаніемъ почти всего бѣлка мышечнаго экстракта въ растворѣ при кипяченіи со слабымъ растворомъ соды удастся получить очень слабую преципи-

Таблица № 30.

№№ кролик.	Антисыворотка	Мышечный экстр. 1:25 съ 0,1% соды 100-30 м.								
		Лошади			Коровы			Свиньи		
		25	50	100	25	50	100	25	50	100
7	Лошад.	+	0	0	0	0	—	0	0	—
8	"	?	0	0	0	0	—	0	0	—
9	"	+	?	0	0	0	—	0	0	—
10	"	?	0	0	0	0	—	0	0	—
13	Коров.	0	0	—	+	0	0	0	0	—
14	"	0	0	—	+	?	0	0	0	—
15	Свиная	0	0	—	0	0	—	+	0	0
16	"	0	0	—	0	0	—	?	0	0

тацию съ помощью Hitze-Alkali-преципитина, полученнаго введеніемъ кроликамъ антигена изъ сыворотки. При этомъ, какъ мы увидимъ дальше, сила реакціи въ этомъ случаѣ почти одинакова съ реакціей съ экстрактами изъ органовъ, тоже подвергнутыхъ нагреванію при 100⁰ съ содой. Изслѣ-

дованіе же этого преципитина на сыворотку, тоже разведенную 0,1% соды и нагрѣтую до 100° въ теченіи 30 минутъ, дало приблизительно такіе же результаты, какіе получались при изслѣдованіи на сыворотку, кипяченую безъ прибавленія соды (табл. № 29).

Е. Дѣйствіе на высушенный при 100° бѣлокъ.

Наконецъ, антисыворотки мною были изслѣдованы, какъ это дѣлалъ и Schmidt, на сывороточный бѣлокъ, который отъ нагрѣванія сдѣлался совершенно нерастворимымъ въ фізіологическомъ растворѣ хлористаго натра и только ѣдкой щелочью могъ быть переведенъ въ растворъ. Для этого опыта нормальная кровяная сыворотка, согласно указаніямъ Schmidt'a, подвергалась слѣдующей обработкѣ.

Бралось около 20—25 к. с. той или иной сыворотки, вливалось въ Эрленмейеровскую колбу, куда прибавлялось около 5 к. с. фізіологическаго раствора. Колба ставилась въ кипящую водяную баню и держалась тамъ до тѣхъ поръ, пока вся свернувшаяся сыворотка совершенно не высохнетъ, на что требовалось обыкновенно около 3 часовъ. Свернувшаяся и высушенная сыворотка тщательно промывалась фізіологическимъ растворомъ, чтобы удалить такимъ образомъ всякіе слѣды еще растворимаго бѣлка. Затѣмъ высушивалась и въ ступочкѣ растиралась въ порошокъ, который получался желтаго или буровато-желтаго цвѣта. Нѣкоторое количество, приблизительно, какъ совѣтуетъ Schmidt, на кончикѣ ножа, этой высушенной сыворотки смѣшивалось въ пробиркѣ съ 10 к. с. децинормальнаго раствора ѣдкаго натра, содержащаго и повареную соль; эта пробирка помѣщалась въ водяную баню при 70° и подвергалась нагрѣванію въ теченіи 10—20 минутъ при взбалтываніи по временамъ. Порошокъ сыворотки при этомъ нагрѣваніи разбухаетъ и часть его, повидимому, переходитъ въ растворъ. Schmidt не совѣтуетъ ждать, пока растворится

весь порошокъ, такъ какъ отъ продолжительнаго дѣйствія щелочи, въ особенности при такой температурѣ, можетъ получиться полное уничтоженіе реакціонной способности сыворотки. Поэтому когда достаточное количество сыворотки перешло въ растворъ, щелочная жидкость фильтровалась черезъ смоченный фізіологическимъ растворомъ фильтръ въ колбочку, въ которую наливалось 10 к. с. фізіологическаго раствора. Затѣмъ этотъ щелочный растворъ (около 20 к. с.) нейтрализовался $\frac{1}{20}$ нормальнымъ растворомъ соляной кислоты до полученія слабокрасной окраски съ фенол-фталейномъ, при чемъ соляной кислоты шло около 18—20 к. с.; всего жидкости получалось около 40 к. с.

Такъ какъ Schmidt совѣтуетъ для опытовъ преципитации брать еще болѣе разведенные растворы, то я изъ этой жидкости приготовлялъ разведенія 1:5 и 1:10 и всѣ подвергалъ изслѣдованію Hitze-Alkali — преципитиномъ. Надо еще замѣтить, что точное разведеніе бѣлка въ этихъ случаяхъ не извѣстно, такъ какъ не опредѣлимо количество сухого бѣлка, перешедшаго въ растворъ при нагрѣваніи со щелочью.

Вообще же химически бѣлокъ былъ опредѣлимъ.

По словамъ Schmidt'a Hitze-Alkali-преципитинъ хорошо реагируетъ съ этимъ бѣлкомъ, который только съ помощью щелочи переходитъ въ растворимое состояніе: „Es erfolgt auch in ziemlich verdünnter Lösung sofortige Trübung und schon nach wenigen Minuten Flockenbildung. Besondere Versuche ergaben, dass die Reaktionen des Hitze-Alkali-Präzipitins in gleicher Weise artspezifisch sind, wie die des Nativ-Präzipitins“.

Мои результаты не даютъ возможности подтвердить эти наблюденія Schmidt'a. Дѣйствительно, Hitze-Alkali-преципитинъ оказался въ состояніи реагировать съ такимъ денатурированнымъ бѣлкомъ, но весьма не сильно и въ незначительныхъ разведеніяхъ, а въ большинствѣ случаевъ даже

Таблица № 31.

№№ крол.	Антисыв.	Сухая сыв-ка раств. NaOH.						№№ крол.	Антисыв.	Сухая сыв-ка раств. NaOH.													
		Лош.			Кор.					Свин.			Лош.			Кор.			Свин.				
		Неразв.	5		10	Неразв.	5			10	Неразв.	5		10	Неразв.	5		10	Неразв.	5		10	
7	Лош.	?	0	0	0	—	—	0	—	—	—	—	13	Кор.	0	—	—	—	—	—	—	—	—
8	"	?	0	0	0	—	—	0	—	—	—	—	14	"	?	—	—	—	—	—	—	—	
9	"	+	?	0	0	—	—	0	—	—	—	—	15	Свин.	?	—	—	—	—	—	—	—	
10	"	+	?	0	0	—	—	0	—	—	—	—	16	"	0	—	—	—	—	?	0	0	

только съ жидкостью, полученной послѣ нейтрализаціи, безъ дальнѣйшихъ разведеній, при чемъ три сыворотки (№№ 7, 8 и 16) давали только слѣды реакціи.

Помутнѣнія получались очень медленно, иногда черезъ $\frac{1}{2}$ часа, образованіе хлопьевъ сильно затягивалось. Наконецъ и специфичность не у всѣхъ сыворотокъ была полная: такъ сывор. №№ 14 и 15 дали съ одной изъ чужихъ сыворотокъ намека на реакцію. Такимъ образомъ изъ моихъ опытовъ выходитъ, что Nitze-Alkali-преципитинъ съ сывороточнымъ бѣлкомъ, сдѣлавшимся отъ нагрѣванія нерастворимымъ и переведеннымъ въ растворъ съ помощью ѣдкаго натра, реагируетъ сравнительно слабо и не всегда специфично.

Ж. Дѣйствіе на экстракты изъ органовъ.

Далѣе антисыворотки по Schmidt'y изслѣдовались мною на экстракты изъ почки, печени и селезенки, съ одной стороны, для рѣшенія вопроса, получаютъ-ли въ сывороткахъ животныхъ, иммунизированныхъ денатурированнымъ нагрѣваніемъ и щелочью по Schmidt'y сывороточнымъ бѣлкомъ, общіе преципитины, а потому могутъ-ли онѣ реагировать съ бѣлками другихъ органовъ, съ другой стороны, интересно было выяснитъ, способны-ли эти антисыворотки

Таблица № 32.

№№ кроликовъ	Нативные экстракты изъ											
	Почки				Печени				Селезенки			
	Лошади		Коровы		Свиньи		Лошади		Коровы		Свиньи	
7	?	0	0	0	0	0	?	0	0	0	0	0
8	+	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0
9	+	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0
10	+	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0
13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

*) 1:5000... 0.

реагировать съ бѣлками другихъ органовъ, находящимися въ различныхъ отъ физико-химическихъ воздѣйствій состояніяхъ, т. е. въ нативномъ, денатурированнымъ нагрѣваніемъ и щелочью и однимъ нагрѣваніемъ.

Для этого всѣ преципитирующія сыворотки изслѣдовались мной: 1) на натуральные экстракты изъ органовъ, 2) экстракты, подвергнутые денатураціи по Schmidt'y, 3) на кипяченые въ теченіи 30 минутъ въ разведеніи 1:25 съ физиологическимъ растворомъ, 4) тоже кипяченые, но съ физиологическимъ растворомъ содержащимъ 0,1% соды. Обработка всего этого матерьяла производилась описанными уже выше способами.

Преципитация антисыворотокъ по Schmidt'y съ нативными экстрактами изъ органовъ происходитъ только при самыхъ незначительныхъ разведеніяхъ ихъ, исключая селезеночный экстрактъ, который реагировалъ въ большихъ разведеніяхъ, особенно съ сыворотками №№ 9, 15 и 16. Преципитации не было только при дѣйствіи антисыворотки № 13 на печеночный экстрактъ.

Передъ постановкой опыта многіе экстракты приходилось подвергать фильтраціи съ порошкомъ инфузорной земли, такъ какъ при фильтраціи черезъ простой фильтръ экстрактъ получался опалесцирующимъ. Химически бѣлокъ опредѣлялся: въ почечныхъ экстрактахъ ясно въ разведеніяхъ 1:500 и слѣды въ 1:1000; въ печеночныхъ — ясно въ 1:500, а 1:1000 только въ свиномъ печеночномъ; въ селезеночныхъ — 1:500 и слѣды въ 1:1000 (см. таблицу № 81).

Такимъ образомъ антисыворотки по Schmidt'y оказались въ состояніи реагировать съ нативными экстрактами изъ органовъ.

Въ опытахъ съ экстрактами, обработанными по способу Schmidt'a, видно, что наиболѣе сильно реагируютъ антисыворотки съ селезеночнымъ экстрактомъ; но въ меньшихъ разведеніяхъ дѣйствуютъ и на другіе экстракты. Такъ

Таблица № 33.

№№ кролик.	Антисывор.	Экстракты обработанные по Schmidt'y:														
		Почки.						Печени.						Селезенки.		
		Лош.		Кор.		Свин.		Лош.		Кор.		Свин.		Лош.	Кор.	Свин.
		50	100	250	50	100	250	50	100	250	50	100	250	50	100	250
7	Лош.	+	+	?	0	—	—	+	+	0	0	—	—	+	+	+
8	"	+	0	0	0	—	—	+	0	0	0	—	—	+	0	0
9	"	+	+	0	0	—	—	+	0	0	0	—	—	+	0	0
10	"	+	0	0	0	—	—	+	0	0	0	—	—	+	0	0
13	Кор.	0	—	—	+	+	0	0	—	?	0	0	0	—	+	+
14	"	0	—	—	+	0	0	0	—	+	0	0	0	—	+	0
15	Свин.	0	—	—	—	?	0	0	—	—	?	0	0	—	—	—
16	"	0	—	—	—	+	0	0	—	—	+	0	0	—	—	—

что при иммунизации денатурированнымъ сывороточнымъ бѣлкомъ по Schmidt'y получаютъ не только общіе преципитины къ натуральнымъ бѣлкамъ, но и къ денатурированнымъ, благодаря чему антисыворотки могутъ реагировать съ бѣлками изъ другихъ органовъ. Химически бѣлокъ былъ найденъ: въ почечныхъ экстрактахъ, обработанныхъ по Schmidt'y, въ разведеніи 1:100 ясно, 1:500-слѣды; въ печеночныхъ 1:100 вполне ясно и 1:500 слѣды и то не во всѣхъ экстрактахъ; въ селезеночныхъ 1:500 во всѣхъ.

Затѣмъ былъ поставленъ опытъ съ экстрактами, которые нагрѣвались до 100° съ содой и безъ нея. Результаты этихъ опытовъ приведены въ двухъ таблицахъ рядомъ для лучшаго сравненія.

Таблица № 34.

№№ кролик.	Антисывор.	Экстракты съ физіол. раствор. 100° — 30 минутъ														
		Почки						Печени						Селезенки		
		лош.		коров.		свин.		лош.		коров.		свин.		лош.	коров.	свин.
		25	50	25	50	25	50	25	50	25	50	25	50	25	50	25
7	Лош.	0	0	0	—	0	—	?	0	0	—	0	—	?	0	0
8	"	?	0	0	—	0	—	0	0	0	—	0	—	?	0	0
9	"	0	0	0	—	0	—	0	0	0	—	0	—	+	0	0
10	"	?	0	0	—	0	—	?	0	0	—	0	—	+	0	0
13	Кор.	0	—	0	0	0	—	0	—	0	0	—	—	0	+	0
14	"	0	—	?	0	0	—	0	—	?	0	—	—	0	+	0
15	Свин.	0	—	0	—	?	0	0	—	0	—	+	0	—	—	—
16	"	0	—	0	—	+	0	0	—	0	—	+	0	—	—	—

*) 1:500 — 0 **) 1:500 — ?

Т а б л и ц а № 35.

№№ кролик.	Антисывор.	Экстракты 1:25 съ 0,1% соды 100° — 30 мин.																	
		Почки						Печени						Селезенки					
		Лош.		Кор.		Свин.		Лош.		Кор.		Свин.		Лош.		Кор.		Свин.	
		25	50	100	25	50	100	25	50	100	25	50	100	25	50	100	25	50	100
7	Лош.	+	+	0	0	—	0	—	+	+	0	0	—	+	0	0	0	—	—
8	"	+	0	0	0	—	0	—	+	0	0	0	—	+	+	0	0	—	—
9	"	+	+	0	0	—	0	—	?	0	0	0	—	+	+	0	0	—	—
10	"	+	+	0	0	—	0	—	+	0	0	0	—	+	?	0	0	—	—
13	Кор.	0	—	—	+	?	0	0	—	—	+	0	0	0	—	+	+	0	—
14	"	0	—	—	+	?	0	0	—	—	+	0	0	0	—	+	?	0	—
15	Свин.	0	—	—	0	—	+	0	0	—	—	+	+	0	0	—	—	+	?
16	"	0	—	—	0	—	+	?	0	0	—	—	+	+	0	0	—	+	0

При кипячении экстрактовъ съ физиологическимъ растворомъ всегда получался свертокъ; этого не бывало, когда кипячение производилось съ добавлением соды. Почечный экстрактъ какъ при образовании свертка, такъ и безъ него давалъ опалесцирующий растворъ, почему его приходилось фильтровать черезъ кизельгуръ.

Химически бѣлка нельзя было опредѣлить въ разведеніи 1:25 послѣ кипяченія безъ соды; послѣ же кипяченія съ содой бѣлокъ опредѣлялся въ разведеніи 1:25.

Изъ сравненія этихъ двухъ таблицъ видна большая разница между преципитацией послѣ кипяченія безъ соды и съ прибавленіемъ ея. Въ то время какъ въ первомъ случаѣ, т. е. при кипяченіи безъ соды, многія преципитирующие сыворотки давали реакцію съ разведеніемъ 1:25 въ видѣ слѣдовъ ея, а нѣкоторыя и совсѣмъ не давали реакціи, при чемъ опять-таки съ селезеночнымъ экстрактомъ реакція чаще получалась ясная; во второмъ случаѣ замѣчалось значительное усиленіе реакціи: не было ни одной антисыворотки, которая не давала бы реакціи хотя въ разведеніи 1:25, но значительное большинство ихъ реагировало съ разведеніемъ 1:50; что же касается селезеночнаго экстракта, то съ нимъ всѣ сыворотки реагировали въ разведеніяхъ

1:25 и 1:50. Такое усиленіе преципитации надо объяснить увеличеніемъ содержанія бѣлка въ растворѣ при кипяченіи съ содой, на что указываетъ отсутствіе свертыванія бѣлка и химическое опредѣленіе его въ растворѣ.

Изъ этихъ опытовъ преципитации съ экстрактами изъ разныхъ органовъ животныхъ выходитъ, что при иммунизации кроликовъ бѣлкомъ, денатурированнымъ по способу Schmidt'a нагрѣваніемъ и щелочью, въ сывороткѣ ихъ, также какъ и при иммунизации нативными бѣлками, вырабатываются общіе къ различнымъ гомологическимъ бѣлкамъ преципитины. Однако эти общіе преципитины, подобно вообще реакціонной способности сыворотки, обладаютъ способностью реагировать не только съ нативными бѣлками другихъ органовъ, но и съ денатурированными. Въ этомъ отношеніи замѣчается полное соотвѣтствіе между способностью антисыворотки Schmidt'a реагировать со своей сывороткой и съ бѣлками изъ другихъ органовъ: такъ антисыворотка реагируетъ и съ нативной сывороткой и съ нативнымъ экстрактомъ, съ антигеномъ изъ сыворотки и съ экстрактами, обработанными какъ антигенъ, съ нагрѣтой до 100° сывороткой и съ 100°-экстрактомъ.

Конечно съ бѣлками другихъ органовъ преципитация получается медленнѣе, слабѣе и преципитатъ въ большинствѣ случаевъ незначительный.

Надо и здѣсь замѣтить, что одна и та же преципитирующая сыворотка съ различными экстрактами реагировала различно, также неодинаково преципитировала она одинъ и тотъ же экстрактъ, но различно денатурированный, и, наконецъ, не было соотвѣтствія между силой реакціи и содержаніемъ бѣлковъ, такъ какъ часто преципитация уже не получалась съ разведеніемъ, въ которомъ ясно былъ находимъ химически бѣлокъ. Все это можно объяснить только различной выработкой въ сывороткѣ того или другого кролика различныхъ общихъ преципитиновъ, благодаря чему

онѣ проявляютъ различную силу къ тому или другому экстракту, въ темъ или другомъ состояніи денатурированія. Такъ обладающими наибольшимъ количествомъ общихъ преципитиновъ надо признать антисыворотки №№ 15 и 16.

Для практики является важнымъ то обстоятельство, что иммунныя сыворотки, полученные введеніемъ кровяныхъ сыворотокъ и содержащія общіе преципитины, могутъ реагировать, хотя и слабѣе, съ бѣлками другихъ органовъ. Что же касается изслѣдованія кипяченыхъ экстрактовъ, то, какъ это видно изъ опытовъ, имѣетъ преимущество кипяченіе со слабымъ растворомъ соды.

И. Дѣйствіе элективного насыщенія на сыворотки.

Въ виду того, что антисыворотки, полученные по способу Schmidt'a, при дѣйствіи ихъ на денатурированные бѣлки сыворотки даютъ довольно сильную реакцію съ гетерологическими бѣлками, т. е. не достаточно специфичны, мною были произведены опыты насыщенія 4 антисыворотокъ къ гетерологическимъ денатурированнымъ бѣлкамъ. Такимъ образомъ я думалъ получить вполне специфичныя антисыворотки, а потому болѣе пригодныя для практики.

Для этого мною прибавлялось къ 5 к. с. антисыворотокъ №№ 7 и 8 по 0,5 к. с. коровьяго антигена, т. е. кровяной сыворотки, обработанной нагреваніемъ и щелочью по Schmidt'у; къ 5 к. с. антисыворотокъ №№ 13 и 16 по 0,5 к. с. лошадиного антигена. Затѣмъ черезъ сутки стоянія на холоду антисыворотки изслѣдовались; послѣ чего опять прибавлялось 0,4 к. с. того же антигена; черезъ слѣдующіе 24 часа опять изслѣдовались, и если насыщенія не произошло, то антигенъ снова прибавлялся. Для нѣкоторыхъ антисыворотокъ достаточно было насыщать 2 раза, для другихъ 3 раза. Кромѣ того эти антисыворотки изслѣдовались до и послѣ насы-

щенія на нативную кровяную сыворотку. Въ остальномъ методика насыщенія по Weichardt'у была такая же, какъ и при насыщеніи нативныхъ сыворотокъ. Результаты насыщенія представлены въ слѣдующихъ 2-хъ таблицахъ.

Насыщеніе антисыворотокъ къ чужой сывороткѣ, обработанной по Schmidt'у, достигнуть можно, но довольно трудно; такъ для 3-хъ антисыворотокъ нужно было 3 раза прибавлять чужой антигенъ, чтобы достигнуть полной специфичности, что и понятно, такъ какъ специфичность этихъ антисыворотокъ выражена сравнительно не рѣзко. Особенностью при насыщеніи антисыворотокъ Schmidt'a является во-первыхъ то, что при насыщеніи однимъ какимъ-либо чужимъ антигеномъ происходитъ насыщеніе и къ другому, иногда даже насыщеніе къ другому идетъ скорѣе; и въ результатѣ антисыворотка получается насыщенной къ обоимъ чужимъ антигенамъ, т. е. вполне специфичной; такъ на примѣръ: при насыщеніи антисыворотки № 7 коровьимъ антигеномъ черезъ 24 часа замѣчается уменьшеніе преципитации со свинымъ антигеномъ, а съ коровьимъ остается безъ измѣненія; черезъ 72 часа антисыворотка не реагируетъ ни съ коровьимъ, ни со свинымъ.

Вторая особенность этого насыщенія заключается въ слишкомъ сильномъ уменьшеніи титра со своимъ антигеномъ при насыщеніи чужимъ. И при насыщеніи нативныхъ сыворотокъ мы замѣчали ослабленіе реакціи со своимъ бѣлкомъ, но тамъ оно было незначительно; здѣсь же, въ антисывороткахъ Schmidt'a это уменьшеніе было рѣзкое, такъ что получалась преципитация только съ разведеніями 1 : 500, и то у антисыворотокъ №№ 7 и 13 слѣды ея. Такое сильное ослабленіе преципитирующей силы антисыворотокъ Schmidt'a при насыщеніи ихъ — явленіе неблагоприятное, а потому едва-ли насыщеніе этихъ антисыворотокъ для полученія полной специфичности возможно примѣнить на практикѣ.

№№ кроликовъ	Анти-сыворотка	№№ кроликовъ			
		Антигенъ по Schmidtъ изъ сыворотки:			
		Лошади			
		Коровы			
		Свиньи			
7	Лошадн.	До насыщения Кор. 0,5 " 0,9 " 1,2	24 48 72	100 500 1000 5000 10000 15000 20000	100 500 1000 5000 10000 15000 20000
8	Лошадн.	До насыщения Кор. 0,5 " 0,9	24 48	100 500 1000 5000 10000 15000 20000	100 500 1000 5000 10000 15000 20000
13	Коровы	До насыщения Лощ. 0,5 " 0,9 " 1,2	24 48 72	100 500 1000 5000 10000 15000 20000	100 500 1000 5000 10000 15000 20000
16	Свинья	До насыщения Лощ. 0,5 " 0,9 " 1,2	24 48 72	100 500 1000 5000 10000 15000 20000	100 500 1000 5000 10000 15000 20000

Таблица № 36.

Таблица № 37.

№№ кроликовъ	Антисывор.	Чѣмъ насыщ.	Кол. нас. вещ.	Кол. антисыв.	Вр. сънач. нас.	Нативная кровяная сыворотка											
						Лошади				Коровы				Свиньи			
						100	500	1000	5000	100	500	1000	5000	100	500	1000	5000
7	Лошад.	До насыщения Кор. 1,2 5	72	+	+	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8	Лошад.	До насыщения Кор. 0,9 5	48	+	+	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
13	Коров.	До насыщения Кор. 1,2 5	72	0	0	0	0	0	0	+	+	+	+	0	0	0	0
16	Свин.	До насыщения Кор. 1,2 5	72	+	0	0	0	0	0	+	+	+	+	+	+	+	0

Наконецъ, третья особенность насыщения та, что, насыщая антисыворотку Schmidt'a чужимъ антигеномъ, т. е. бѣлкомъ денатурированнымъ, получается ослабленіе, правда, незначительное преципитации съ нативной кровяной сывороткой, т. е. съ бѣлкомъ неизмѣненнымъ; дать объясненіе этому явленію трудно.

Что же касается насыщения антисыворотки заразъ къ обоимъ антигенамъ, хотя смѣшивалась антисыворотка съ однимъ, то это можно хорошо объяснить, принявъ существованіе „специфичности состоянія.“

Дѣйствительно, разъ бѣлокъ, находящійся въ извѣстномъ состояніи денатурированія, вызываетъ въ организмѣ животного образованіе иммунныхъ тѣлъ-преципитиновъ, которые реагируютъ только съ бѣлкомъ, находящимся въ такомъ же состояніи, независимо отъ вида животного, то, очевидно, насыщеніе такимъ бѣлкомъ вызоветъ сначала уменьшеніе преципитирующей силы, а затѣмъ и полное уничтоженіе ея съ бѣлкомъ всѣхъ чужихъ антигеновъ, причемъ это должно ити болѣе или менѣе параллельно, такъ какъ здѣсь играетъ роль не видъ животного, а состояніе бѣлка вообще.

Этимъ же надо объяснить и рѣзкое уменьшеніе титра

со своимъ антигеномъ, такъ какъ и здѣсь преципитины, реагирующіе съ бѣлками въ опредѣленной фазѣ измѣненія, насыщены; остатокъ же преципитирующей силы антисыворотки надо отнести на счетъ существованія „видовой специфичности“, т. е. такихъ преципитиновъ, которые реагируютъ съ бѣлками только этого вида животныхъ.

Въ заключеніе представимъ всѣ произведенныя изслѣдованія съ преципитирующими сыворотками, полученными введеніемъ антигена по Schmidt'y, въ видѣ таблицы.

Таблица № 38.

Антисыворотка полученная отъ введенія сыворотки, денатурированной по Schmidt'y

Растворы	Результатъ	Растворы	Результатъ	Растворы	Результ.
Сыв-ка по Schm.	+	Мыш. экстр. съ физ. рас. 100°—30'	0	Сухая 100° сыв-ка + NaOH	+
Мыш. экс. по Schm.	+	Сыв-ка + 0,1% соды 100°—30'	+	Нат. экстр. орган.	+
Натив. сыв-ка	+	Мыш. экстр. + 0,1% соды 100°—30'	+	Экстр. по Schm.	+
Нат. мыш. экстр.	+	Сыв-ка 70°—30'	+	Экстр. + физ. р. 100°—30'	+
Сыв. съ физ. р. 100°—30'	+	Сыв-ка + NaOH. комн. t°	+	Экстр. + 0,1% соды 100°—30'	+

Въ этой таблицѣ обозначенія тѣ же, что и въ таблицѣ № 22.

1. Полученіе Nitze-Alkali-преципитина не представляетъ затрудненія, но требуетъ болѣе продолжительной иммунизации.

2. Титръ ихъ достаточно высокъ, не уступаетъ титру

нативныхъ преципитиновъ; теченіе реакціи преципитации замедляется; преципитатъ получается въ общемъ менѣе обильный.

3. Специфичность антисыворотокъ Schmidt'a выражена менѣе рѣзко, чѣмъ специфичность нативныхъ антисыворотокъ. Наилучшее объясненіе даетъ этому ученіе о „видовой специфичности“ и „специфичности состоянія“.

4. Обладаютъ большой „шириной реакціи“, такъ какъ реагируютъ съ бѣлкомъ: а) нативнымъ, б) обработаннымъ по Schmidt'y, в) 100°-нымъ бѣлкомъ и е) высушеннымъ при 100° и раствореннымъ въ ѣдкомъ натрѣ (съ послѣднимъ слабо).

5. Реагируютъ съ такой же „шириной реакціи“, давая только болѣе слабую преципитацию, съ бѣлками изъ мяса и органовъ.

Глава 8.

Преципитины, полученные отъ введенія нативныхъ мышечныхъ экстрактовъ.

Въ 1901 году Uhlenhuth¹⁾, предлагая полученныя имъ для дифференцированія крови преципитирующія сыворотки примѣнять также и для опредѣленія мяса различныхъ видовъ животныхъ, такъ говоритъ о примѣненіи какъ преципитиногена мясныхъ экстрактовъ: „Будетъ ли реакція интенсивнѣе, если употреблять для иммунизации кроликовъ вмѣсто крови вытяжки изъ мяса соответствующихъ животныхъ — должны показать дальнѣйшіе опыты.“

Въ 1908 году Uhlenhuth съ Weidanz'омъ и Wedemann'омъ уже болѣе категорически высказываются о

1) Uhlenhuth. „Die Unterscheidung des Fleisches verschiedener Tiere mit Hilfe spezieller Sera und die praktische Anwendung der Methode in der Fleischbeschau“. — Deutsch. med. Wochensh. 1901. № 45.

получении преципитирующих сывороток при введении мышечных вытяжек: „Da man Pferdefleischeiweiss nachweisen will, so ist von vornherein die Einspritzung von Fleischsaft am rationellsten.“ Также высказываются они в „Praktische Anleitung и т. д.“ в 1909 году: „Sollen die präzipitierenden Sera zum Nachweis von Pferdefleischeiweiss dienen, so ist es a priori am rationellsten, die Vorbehandlung der Kaninchen mit Pferdefleischsaft vorzunehmen“ (стр. 188).

Но сейчас же дальше они так говорят о получении ими сывороток для исследования мясных продуктов: „Wir benutzen für die Herstellung der für die Fleischuntersuchung in Betracht kommenden Antisera fast ausschliesslich Pferdeserum. Nach unseren Erfahrungen ist die Vorbehandlung der Tiere mit Pferdeserum am bequemsten und in allen Fällen ausreichend“ (стр. 189). Чтобы понять такое несоответствие, что авторы, признавая самым рациональным получение антисывороток для биологического исследования мясных продуктов путем введения животным мышечного сока, а не кровяной сыворотки, сами в то же время пользуются не выжатым соком, а сывороткой, — необходимо просмотреть существующую по этому вопросу литературу.

Давно же дѣлаются попытки получать преципитирующие сыворотки, вводя животным то выжатый мясной сок, то различно приготовленные экстракты из мяса, но до последнего времени онѣ оставались безрезультатными.

Nötel¹⁾ иммунизировал часть животных выжатым лошадиным мышечным соком, а другую часть — вытяжкой из мяса содержащей 0,1% соды, при чем экстрагирование продолжалось 3 часа при 37°, а затѣм экстракт сливался, мясо же подвергалось прессованию, и обѣ жидкости, наконец, смѣшивались. Впрыскивания дѣлались под кожу. Таким образом Nötel получал антисыво-

1) Nötel. „Ueber ein Verfahren zum Nachweis von Pferdefleisch“. Zeitschr. für Hygiene u. Infektionskr. 1902. Bd. 39.

ротки, которая съ мышечным соком „eine nicht unbedeutend stärkere Reaktion gaben“, чѣмъ антисыворотки, полученные обработкой кроликов лошадиной сывороткой. Эти опыты Nötel'a были подтверждены Vallée et Nicolas¹⁾, а затѣм Riegler²⁾, который впрыскивалъ под кожу водный мясной экстрактъ.

Gröning³⁾ иммунизировалъ мясным соком, полученным не при помощи механической силы, а путем замораживания мяса и послѣдующаго выдѣления сока при оттаивании; однако же и онъ получалъ у кроликовъ „местные и общія болѣзненные явления.“

Ruppin⁴⁾ также получалъ мышечныя антисыворотки, къ сожалѣнію, какъ и у Nötel'a, — слабо дѣйствующія. При этомъ Ruppin старался получать инъекціонный матеріалъ возможно стерильнѣе; для этого онъ мясо опускалъ на 10 минутъ въ алкоголь, затѣмъ на стерильной тарелкѣ наружныя части мяса срѣзалъ стерильнымъ ножомъ; измельчалъ въ стерильной машинкѣ и выжималъ стерильнымъ прессомъ,

Для другихъ кроликовъ онъ готовилъ вытяжки изъ мяса, извлекая бѣлки рубленого мяса стерилизованной водой въ теченіи 6 часовъ при низкой температурѣ, а затѣмъ прессуя мясо.

Но другимъ авторамъ не удавалось получать и такихъ слабодѣйствующихъ мышечныхъ антисыворотокъ. Такъ Piorkowski, Ascoli⁵⁾, Grund und Jess⁶⁾ отказались

1) Vallée et Nicolas. „Les sérums précipitants“. Bull. de la soc. centr. de méd.-vet. T. 21.

2) Riegler. „Die Serodiagnose in der Untersuchung der Nahrungsmittel.“ — Oesterreich. Chemik. Ztg. 1902. № 5.

3) Gröning. „Nachweis des Pferdefleisches durch ein spezifisches Serum.“ — Zeitschr. f. Fleisch- und Milch-Hygiene. 1902. Bd. 13.

4) Ruppin. „Zum Nachweis von Pferdefleisch.“ — Zeitschr. f. Untersuchung der Nahrungsmittel. 1902. № 8.

5) Ascoli. Biochem. Zentralbl. 2, 227 (Autoreferat).

6) Jess. „Beiträge zu Immunisierungs-Versuchen“ — Berlin. tierärztl. Wochenschr. 1901. № 42.

получать по такому способу иммунныя сыворотки вслѣдствіе огромной потери кроликовъ, объясняя такую токсичность вытяжекъ содержаніемъ въ нихъ токсальбуминовъ. Подвергать же сокъ фильтрованію черезъ фильтръ Berkefeld'a они не рѣшались, опасаясь, что фильтромъ будутъ задержаны и дѣятельныя части бѣлковъ.

Schmidt¹⁾ также пробовалъ иммунизировать кроликовъ нестерильнымъ мышечнымъ сокомъ (человѣка и рога-таго скота), вводя подъ кожу спины черезъ 3—4 дня отъ 4 до 10 к. с. сока. Получить преципитирующія сыворотки Schmidt'y не удавалось, такъ какъ изъ 15 кроликовъ всѣ кромѣ 2-хъ, погибли послѣ 3-го и 4-го впрыскиванія; а эти два больше 4 и 5 впрыскиваній перенести не могли вслѣдствіе паденія въ вѣсѣ и образованія гнойниковъ, при чемъ сыворотки ихъ не содержали ни мясныхъ, ни сывороточныхъ преципитиновъ.

Uhlenhuth также на основаніи своихъ опытовъ пришелъ къ выводу, что кролики очень плохо переносятъ мышечный сокъ.

Въ виду всего вышеизложеннаго Schmidt поставилъ опыты съ иммунизированіемъ кроликовъ мышечнымъ сокомъ, профильтрованнымъ черезъ свѣчу Berkefeld'a. Для этого полученный при обычныхъ условіяхъ мышечный сокъ фильтровался черезъ свѣчу, длиной въ 4—6 см.; фильтрація идетъ сравнительно медленно, но если взять двѣ свѣчи, то черезъ нѣсколько часовъ при пользованіи разрѣжающимъ насосомъ получается достаточное количество сока для впрыскиванія 6—8 кроликамъ по 10 к. с. Такой профильтрованный сокъ всѣ 8 кроликовъ перенесли хорошо и дали послѣ 4 впрыскиваній сильно преципитирующую сыворотку.

На основаніи этого Schmidt предполагаетъ, что ток-

1) Schmidt. „Untersuchungen über die Erzeugung hochwertiger Muskeleiweiss-Antisera für die Fleischdifferenzierung“. — Biochem. Zeitschr. 1907. Bd. 5.

сичность сока зависитъ не отъ содержанія токсальбуминовъ, а отъ бактерій, которыя всегда будутъ въ нестерильномъ сокѣ и которыя, попадая въ организмъ иммунизируемаго животного, вызываютъ заболѣванія, что и препятствуетъ выработкѣ иммунныхъ тѣлъ (преципитиновъ). Устраняя это, фильтрованіе черезъ свѣчу Berkefeld'a сравнительно немного уменьшаетъ содержаніе въ сокѣ бѣлковъ; такъ по изслѣдованію Schmidt'a выходило, что нефильтрованный сокъ даетъ 10—12% сухого остатка, а профильтрованный — 6,5—7,5%. Поэтому Schmidt настойчиво рекомендуетъ для полученія мышечныхъ антисыворотокъ пользоваться профильтрованнымъ черезъ свѣчу Berkefeld'a сокомъ.

Однако и послѣ этихъ изслѣдованій Schmidt'a появлялись работы, въ которыхъ авторы рекомендуютъ примѣненіе экстрактовъ для иммунизации безъ предварительнаго фильтрованія черезъ фильтръ Berkefeld'a.

Сюда относится, между прочимъ, работа Fornet'a und Müller'a¹⁾. Они примѣняютъ для инъекцій слѣдующій экстрактъ: берутъ въ $\frac{1}{4}$ килогр. вѣсомъ кусокъ лошадинаго мяса, обжигаютъ его со всѣхъ сторонъ на бунзеновской горѣлкѣ или опускаютъ на одну минуту въ кипящую воду, затѣмъ на стерильной тарелкѣ стерильнымъ ножомъ разрѣзаютъ кусокъ пополамъ и съ поверхности разрѣза соскабливаютъ около 50 гр. мяса, которое растираютъ въ стерильной ступкѣ и выжимаютъ. Затѣмъ прибавляютъ до двойного количества фізіологическаго раствора повареной соли и оставляютъ выщелачиваться 2—3 час. въ ледяномъ шкафу съ прибавленіемъ 10—20 кап. хлороформа въ темной бутылкѣ. Пропустивъ затѣмъ экстрактъ черезъ тонкое волосяное ситечко, сохраняютъ въ стерильныхъ пробиркахъ съ прибавленіемъ хлороформа на холоду. Fornet und Müller

1) Fornet und Müller. „Zur Herstellung und Verwendung präzipitierender Sera insbesondere für den Nachweis von Pferdefleisch.“ Zeitschr. für biolog. Technik und Methodik 1908—1909. Bd. 1.

примѣняли этотъ мышечный экстрактъ вмѣсто кровяной сыворотки для иммунизации, такъ какъ замѣтили, что его лучше переносить животныя, и что мышечный экстрактъ даетъ болѣе дѣятельную лошадиную антисыворотку.

Uhlenhuth, Weidanz und Wedemann предлагаютъ два способа: или фильтрование черезъ свѣчу, какъ совѣтуетъ Schmidt, или же по ихъ способу приготовленный экстрактъ. Для этого они берутъ равныя вѣсовыя количества скобленнаго мяса и физиологическаго раствора, смѣшиваютъ ихъ и оставляютъ на нѣсколько часовъ выщелачиваться; затѣмъ прессуютъ и сохраняютъ съ небольшимъ количествомъ хлороформа, который передъ впрыскиваніемъ удаляютъ нагрѣваніемъ. Но и тутъ авторы добавляютъ, что „покойнѣе и удобнѣе все же употреблять дефибринированную лошадиную кровь или лошадиную сыворотку“.

Изъ обзора этой литературы видно, почему Uhlenhuth все же старается избѣгнуть полученія мышечныхъ антисыворотокъ. Дѣйствительно, цѣлый рядъ въ началѣ неудачныхъ попытокъ получить преципитирующую сыворотку путемъ введенія мышечнаго сока или экстракта, затѣмъ удачные опыты Schmidt'a, но которые требуютъ обязательной стерильности этого сока, достигаемой фильтрованіемъ черезъ свѣчу Berkefeld'a; наконецъ, указанія Uhlenhuth'a, Weidanz'a и Wedemann'a, что возможно получение такихъ антисыворотокъ безъ фильтрованія, и то предпочтеніе, которое оказываютъ Fernet und Müller именно мышечнымъ преципитирующимъ сывороткамъ, даже безъ фильтрованія, — все это показываетъ, насколько неопредѣленно стоитъ въ настоящій моментъ вопросъ о методикѣ полученія преципитирующихъ сыворотокъ при введеніи животнымъ выжатаго мышечнаго сока или экстракта. Поэтому Uhlenhuth и предпочитаетъ пользоваться старымъ методомъ полученія антисыворотокъ — введеніемъ животнымъ дефибринированной крови или кровяной сыво-

воротки, хотя и признаетъ полную цѣлесообразность полученія мышечныхъ антисыворотокъ для изслѣдованія мясныхъ продуктовъ.

Что касается преимущества мышечныхъ преципитирующихъ сыворотокъ передъ сывороточными и преципитинами при изслѣдованіи мясныхъ продуктовъ, то авторы, работавшіе по этому вопросу, указываютъ, что таковое преимущество существуетъ, но точныхъ изслѣдованій не было сдѣлано до работы Schmidt'a, который, выработавъ свой методъ полученія мышечныхъ преципитиновъ, подвергнулъ ихъ параллельно съ сывороточными преципитинами болѣе точному изслѣдованію.

Правда, еще до изслѣдованій Schmidt'a можно было а priori предполагать, что таковое преимущество мышечныхъ преципитирующихъ сыворотокъ при изслѣдованіи мясныхъ продуктовъ должно существовать. Это выходило изъ работъ всѣхъ авторовъ, занимавшихся полученіемъ органо-специфическихъ сыворотокъ (Grund, Forssner, Ascoli, Weichardt и др.), выводъ которыхъ былъ тотъ, что сильнѣе всего преципитируютъ сыворотки съ тѣмъ веществомъ или, вѣрнѣе, съ тѣмъ бѣлкомъ, который служилъ для иммунизации животнаго, а затѣмъ уже значительно слабѣе съ другими бѣлками того же вида животныхъ. Отсюда надо было думать, что и преципитирующая сыворотка, полученная введеніемъ мышечныхъ бѣлковъ, должна сильнѣе реагировать съ мясными вытяжками, чѣмъ антисыворотки, полученные отъ иммунизации сывороточными бѣлками.

Это предположеніе болѣе или менѣе точно подтвердилъ Schmidt, который ставилъ слѣдующимъ образомъ опыты. Для испытанія антисыворотокъ онъ приготовлялъ 2%-ые растворы фильтрованного выжатаго сока изъ человѣческаго, лошадинаго и коровьяго мяса и изъ человѣческой кровяной сыворотки. Для опыта преципитации смѣшивалъ 5 капель преципитирующей сыворотки и 2 к. с. испытуемаго раствора,

и послѣ 24 часового стоянія при комнатной температурѣ опредѣлялъ количество осадка. Свои результаты Schmidt представилъ въ видѣ таблицы, которую приводимъ здѣсь.

Таблица № 39.

1	2 % раств. выж. сока изъ человѣч. мяса	+	Menschen-Pressaft-Antiserum	Момент. оч. сильн. реакц. Выс. осадка = 6 mm.
2	То же	+	Menschen-Blut-Antiserum	Очень слаб. помутн. Выс. осадка = 0,5 mm.
3	2 % раст. человѣч. кров. сывор.	+	Menschen-Pressaft-Antiserum	Момент. оч. сильн. реакц. Выс. осадка = 5 mm.
4	То же	+	Menschen-Blut-Antiserum	Момент. оч. сильн. реакц. Выс. осадка = 6 mm.
5	2% раств. выжат. коров. сока	+	Menschen-Pressaft-Antiserum	Остается вполне прозрачнымъ.
6	2% раств. выжат. лошад. сока	+	То же	То же
7	То же	+	Безъ прибавленія	То же

Изъ опытовъ 1-го и 2-го авторъ выводитъ заключеніе, что фильтрованный выжатый сокъ вызываетъ въ животномъ организмѣ особый преципитинъ мышечнаго бѣлка (Muskel-eiweisspräcipitin), благодаря которому съ растворомъ выжатаго сока получается сильный осадокъ, въ то время какъ кровяная антисыворотка даетъ очень слабую реакцію. Изъ опытовъ 1-го и 3-го выходитъ, что антисыворотка выжатаго сока вызываетъ обильный преципитатъ не только съ растворомъ выжатаго сока, но и съ растворомъ кровяной сыворотки; а сравненіе опытовъ 3-го и 4-го показываетъ, что антисыворотка выжатаго сока также сильно реагируетъ съ сывороточнымъ бѣлкомъ, какъ и очень дѣятельная кровяная антисывотка. Наконецъ, опыты 1, 5 и 6 указываютъ на специфичность преципитина мышечнаго бѣлка.

Изъ всего этого можно вывести заключеніе, что мышечный бѣлокъ отличается біологически отъ сывороточнаго бѣлка. Но если иммунизировать кролика выжатымъ мышечнымъ сокомъ, то получается преципитирующая сыворотка, которая обладаетъ

способностью реагировать какъ съ мышечнымъ бѣлкомъ, такъ и съ сывороточнымъ.

Въ этой двойной способности Schmidt и видитъ главное преимущество антисыворотокъ выжатаго сока при изслѣдованіи мясныхъ продуктовъ; и такъ какъ полученіе такихъ антисыворотокъ, по его мнѣнію, не представляетъ особаго труда, то Schmidt рекомендуетъ примѣнять всегда мышечный преципитинъ при изслѣдованіи мяса. Для этого онъ считаетъ необходимымъ, чтобы сыворотка была такой силы, что при смѣшиваніи въ вышеуказанномъ отношеніи, т. е. около 1 : 15, съ 2% растворомъ выжатаго сока тотчасъ получалось помутнѣніе, а черезъ 5 минутъ и образованіе хлопьевъ. Такія сыворотки получить легко; у автора же желательная интенсивность реакціи получалась даже съ 1/2% растворомъ выжатаго сока.

Считаю необходимымъ замѣтить здѣсь, что автору нужно было бы указать, каковыми титрами обладаютъ его антисыворотки, что могло бы разрѣшить одинъ вопросъ, который возникаетъ при разборѣ таблицы № 39. Дѣйствительно, антисыворотка выжатаго сока, если она обладаетъ высокимъ титромъ, т. е. сильно реагирующая, легко можетъ дать большой преципитатъ съ 2% растворомъ кровяной сыворотки, какъ это подтверждаютъ и мои опыты; но здѣсь надо принимать во вниманіе, что 2% растворъ кровяной сыворотки содержитъ гораздо больше бѣлковъ, чѣмъ 2% растворъ выжатаго сока, а это не можетъ не вліять на усиленіе реакціи. Съ другой стороны, если предположить, что антисыворотка кровяного бѣлка, наоборотъ, обладаетъ невысокимъ титромъ, то она съ 2% растворомъ кровяной сыворотки, конечно, еще даетъ обильный осадокъ, такъ какъ это очень крѣпкій растворъ бѣлка и даже слабо-преципитирующая сыворотка дастъ съ нимъ обильный осадокъ, зато съ 2% растворомъ выжатаго сока реакція будетъ незначительная. Такимъ образомъ и можетъ получиться такая рѣзкая разница въ

дѣйствиі преципитиновъ, мышечнаго и сывороточнаго, на 2% растворъ выжатаго сока

Но если даже принять во вниманіе эту возможность разницы въ титрахъ обѣихъ антисыворотокъ, то все же надо признать изъ этихъ опытовъ, что разница между мышечнымъ и сывороточнымъ бѣлками существуетъ, и что мышечный преципитинъ долженъ болѣе годиться для изслѣдованія мясныхъ продуктовъ.

Считая очень важнымъ вопросъ о преимуществѣ мышечнаго преципитина передъ сывороточнымъ при изслѣдованіи мясныхъ продуктовъ, мною тоже были поставлены опыты съ полученіемъ Nativ- und Hitze-Alkali — преципитиновъ введеніемъ животнымъ различныхъ мышечныхъ экстрактовъ и выжатаго мясного сока. Для полученія нативныхъ мышечныхъ преципитиновъ я впрыскивалъ только обыкновенные мышечные экстракты, полученные, какъ было описано выше, выщелачиваніемъ съ помощью физиологическаго раствора. Эти экстракты заготавливались мною заранее и хранились на холоду въ темныхъ стеклянкахъ съ прибавленіемъ хлороформа. Они не фильтровались черезъ фильтръ Berkefeld'a, и я пользовался ими только послѣ храненія въ теченіи нѣсколькихъ дней съ хлороформомъ. Такимъ образомъ я рассчитывалъ достигнуть большей или меньшей стерильности этихъ экстрактовъ и избѣгнуть гибели животныхъ. Это я дѣлалъ на основаніи тѣхъ соображеній, что удачные опыты иммунизации кроликовъ мышечнымъ выжатымъ сокомъ Fornet'a, Müller'a и Uhlenhuth'a безъ фильтрованія надо объяснять тѣмъ, что сокъ у нихъ держался нѣкоторое время съ хлороформомъ и терялъ отъ этого свою токсичность, какъ это было доказано, между прочимъ, и по отношенію къ кровяной сывороткѣ.

Опыты, повидимому, оправдали мои предположенія и изъ 5-ти кроликовъ, иммунизированныхъ нативными мышечными экстрактами, ни одинъ не погибъ и не далъ замѣт-

наго паденія вѣса во время иммунизации, что могло бы указывать на заболѣваніе его. Получали кролики первый разъ по 10 к. с., а затѣмъ по 25 к. с. внутрибрюшинно черезъ 2 дня въ третій, всего по 6 впрыскиваній; послѣ чего производилось взятіе крови изъ уха и, по опредѣленіи титра, обезкровливаніе кролика. Такъ какъ при храненіи экстрактовъ въ нихъ образовывался осадокъ, то я для впрыскиванія употреблялъ экстрактъ вмѣстѣ съ осадкомъ, удаливъ предварительно нагрѣваніемъ въ термостатѣ слѣды хлороформа. Вреда для кроликовъ при введеніи въ брюшную полость такого осадка не наблюдалось.

Всѣ эти антисыворотки, полученные иммунизацией кроликовъ нативными мышечными экстрактами, были подвергнуты изслѣдованіямъ съ тѣми же самыми растворами, съ которыми изслѣдовались нативные сывороточные преципитины. Такимъ образомъ я рассчитывалъ имѣть возможность провести полное сравненіе между мышечными и сывороточными нативными преципитинами.

А. Дѣйствіе на нативные бѣлки.

Таблица № 40 представляетъ опредѣленіе титра антисыворотокъ, т. е. преципитацию ихъ съ разведеніями нативныхъ мышечныхъ экстрактовъ.

Т а б л и ц а № 40.

№ кроликовъ	Антисыворотка	Лошад. экстр.					Коровій экстр.					Свин. экстр.				
		50	100	500	1000	5000	50	100	500	1000	5000	50	100	500	1000	5000
17	Лошадин.	++	++	+	+	?	+	0	0	—	—	?	0	0	—	—
18	"	++	+	+	+	0	+	0	0	—	—	+	0	0	—	—
19	Коровья	0	0	0	—	—	++	+	+	+	?	0	?	0	0	—
20	"	+	0	0	—	—	+	+	+	+	0	?	0	0	—	—
21	Свинная	0	0	0	—	—	0	0	0	—	—	+	+	0	0	0

Отсюда видно, что изъ 5-ти иммунныхъ сыворотокъ 3 дали преципитацию до разведенія 1:5000 включительно

(сыв. №№ 17, 18, 19), хотя двѣ изъ нихъ съ разведеніемъ 1:5000 дали только слѣды реакціи; 1 дала до разведенія 1:1000 (№ 20) и послѣдняя — № 21 преципитировала всего только до разведенія 1:100. Поэтому послѣдняя антисыворотка, какъ обладающая слишкомъ слабой преципитирующей силой, другимъ изслѣдованіямъ не подвергалась.

Что касается специфичности, которая изслѣдовалась вмѣстѣ съ опредѣленіемъ титра, то съ гетерологическими экстрактами помутнѣніе получалось не больше, какъ въ разведеніяхъ 1:50, и то въ нѣкоторыхъ случаяхъ здѣсь получался только намекъ на преципитацию; антисыворотка же № 21 обладала полной специфичностью.

Преципитатъ съ гомологическими экстрактами получался обильный, въ особенности съ болѣе крѣпкими растворами (1:50 и 1:100), и появлялся черезъ 1—2 минуты послѣ насаиванія на преципитинъ экстракта. Съ гетерологическими бѣлками преципитатъ, наоборотъ, былъ очень незначительный и появлялся несравненно медленнѣе (черезъ 10—15 минутъ). Въ общемъ теченіе реакціи въ этомъ случаѣ вполнѣ похоже на реакцію при дѣйствіи нативныхъ сывороточныхъ преципитиновъ на неизмѣненную кровяную сыворотку. Химически бѣлокъ опредѣлялся только въ разведеніяхъ экстрактовъ 1:500, давая и въ этомъ разведеніи реакцію не со всѣми химическими реактивами на бѣлокъ, какъ это видно изъ таблицы № 81.

Надо еще добавить, что всѣ антисыворотки были испытаны, не даютъ-ли самостоятельнаго помутнѣнія съ физиологическимъ растворомъ хлористаго натра, а экстракты въ разведеніи 1:50 съ нормальной кроличьей сывороткой. Всѣ эти повѣрочные опыты дали отрицательный результатъ. Реакція экстрактовъ уже въ разведеніи 1:50 была нейтральная на лакмусъ.

Наконецъ, эти антисыворотки были изслѣдованы мною 3 раза на экстракты, въ различное время приготовленные,

чтобы такимъ образомъ рѣшить вопросъ, не зависитъ-ли титръ въ значительной степени отъ содержанія бѣлка въ томъ или иномъ экстрактѣ; оказалось, что колебанія столь незначительны, что не могутъ быть принимаемы во вниманіе.

Таблица № 41.

№№ кролик.	Антисывор.	Лошадин. сыворотка								Коровья сыворотка								Свиная сыворотка							
		50	100	500	1000	5000	10000	15000	20000	50	100	500	1000	5000	10000	15000	20000	50	100	500	1000	5000	10000	15000	20000
17	Лош.	++	++	+	+	+	+	0	0	+	0	0	—	—	—	—	—	+	0	0	—	—	—	—	—
18	"	++	++	++	+	+	+	+	0	?	0	0	—	—	—	—	—	+	0	0	—	—	—	—	—
19	Кор.	+	0	0	—	—	—	—	—	++	++	++	++	++	+	?	0	?	0	0	—	—	—	—	—
20	"	+	0	0	—	—	—	—	—	++	++	++	++	++	+	?	0	0	0	0	—	—	—	—	—

Въ этихъ опытахъ также теченіе реакціи имѣло много общаго съ реакціей нативныхъ сывороточныхъ преципитиновъ на нативную кровяную сыворотку: помутнѣніе появлялось почти непосредственно послѣ прилитія кровяной сыворотки и преципитатъ получался очень обильный, въ особенности въ разведеніяхъ 1:50, 1:100 и 1:500. Если сравнить преципитатъ въ этомъ опытѣ съ преципитатомъ предыдущаго опыта, то первый несравненно больше второго. Такъ точно и разведенія кровяной сыворотки, съ которыми происходитъ еще реакція, значительно большія, чѣмъ при дѣйствіи тѣхъ же мышечныхъ преципитиновъ на экстракты изъ мяса (таблица № 40). Дѣйствительно, съ мышечными экстрактами эти преципитины реагировали самое большее въ разведеніяхъ 1:1000 и 1:5000, а здѣсь три антисыворотки давали еще реакцію въ разведеніяхъ 1:15000 и одна — 1:10000.

Объясненіе этому, по моему мнѣнію, надо искать главнымъ образомъ въ значительно большемъ содержаніи бѣлковъ въ сывороткахъ по сравненію съ экстрактами; такъ и химическими способами, какъ было упомянуто, бѣлокъ опредѣлялся еще въ сывороткахъ, разведенныхъ 1:5000 физіо-

логическимъ растворомъ, по Эсбаху сыворотки содержатъ 47,2—68,2⁰/₁₀₀ бѣлка, а мышечные экстракты — 7,9—9,9⁰/₁₀₀. Отъ этой разницы зависитъ и образованіе значительно большаго преципитата съ разведеніями кровяной сыворотки. Реакція съ гетерологическими бѣлками или совсѣмъ не получалась или получалась только съ разведеніями 1:50.

Но возможно также, что при введеніи въ организмъ животному мышечныхъ бѣлковъ въ сывороткѣ вырабатывается больше общихъ для сывороточныхъ бѣлковъ преципитиновъ, чѣмъ, наоборотъ, при введеніи сывороточныхъ бѣлковъ вырабатывается общихъ для мышечныхъ бѣлковъ преципитиновъ. Такая выработка большаго количества общихъ преципитиновъ, а также большое количество бѣлка въ сывороткѣ, вполне объяснило-бы такую реакцію мышечныхъ преципитиновъ съ сывороткой, какъ это наблюдается въ этомъ опытѣ.

Такимъ образомъ и здѣсь я считаю нужнымъ указать, какъ и послѣ опытовъ съ нативными сывороточными преципитинами, что, опредѣляя титръ той или иной преципитирующей сыворотки, необходимо указывать, съ какимъ растворомъ опредѣлялся этотъ титръ, или что то же самое: сравнивая титръ двухъ антисыворотокъ, надо всегда имѣть въ виду, на одинаковое-ли преципитируемое вещество опредѣлялся ихъ титръ; такъ напримѣръ: сыворотку, которая получена введеніемъ мышечныхъ экстрактовъ и реагируетъ со своимъ антигеномъ въ разведеніи 1:1000 и 1:5000, надо считать сывороткой сильно дѣйствующей; тогда какъ сыворотка, полученная послѣ иммунизации кролика кровяной сывороткой и также реагирующая со своимъ антигеномъ, т. е. сывороткой, въ разведеніи 1:1000 или 1:5000, должна считаться обладающей средней преципитирующей силой. Хотя титръ здѣсь одинаковъ въ обѣихъ сывороткахъ, но играетъ большое значеніе то преципитируемое вещество, съ которымъ

опредѣлялся титръ. Поэтому то у Куррота на стр. 69 его диссертации получается 2 титра, значительно отличающіеся другъ отъ друга: для одной сыворотки (крол. № 16) одинъ относительно раствора сыворотки (1:20000), а другой — относительно раствора препарата *Schütze* (1:10000). Авторъ ничего не говоритъ объ этомъ, но, по моему мнѣнію, только разницей въ преципитируемомъ веществѣ и можно объяснить эту разницу въ титрахъ.

Сравнивая теперь дѣйствія нативныхъ мышечныхъ и сывороточныхъ преципитиновъ на неизмѣненные кровяные сыворотки и мышечные экстракты, мы видимъ, что мышечные преципитины, обладая почти одинаковой съ сывороточными преципитинами способностью реагировать на нативную кровяную сыворотку, на мышечный бѣлокъ дѣйствуютъ сильнѣе сывороточныхъ преципитиновъ. Такимъ образомъ здѣсь подтверждается сдѣланное ранѣе наблюденіе, что изъ двухъ антисыворотокъ реагируетъ сильнѣе на какое либо вещество та антисыворотка, которая иммунизировалась введеніемъ именно этого вещества.

На основаніи этихъ опытовъ я также долженъ согласиться съ мнѣніемъ *Schmidt*'а, что мышечный преципитинъ имѣетъ преимущество передъ сывороточнымъ преципитиномъ въ томъ отношеніи, что кромѣ реакціи съ мышечнымъ бѣлкомъ, онъ обладаетъ большою способностью къ реакціи съ сывороточнымъ бѣлкомъ; тогда какъ сывороточный преципитинъ проявляетъ очень слабую реакцію съ мышечнымъ бѣлкомъ. *Schmidt* не даетъ никакого объясненія этому явленію. Мнѣ же представляется весьма вѣроятнымъ, что причина зависитъ, во-первыхъ, отъ разницы въ содержаніи бѣлковъ въ сывороткѣ и мышечномъ экстрактѣ и, во-вторыхъ, можетъ быть, въ различной выработкѣ общихъ преципитиновъ въ тѣхъ и другихъ антисывороткахъ, такъ какъ самъ *Schmidt* отбрасываетъ еще

одно возможное предположеніе, что то небольшое количество (слѣды) крови, которое содержится въ мясѣ, можетъ вызвать такое сильное образованіе сывороточныхъ преципитиновъ въ организмѣ животнаго.

Нѣкоторое количество ихъ безусловно образуется, но главная роль принадлежитъ общимъ преципитинамъ. Для практики же, конечно, полученіе мышечныхъ преципитиновъ играетъ большое значеніе, такъ какъ, будучи болѣе пригодными для изслѣдованія мясныхъ продуктовъ, они могутъ быть примѣняемы и для судебно-медицинскихъ цѣлей: для дифференцированія крови того или другого вида животныхъ.

Б. Дѣйствіе на бѣлки денатурированные по Schmidt'y.

Далѣе мышечные преципитины изслѣдовались мною на сыворотку и мышечный экстрактъ, обработанные по способу Schmidt'a съ послѣдующей нейтрализаціей; разведенія дѣлались отъ 1 : 50 и выше. Однако ни съ сывороткой, ни съ мышечнымъ экстрактомъ преципитации не получилось даже въ разведеніи 1 : 50.

В. Дѣйствіе на 100°-бѣлки.

Такіе же отрицательные результаты получились при дѣйствіи мышечныхъ преципитиновъ на сыворотку и мышечный экстрактъ, которые въ разведеніи 1 : 50 съ физиологическимъ растворомъ подвергались нагрѣванію въ теченіи 30 минутъ въ кипящей банѣ, а также съ мышечнымъ экстрактомъ и сывороткой, подвергнутыми такому же нагрѣванію, но въ разведеніи 1 : 25 съ 0,1% растворомъ соды, благодаря чему устранялось свертываніе бѣлка, какъ это было въ разведеніяхъ съ физиологическимъ растворомъ.

Все эти опыты показываютъ, что нативные мышечные преципитины относятся совершенно

индифферентно къ денатурированнымъ по Schmidt'y и кипяченіемъ съ содой и безъ нея бѣлками.

Здѣсь мы видимъ полную аналогію между нативными мышечными и сывороточными преципитинами, такъ какъ и послѣдніе не реагировали съ бѣлками, ни мышечными, ни сывороточными, подвергнутыми той или другой изъ вышеупомянутыхъ обработокъ.

Г. Дѣйствіе на бѣлокъ денатурированный щелочью при комнатной температурѣ и при 70°.

Подобно тому какъ нативные сывороточные преципитины изслѣдовались на сыворотку, подвергнутую дѣйствію щелочи при комнатной температурѣ и при 70° въ теченіи 15 минутъ и послѣ того нейтрализованную, также и мышечные преципитины были изслѣдованы на такимъ же способомъ обработанные ѣдкой щелочью мышечные экстракты. При чемъ одна часть экстракта, разведеннаго физиологическимъ растворомъ и смѣшаннаго съ нормальнымъ растворомъ ѣдкаго натра въ пропорціи указанной Schmidt'омъ, подвергалась дѣйствію щелочи при комнатной температурѣ, другая часть — при 70°.

Таблица № 42.

№ Кроликовъ	Антисывор.	Мышечный экстрактъ обработ. щелочью 15 м. при ком. t°									
		Лошадинный					Коровий				
		50	100	500	1000	5000	50	100	500	1000	5000
17	Лошад.	++	+	+	+	0	+	0	0	—	—
18	"	+	+	+	+	0	+	0	0	—	—
19	Коров.	?	0	0	—	—	+	+	+	0	0
20	"	+	0	0	—	—	+	+	+	?	0

Изъ этой таблицы видно, что обработка щелочью мышечнаго экстракта при комнатной температурѣ производитъ настолько незначительныя измѣненія мышечныхъ бѣлковъ,

что преципитация съ нативными преципитинами почти не страдает. Замѣчается только незначительное уменьшение титра со своими экстрактами, специфичность же остается такой же, какъ и съ неизмѣненными мышечными экстрактами. Этотъ опытъ подтверждаетъ одинаковый опытъ съ сывороточными нативными преципитинами и, наоборотъ, опять противорѣчить опытамъ Schmidt'a, у котораго нативный преципитинъ не реагировалъ съ сывороткой, подвергнутой дѣйствию NaOH при комнатной температурѣ.

Совершенно другое получается при дѣйстви щелочи и 70° температуры; здѣсь денатурирование бѣлка идетъ такъ далеко, что не получается преципитации даже съ разведеніемъ 1:50.

Д. Дѣйствіе на экстракты изъ органовъ.

Затѣмъ мною были поставлены опыты преципитации мышечными преципитирующими сыворотками экстрактовъ

Таблица № 43.

№№ Кроликовъ	Антисывор.	Натуральный экстрактъ изъ печени									
		Лошад и				Коровы				Свиньи	
		50	100	500	1000	50	100	500	1000	50	100
17	Лошад.	+	+	0	0	0	0	—	—	0	0
18	"	+	+	+	0	0	0	—	—	0	0
19	Коров.	0	0	—	—	+	+	0	0	0	0
20	"	0	0	—	—	+	+	?	0	0	0

Таблица № 44.

№№ Кроликовъ	Антисывор.	Натуральный экстрактъ изъ почки									
		Лошад и				Коровы				Свиньи	
		50	100	500	1000	50	100	500	1000	50	100
17	Лошад.	+	+	+	0	0	0	—	—	0	0
18	"	+	+	+	0	0	0	—	—	0	0
19	Коровья	0	0	—	—	+	+	+	?	0	0
20	"	0	0	—	—	+	+	+	?	0	0

Таблица № 45.

№ № Кроликовъ	Антисывор.	Натуральный экстрактъ изъ селезенки									
		Лошад и				Коровы				Свиньи	
		50	100	500	1000	50	100	500	1000	50	100
17	Лошад.	+	+	?	0	0	0	—	—	0	0
18	"	+	+	+	0	0	0	—	—	0	0
19	Коровья	0	0	—	—	+	+	+	0	0	0
20	"	0	0	—	—	+	+	+	0	0	0

изъ почки, печени и селезенки для рѣшенія вопроса, содержатся-ли въ этихъ антисывороткахъ общіе преципитины для этихъ экстрактовъ. Методика была такая же, какъ и въ другихъ опытахъ съ экстрактами изъ органовъ.

Изъ приведенныхъ опытовъ можно вывести заключеніе, что въ сывороткѣ кролика, иммунизируемаго мышечными бѣлками, также какъ и при иммунизации сывороточными бѣлками, образуются кромѣ специфичныхъ для мышечнаго бѣлка преципитиновъ и общіе, которыми и обусловливается появленіе реакціи съ экстрактами изъ органовъ. Такъ какъ такихъ общихъ преципитиновъ вырабатывается въ сывороткѣ кролика меньше, чѣмъ специфичныхъ, а количество бѣлка въ мышечныхъ экстрактахъ и экстрактахъ изъ органовъ приблизительно одинаково (см. табл. №№ 81 и 82), то этимъ и объясняется, что преципитация антисыворотокъ съ экстрактами изъ органовъ слабѣе, а потому надо ожидать, что реакція окончится при меньшихъ разведеніяхъ, чѣмъ это получается со своимъ антигеномъ. Опыты, дѣйствительно, и подтверждаютъ это предположеніе, такъ какъ наибольшее разведеніе, при которомъ получается еще преципитация, это 1:500; и только 2 антисыворотки (№№ 19 и 20) дали слѣды реакціи съ разведеніями коровьяго почечнаго экстракта 1:1000; а другія двѣ (№№ 17 и 19) съ печеночнымъ экстрактомъ реагировали только 1:100.

Такимъ образомъ съ экстрактами изъ органовъ мышеч-

ные преципитины реагируют все, но в болье крепких разведеніях; съ гетерологическими экстрактами реакціи не получалось. Сильнѣ всего реакція здѣсь протекала съ почечнымъ экстрактомъ, затѣмъ съ селезеночнымъ и печеночнымъ; что же касается отдѣльныхъ антисыворотокъ, то надо предположить, что выработка общихъ преципитиновъ, какъ это было замѣчено и раньше, идетъ очень индивидуально, отчего одна антисыворотка, какъ содержащая больше общихъ преципитиновъ для почечнаго экстракта, реагируетъ съ нимъ сильнѣе и, наоборотъ, бѣдная общими для печеночныхъ бѣлковъ преципитинами, даетъ съ этимъ экстрактомъ реакцію только въ небольшихъ разведеніяхъ; другая же антисыворотка можетъ представлять совершенно другія отношенія къ экстрактамъ, благодаря тому, что выработка общихъ преципитиновъ въ этой сывороткѣ шла въ другомъ направленіи, если, напримѣръ, вырабатывалось больше общихъ преципитиновъ для печеночныхъ бѣлковъ и меньше для почечныхъ. Но въ общемъ, какъ было только что сказано, въ сывороткахъ имѣется склонность вырабатывать большее количество общихъ для почечныхъ бѣлковъ преципитиновъ.

Испытаніе этихъ антисыворотокъ на экстракты изъ органовъ въ обработкѣ Schmidt'a или нагрѣваніемъ до 100° (съ содой и безъ нея) дало совершенно отрицательные результаты.

Е. Дѣйствіе элективнаго насыщенія на сыворотки.

Мышечныя преципитирующие сыворотки я не подвергалъ элективному насыщенію экстрактами изъ какого либо органа, такъ какъ на основаніи существующей литературы, а также моихъ опытовъ, можно быть увѣреннымъ, что ихъ удастся вполне насытить бѣлками того или другого органа и сдѣлать такимъ образомъ антисыворотку специфичной для опредѣленныхъ бѣлковъ. Вопросъ заключается только въ

томъ, что сыворотки, полученныя введеніемъ экстрактовъ изъ различныхъ органовъ, какъ показали Grund, Forssner и др., различаются только большей или меньшей легкостью къ насыщенію опредѣленнымъ бѣлкомъ. Поэтому нельзя и здѣсь ожидать какой-либо существенной разницы въ отношеніи къ насыщенію между сывороточными и мышечными преципитинами.

Методъ элективнаго насыщенія по Weichardt'у примѣнялся мною къ мышечнымъ преципитинамъ съ цѣлью ближе подойти къ объясненію причинъ, отъ чего зависитъ получение такой сильной реакціи при дѣйствіи мышечныхъ преципитиновъ на кровяную сыворотку. Для этого мною однѣ и тѣ же двѣ мышечныя антисыворотки насыщались, съ одной стороны, неизмѣненной кровяной сывороткой, съ другой стороны, — своимъ же мышечнымъ экстрактомъ. Для опытовъ бралось по 5 к. с. преципитирующихъ сыворотокъ и прибавлялось послѣдовательно по 0,5; 0,4; 0,3 а иногда и 0,2 или мышечнаго экстракта или сыворотки, пока не получится полного насыщенія. При этомъ надо замѣтить, что какъ при прибавленіи мышечнаго экстракта, такъ и кровяной сыворотки въ антисывороткѣ всякій разъ, въ особенности же при первыхъ насыщеніяхъ (прибавленіяхъ), образовывался большой осадокъ. Антисыворотки по отношенію къ насыщаемому веществу испытывались послѣ каждого насыщенія, а по отношенію къ ненасыщаемому веществу только 2 раза: передъ началомъ насыщенія и въ концѣ его.

Результаты этихъ опытовъ сведены въ одну таблицу (со свиной сывороткой и экстрактомъ преципитации не ставилось).

Изъ этихъ опытовъ видно, что существуетъ большая разница между насыщеніемъ мышечныхъ антисыворотокъ кровяной сывороткой и мышечнымъ экстрактомъ. Въ первомъ случаѣ, т. е. при насыщеніи кровяной сывороткой, наблюдается полное уничтоженіе у этихъ антисыворотокъ

способности реагировать съ кровяной сывороткой, а съ мышечнымъ экстрактомъ преципитация и послѣ насыщенія сохраняется, хотя и ослаблена довольно значительно (вмѣсто бывшаго до насыщенія титра 1 : 5000 теперь получается 1 : 500).

Не то мы видимъ при насыщеніи своимъ антигеномъ, т. е. мышечнымъ экстрактомъ: здѣсь полностью уничтожается преципитирующая способность къ мышечному экстракту, а съ кровяной сывороткой реакція получается только въ разведеніи 1 : 50, и то одинъ разъ и очень слабая реакція. (сывор. № 18).

Все это вполнѣ подтверждаетъ наше предположеніе, что при дѣйствіи мышечныхъ преципитиновъ на кровяную сыворотку преципитатъ образуется главнымъ образомъ вслѣдствіе существованія общихъ преципитиновъ, а не специфичныхъ къ кровяной сывороткѣ.

Дѣйствительно, при насыщеніи своимъ антигеномъ происходитъ связываніе какъ специфичныхъ, такъ и общихъ преципитиновъ, въ результатъ чего — уничтоженіе вполнѣ реакціи съ экстрактомъ. Этого нельзя сказать по отношенію къ кровяной сывороткѣ, такъ какъ здѣсь реакція замѣтна въ разведеніи 1 : 50. Этотъ остатокъ реакціи надо объяснить, какъ уже указывалось мной раньше, тѣмъ, что незначительное количество крови, находящейся въ органахъ, вызвало при иммунизации кролика образованіе специфичныхъ для кровяного бѣлка преципитиновъ, а таковые при насыщеніи мышечными бѣлками останутся въ антисывороткѣ и дадутъ такимъ образомъ этотъ остатокъ реакціи; но, конечно, нельзя этимъ незначительнымъ количествомъ преципитиновъ объяснить всю силу реакціи съ кровяной сывороткой.

Что же касается насыщенія мышечныхъ преципитирующихъ сыворотокъ кровяными сывороточными бѣлками, то здѣсь происходитъ связываніе общихъ преципитиновъ, а также отчасти специфичныхъ для крови, но специфичные мышечные преципитины остаются, отчего антисыворотки

Таблица № 46.

№ кроликовъ	Антисывор.	Чѣмъ насы- щалась	Кол. антисыв.	Кол. нас. вѣщ.	Вр. сынач. нас.	Мышечный экстрактъ		Кровяная сыворотка	
						Лошади	Коровы	Лошади	Коровы
18	Лошад.	До насыщения Лошад. экстр.	5	0,5 0,9 1,2	24 48 72	50 100 300 1000 5000 10000	50 100 300 1000 5000 10000 15000 20000	50 100 300 1000 5000 10000 15000 20000	0 0 0 0 0 0 0 0
18	Лошад.	До насыщения Лошад. сывор.	5	0,5 0,9 1,2	24 48 72	50 100 300 1000 5000 10000	50 100 300 1000 5000 10000 15000 20000	50 100 300 1000 5000 10000 15000 20000	0 0 0 0 0 0 0 0
19	Коров.	До насыщения Коров. экстр.	5	0,5 0,9 1,2	24 48 72	50 100 300 1000 5000 10000	50 100 300 1000 5000 10000 15000 20000	50 100 300 1000 5000 10000 15000 20000	0 0 0 0 0 0 0 0
19	Коров.	До насыщения Коров. сывор.	5	0,5 0,9 1,2	24 48 72	50 100 300 1000 5000 10000	50 100 300 1000 5000 10000 15000 20000	50 100 300 1000 5000 10000 15000 20000	0 0 0 0 0 0 0 0

способны еще довольно значительно реагировать съ мышечными экстрактами.

Этими специфичными для мышечных бѣлковъ преципитинами, повидимому, и надо объяснить то преимущество, которое имѣютъ мышечныя преципитирующія сыворотки передъ сывороточными при изслѣдованіи мясныхъ продуктовъ.

Результаты всѣхъ опытовъ, поставленныхъ съ нативными мышечными преципитинами, собраны въ слѣдующую таблицу, гдѣ обозначенія будутъ тѣ же, какъ въ сводныхъ таблицахъ въ предыдущихъ отдѣлахъ.

Таблица № 47.

Антисыворотка, полученная отъ введенія нативныхъ мышечныхъ бѣлковъ.

Растворы	Результ.	Растворы	Результ.	Растворы	Результ.
Нат. мыш. экстр.	+++	Мыш. экстр. съ физ. р. 100° — 30'	0	Мыш. экстр. + NaOH 15' — комн. t°	+++
Нат. сыв-ка	++++	Сыв-ка съ физ. раств. 100° — 30'	0	Почечн. экстр.	++
Мыш. экстр. по Schm.	0	Мыш. экстр. + 0,1% соды 100° — 30'	0	Печен. экстр.	+
Сыв-ка по Schm.	0	Сыв-ка + 0,1% соды 100° — 30'	0	Селезен. экстр.	++

1. Удастся безъ потери животныхъ получить нативную мышечную преципитирующую сыворотку съ достаточно высокимъ титромъ, если только мышечный экстрактъ до впрыскиванія животнымъ продержатъ нѣсколько дней съ хлороформомъ.
2. Нативные мышечные преципитины обладаютъ всѣми

свойствами нативныхъ сывороточныхъ преципитиновъ, давая такую же ширину реакціонной способности, заключая въ себѣ какъ общіе, такъ и специфичные преципитины и т. д.

3. Преимущество мышечныхъ преципитиновъ передъ сывороточными заключается въ слѣдующемъ: во-первыхъ, мышечные преципитины сильнѣе реагируютъ съ мышечными бѣлками, и, во вторыхъ, обладаютъ почти одинаковой способностью съ сывороточными преципитинами реагировать съ сывороточными бѣлками. А потому необходимо рекомендовать примѣненіе нативныхъ мышечныхъ преципитиновъ при изслѣдованіи мясныхъ продуктовъ, такъ какъ эти же преципитины вполне пригодны и для изслѣдованія крови въ судебно-медицинскихъ цѣляхъ.

Глава 9.

Преципитины, полученные отъ введенія мышечныхъ экстрактовъ денатурированныхъ по Schmidt'y.

Въ виду выяснившихся изъ опытовъ съ нативными мышечными преципитинами преимуществъ этихъ преципитиновъ передъ сывороточными мною были поставлены опыты иммунизации кроликовъ мышечными экстрактами, обработанными нагрѣваніемъ и щелочью по способу Schmidt'a. Но только Schmidt'омъ такое денатурирование было предложено для полученія сывороточнаго Hitze-Alkali-преципитина, я же ставилъ опыты, рассчитывая получить мышечные Hitze-Alkali-преципитины и такимъ образомъ соединить, въ случаѣ удачныхъ результатовъ, свойства мышечныхъ преципитиновъ съ преимуществами Hitze-Alkali-преципитиновъ.

При иммунизации мышечнымъ экстрактомъ, подвергну-

тымъ предварительно обработкѣ по способу Schmidt'a, не надо беспокоиться о возможной токсичности вводимой жидкости, такъ какъ, если правильно предположеніе Schmidt'a, что токсичность мясного сока зависитъ отъ содержанія въ немъ бактерій, то въ данномъ случаѣ и нагреваніе и дѣйствіе щелочи безусловно обезвреживаютъ въ этомъ отношеніи инъекціонный матеріалъ. Дѣйствительно, гибели кроликовъ у меня не наблюдалось.

При приготовленіи инъекціонной жидкости замѣчается, въ отличіе отъ приготовленія жидкости изъ кровяной сыворотки, что послѣ нагреванія при 70° въ теченіи 30 минутъ жидкость получается не только густая, но и содержащая много хлопьевъ, повидимому, бѣлка; однако, при прибавленіи указаннаго количества раствора ѣдкаго натра жидкость становится легко подвижной и хлопья растворяются, такъ что въ концѣ концовъ инъекціонная жидкость представляется на видъ такой же, какъ и жидкость изъ сыворотки. При стояніи ея уже послѣ обработки щелочью также выпадаетъ при полномъ охлажденіи незначительный мелкій бѣловатый осадокъ. Нейтрализаціи этой щелочной жидкости я также не примѣнялъ.

Мышечными экстрактами, полученными выщелачиваніемъ мяса физиологическимъ растворомъ поваренной соли и обработанными по способу Schmidt'a, я иммунизировалъ 6 кроликовъ (№№ 22—27): по 2 кролика лошадинымъ, коровьимъ и свинымъ мышечными экстрактами. Впрыскиванія производились черезъ два дня въ третій по 20—25—30 к. с. въ брюшную полость, при чемъ антигенъ приготовлялся предъ каждымъ впрыскиваніемъ новый и по охлажденіи впрыскивался. Всѣ кролики получили по 15 впрыскиваній, такъ какъ черезъ 10—11 впрыскиваній взятая изъ уха кровь давала еще недостаточно высокій титръ, что объясняется, можетъ быть, малымъ содержаніемъ бѣлковъ въ антигенѣ. Переносили, какъ было уже упомянуто, эти впрыскиванія

кролики довольно легко, нѣкоторые даже дали повышеніе въ вѣсѣ къ концу иммунизациі.

А. Дѣйствіе на бѣлки денатурированные по Schmidt'y.

Полученныя такимъ способомъ мышечныя антисыворотки по Schmidt'y изслѣдовались мной съ различными бѣлками, въ различныхъ состояніяхъ.

Такимъ образомъ при опредѣленіи титра этихъ антисыворотокъ, какъ показываетъ эта таблица, оказалось, что

Таблица № 48.

№ № Кроликовъ	Антисывор.	Мышечный экстрактъ обработанный по сп. Schm.														
		Л о ш а д и					К о р о в ы					С в и н ь и				
		25	50	100	250	500	25	50	100	250	500	25	50	100	250	500
22	Лошад.	+	+	+	?	0	+	0	—	—	—	?	0	—	—	—
23	"	+	+	+	+	0	+	0	—	—	—	+	0	—	—	—
24	Коров.	+	0	—	—	—	+	+	+	+	0	+	0	—	—	—
25	"	+	?	—	—	—	+	+	+	+	?	+	0	—	—	—
26	Свиная	?	0	—	—	—	+	0	—	—	—	+	+	+	+	0
27	"	0	0	—	—	—	0	0	—	—	—	+	+	+	0	0

4 антисыворотки преципитировали до разведенія 1:250 включительно, одна (№ 25) до 1:500 и, наконецъ, 6-ая (№ 27) — 1:100. Такимъ образомъ титръ выше 1:250 поднимался только у одной антисыворотки. Надо замѣтить, что преципитатъ появлялся медленно (15—20 мин.) и былъ незначительный; а весь ходъ реакціи напоминалъ реакцію сывороточныхъ Hitzе-Alkali-преципитиновъ со своимъ антигеномъ, такъ что наблюденіе за ходомъ реакціи продолжалось въ теченіи 1 часа.

Полной специфичности у этихъ сыворотокъ не наблюдалось, такъ какъ онѣ реагировали въ большинствѣ случаевъ съ чужимъ экстрактомъ въ разведеніи 1:25, а сывор. № 25 съ лошадинымъ экстрактомъ даже въ разведеніи 1:50, что конечно при маломъ титрѣ этихъ антисыво-

ротокъ является довольно значительной реакціей. И только сывор. № 27 дала полную специфичность.

Такое отсутствіе полной специфичности у большинства сыворотокъ можно также объяснить существованіемъ наряду съ „видовой“ специфичностью „специфичности состоянія“. Полученіе такого недостаточно высокаго титра у мышечныхъ преципитирующихъ сыворотокъ Schmidt'a можетъ зависеть отъ двухъ причинъ: съ одной стороны, полученіе сильно-дѣйствующихъ сыворотокъ при иммунизации денатурированными нагрѣваніемъ бѣлками, какъ это было замѣчено авторами, вообще затруднительно, а съ другой стороны, содержаніе бѣлковъ въ мышечныхъ экстрактахъ, обработанныхъ по Schmidt'y, очень незначительно, такъ что химически бѣлокъ можно опредѣлить только до разведенія 1:100, и то не всѣми химическими реактивами.

Обычныя контрольныя пробирки съ иммунными сыворотками и физиологическимъ растворомъ, а также съ мышечными экстрактами и нормальной кроличьей сывороткой не дали помутнѣній.

Сравнивая реакціи сывороточныхъ и мышечныхъ Hitze-Alkali-преципитиновъ, надо признать, что вторые сильнѣе дѣйствуютъ на мышечные экстракты, денатурированные по Schmidt'y. Этого и надо было ожидать, такъ какъ мышечный экстрактъ въ обработкѣ по Schmidt'y является антигеномъ для мышечнаго Hitze-Alkali-преципитина, а въ такомъ случаѣ реакція должна быть болѣе сильная.

Такимъ образомъ явленіе, наблюдаемое при сравненіи дѣйствій нативныхъ мышечныхъ и сывороточныхъ преципитиновъ на мышечный экстрактъ, повторяется и съ Hitze-Alkali-преципитинами и даетъ этимъ самымъ преимущество и здѣсь мышечному преципитину, въ особенности, если сравнить еще, какъ мы увидимъ дальше, ихъ дѣйствіе на сыворотку, подвергнутую обработкѣ по Schmidt'y.

Такимъ образомъ и здѣсь, какъ и въ нативныхъ мы-

шечныхъ сывороткахъ, мы замѣчаемъ значительно болѣе сильную реакцію съ сывороткой, обработанной по Schmidt'y, по сравненіи со своимъ мышечнымъ антигеномъ. Здѣсь реакція съ гомологической сывороткой получается еще въ разведеніи 1:5000 у 4-хъ сыворотокъ, 1:10000 и 1:1000 у двухъ остальныхъ. Такимъ образомъ это значительно превосходитъ титръ антисыворотокъ относительно мышечныхъ экстрактовъ. Гетерологическія помутнѣнія также получаются въ большихъ разведеніяхъ, а именно 1:50 и даже 1:100. Преципитатъ получается и больше и скорѣе (5—10 минутъ), чѣмъ съ мышечнымъ экстрактомъ, денатурированнымъ по способу Schmidt'a.

Таблица № 49.

№. кролик.	Антисывор.	Сыворотка обработанная по спос. Schmidt'a																				
		Л о ш а д и						К о р о в ы						С в и н ь и								
		25	50	100	500	1000	5000	10000	25	50	100	500	1000	5000	10000	25	50	100	500	1000	5000	10000
22	Лошад.	++	++	++	+	+	+	0	+	?	0	-	-	-	-	+	?	0	-	-	-	-
23	"	++	++	++	+	+	+	0	+	+	0	-	-	-	-	+	+	0	-	-	-	-
24	Коров.	+	+	+	0	0	-	-	++	++	++	+	+	+	0	+	+	0	-	-	-	-
25	"	+	+	+	0	0	-	-	++	++	+	+	+	0	0	+	0	0	-	-	-	-
26	Свиная	+	+	+	0	-	-	-	+	?	0	0	-	-	-	++	++	++	+	+	+	?
27	"	+	+	+	0	-	-	-	+	?	0	0	-	-	-	++	++	++	+	+	+	0

Объяснить такое усиленіе реакціи мышечнаго Hitze-Alkali-преципитина при дѣйствіи его на сывороточный антигенъ Schmidt'a можно только тѣмъ же, чѣмъ объяснялся такой же фактъ въ дѣйствіяхъ нативнаго мышечнаго преципитина, а именно: большимъ содержаніемъ бѣлка въ сывороткѣ по сравненію съ экстрактомъ, а также предположеніемъ, что при иммунизации кролика мышечнымъ экстрактомъ въ сывороткѣ появляется много общихъ для другихъ бѣлковъ этого же вида животныхъ преципитиновъ, которые и реагируютъ съ сывороточными бѣлками.

Б. Дѣйствіе на нативные бѣлки.

Далѣе антисыворотки были испытаны на нативный мышечный экстрактъ и на нативную кровяную сыворотку.

Съ нативнымъ мышечнымъ экстрактомъ антисыворотки реагируютъ приблизительно съ такой же силой, съ какой онѣ преципитируютъ свой антигенъ; при этомъ нѣкоторыя реагируютъ сильнѣе съ нативнымъ мышечнымъ экстрактомъ, другія слабѣе; но въ общемъ колебанія эти незначительны. Гетерологическія помутнѣнія дала только антисыворотка № 24 въ разведеніи 1:25 съ лошадинымъ экстрактомъ.

Таблица № 50.

№№ кролик.	Антисыворотка	Нативный мышечный экстрактъ														
		Лошади					Коровы					Свиньи				
		25	50	100	250	500	1000	25	50	100	250	500	1000	25	50	100
22	Лошадин.	+	+	+	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
23	"	+	+	+	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24	Коровья	?	0	0	—	—	—	+	+	+	?	0	0	0	0	0
25	"	0	0	0	—	—	—	+	+	+	+	?	0	0	0	0
26	Свиная	0	0	0	—	—	—	0	0	0	—	—	—	?	0	0
27	"	0	0	0	—	—	—	0	0	0	—	—	—	+	+	+

Но главное значеніе этихъ опытовъ заключается въ томъ, что антисыворотки, полученныя введеніемъ денатурированныхъ по спос. Schmidt'a мышечныхъ бѣлковъ, оказываются способными реагировать съ нативными мышечными бѣлками.

Точно также реагируетъ мышечный Nitze-Alkali-преципитинъ и съ сывороточными нативными бѣлками, давая реакцію болѣе сильную, чѣмъ съ нативными мышечными.

Причина этого заключается въ томъ, отъ чего вообще реакція съ сыворотками сильнѣе. Дѣйствительно, какъ показываетъ таблица № 51, эти мышечныя антисыворотки реагируютъ даже до разведенія 1:10000, т. е. мало уступая

обыкновеннымъ нативнымъ сывороточнымъ преципитинамъ, оставаясь въ то же время вполне специфичными. Такимъ образомъ видимъ, что мышечныя преципитирующія сыворотки, антигеномъ которыхъ служили мышечные экстракты, обработанные по способу Schmidt'a, имѣютъ то же самое свойство реагировать и съ мышечнымъ бѣлкомъ и значительно сильнѣе съ сывороточнымъ, какимъ обладаютъ нативныя мышечныя антисыворотки.

Специфичность антисыворотокъ при дѣйствіи на нативные бѣлки какъ мышечные, такъ и сывороточные зависитъ, если объяснять согласно гипотезѣ Obermayer'a и Pick'a, отъ того, что здѣсь преципитирующая сыворотка проявляетъ

Таблица № 51.

№№ кролик.	Антисыворотка	Нативная кровяная сыворотка														
		Лошади					Коровы					Свиньи				
		50	100	500	1000	5000	10000	15000	50	100	500	1000	5000	10000	15000	50
22	Лошадин.	++	++	++	++	++	0	0	0	—	—	—	—	—	—	0
23	"	++	++	++	++	++	0	0	0	—	—	—	—	—	—	0
24	Коровья	0	0	—	—	—	—	—	+	+	+	0	0	0	0	0
25	"	0	0	—	—	—	—	—	+	+	+	?	0	0	0	0
26	Свиная	0	0	—	—	—	—	—	0	0	—	—	—	—	—	++
27	"	0	0	—	—	—	—	—	0	0	—	—	—	—	—	++

только свою „видовую специфичность“; если-бы бѣлки были денатурированы, то проявилась бы и „специфичность состоянія“, и тогда реакція не была бы специфична для одного вида животныхъ, какъ мы это и видимъ при дѣйствіи на подвергнутые обработкѣ по Schmidt'y сывороточные и мышечные бѣлки.

В. Дѣйствіе на 100°-бѣлки.

Дальнѣйшее изслѣдованіе антисыворотокъ было на мышечные экстракты, подвергнутые кипяченію при 100° въ теченіи $\frac{1}{2}$ —1 $\frac{1}{2}$ часовъ.

Такіе опыты ставились двояко: или бралось разведеніе

экстракта 1 : 25 съ физиологическимъ растворомъ или съ 0,1% соды въ физиологическомъ растворѣ. При первомъ кипяченьѣ, т. е. съ физиологическимъ растворомъ безъ прибавленія соды, бѣлокъ сразу свертывался; по прошествіи $\frac{1}{2}$ часа нагрѣванія часть жидкости сливалась и изъ нея дѣлались разведенія 1 : 50 и 1 : 100, а остальная часть оставалась нагрѣваться въ кипящей банѣ до 1 часу, а затѣмъ часть опять сливалась, а съ остальной нагрѣваніе продолжалось до $1\frac{1}{2}$ часовъ. Всѣ иммунныя сыворотки испытывались на разведенія 1 : 25; 1 : 50 и 1 : 100 послѣ нагрѣванія въ теченіи $\frac{1}{2}$, 1 и $1\frac{1}{2}$ часовъ. Опыты ставились и съ чужими экстрактами; кромѣ того были поставлены обычные повѣрочные опыты.

Наблюденіе надъ ходомъ реакціи производилось въ теченіи тоже $1\frac{1}{2}$ часовъ, при чемъ отмѣчались результаты реакціи черезъ каждые полчаса.

Преципитатъ появлялся очень медленно, какъ это видно изъ таблицы, и былъ очень незначительный. Съ гетерологическими экстрактами помутнѣнія ни разу не было.

Изъ этой таблицы ясно видно, что чѣмъ болѣе продолжительному нагрѣванію подвергается преципитируемое вещество, т. е. мышечный экстрактъ въ разведеніи 1 : 25, тѣмъ медленнѣе появляется помутнѣніе. Этотъ фактъ мы отмѣчали и при предыдущихъ опытахъ; на это же замедленіе появленія преципитата съ нагрѣтыми бѣлками указываютъ и многіе авторы (Schmidt, Obermayer u. Pick и другіе).

Но здѣсь это рѣзко выступаетъ: отмѣчая состояніе преципитата черезъ каждые полчаса, я замѣтилъ, что почти всѣ сыворотки кромѣ сыворотки № 26, (но она совсѣмъ оказалась слабо-дѣйствующей на нагрѣтый мышечный экстрактъ), съ мышечнымъ экстрактомъ, подвергнутымъ нагрѣванію въ теченіи $\frac{1}{2}$ часа давали помутнѣніе въ разведеніи 1 : 25 уже въ теченіи перваго получаса, усиливаясь

по мѣрѣ стоянія и появляясь черезъ болѣе продолжительное время въ видѣ яснаго осадка и въ разведеніи 1 : 50.

Таблица № 52.

№№ кролик.	Антисывор.	Время нагр.	Мышечный экстр. 1 : 25 съ физіол. раств. нагр. при 100° въ теч. :																		
			полъ часа (1½ ч.)						1 часа (1 ч.)						полтора ч. (1½ ч.)						
			Лош.		Коров.		Свин.		Лош.		Коров.		Свин.		Лош.		Коров.		Свин.		
			25	50	25	50	25	50	25	50	25	50	25	50	25	50	25	50	25	50	
22	Лошад.	1/2	+	0	0	—	0	—	0	0	0	—	0	—	0	0	0	—	0	—	
1		+	?	0	0	—	0	—	?	0	0	—	0	—	0	0	0	—	0	—	
1½		+	+	0	—	—	—	—	+	0	0	—	0	—	?	0	0	—	0	—	
1½		+	?	0	0	—	0	—	?	0	0	—	0	—	0	0	0	—	0	—	
23	"	1	+	?	0	—	0	—	?	0	0	—	0	—	0	0	0	—	0	—	
1½		+	+	0	—	0	—	?	0	0	—	0	—	0	0	0	—	0	—		
1½		+	+	0	—	0	—	?	0	0	—	0	—	0	0	0	—	0	—		
1½		0	—	+	0	—	0	—	0	—	?	0	—	0	—	0	0	0	—	0	—
24	Кор.	1	0	—	+	?	0	—	0	—	+	0	—	0	—	0	—	0	0	0	—
1½		0	—	+	?	0	—	0	—	+	?	0	—	0	—	?	0	0	0	—	
1½		0	—	+	?	0	—	0	—	?	0	—	0	—	0	—	?	0	0	—	
1½		0	—	+	?	0	—	0	—	0	—	0	—	0	—	0	—	0	0	—	
25	"	1	0	—	+	0	—	0	—	?	0	—	0	—	0	—	0	0	0	—	—
1½		0	—	+	?	0	—	0	—	0	—	0	—	0	—	0	—	0	0	—	
1½		0	—	+	?	0	—	0	—	0	—	0	—	0	—	0	—	0	0	—	
1½		0	—	+	?	0	—	0	—	+	0	—	0	—	0	—	0	0	0	—	
26	Свин.	1	0	—	0	—	0	—	0	—	0	—	0	—	0	—	0	—	0	0	—
1½		0	—	0	—	0	—	0	—	0	—	0	—	0	—	0	—	0	0	—	
1½		0	—	0	—	?	0	—	0	—	0	—	0	—	0	—	0	—	0	0	—
1½		0	—	0	—	?	0	—	0	—	0	—	0	—	0	—	0	—	0	0	—
27	"	1	0	—	0	—	+	?	0	—	0	—	0	—	0	—	0	—	0	0	—
1½		0	—	0	—	+	?	0	—	0	—	0	—	0	—	0	—	0	0	—	
1½		0	—	0	—	+	?	0	—	0	—	0	—	0	—	0	—	0	0	—	
1½		0	—	0	—	+	?	0	—	?	0	—	0	—	0	—	0	—	0	0	—

Послѣ часового нагрѣванія экстракта помутнѣніе появляется, и то очень слабое, въ теченіи перваго получаса только у двухъ антисыворотокъ (№№ 24, 25); черезъ одинъ часъ стоянія тоже у двухъ (сывор. № 22 и 23), затѣмъ у одной — черезъ $1\frac{1}{2}$ часа (сывор. № 27) и у сывор. № 26 совсѣмъ нѣтъ помутнѣнія. При дальнѣйшемъ стояніи усиленіе преципитации сказывалось только въ появленіи болѣе рѣзкой реакціи съ тѣмъ же разведеніемъ 1 : 25; и только сыворотка № 24 дала еще очень слабую реакцію и въ разведеніи экстракта 1 : 50. Наконецъ, послѣ $1\frac{1}{2}$ часового нагрѣванія у большинства антисыворотокъ реакціи больше не получалось, и только антисыворотки №№ 22 и 24 дали послѣ $1\frac{1}{2}$ часового стоянія слѣды реакціи съ разведеніемъ 1 : 25.

Изъ шести антисыворотокъ очень слабымъ дѣйствіемъ на нагрѣтый бѣлокъ обладала, какъ было упомянуто, антисыворотка № 26, и, наоборотъ, самое сильное дѣйствіе проявляла коровья антисыворотка № 24, что конечно надо объяснить индивидуальными свойствами иммунныхъ сыворотокъ. Что же касается отсутствія гетерологическихъ помутнѣній, то это объясняется тѣмъ, что вообще помутнѣнія съ бѣлками чужого вида животныхъ появляются въ болѣе крѣпкихъ растворахъ; здѣсь же бѣлка было такъ мало, что химически онъ не опредѣлялся и въ разведеніи 1:25.

Изъ этихъ опытовъ можно сдѣлать два заключенія: во-первыхъ, чѣмъ больше нагрѣвается преципитируемое вещество, тѣмъ медленнѣе появляется преципитация, и, во-вторыхъ, въ то время какъ сывороточный Nitze-Alkali-преципитинъ отказывался преципитировать нагрѣтый въ теченіи $\frac{1}{2}$ часа до 100° мышечный экстрактъ, — мышечный Nitze-Alkali-преципитинъ реагируетъ, правда, довольно слабо и медленно, съ мышечнымъ экстрактомъ даже послѣ часового нагрѣванія.

Въ этомъ опять таки сказывается преимущество мышечнаго преципитина передъ сывороточнымъ.

Для того чтобы избѣгнуть свертыванія бѣлка при нагрѣваніи, я, какъ уже было упомянуто, разводилъ мышечный экстрактъ (1:25) физиологическимъ растворомъ поваренной соли, содержащимъ 0,1% соды. Эти разведенія нагрѣвались въ кипящей банѣ и черезъ $\frac{1}{2}$ и 1 часъ часть жидкости сливалась, а остальное количество нагрѣвалось въ теченіи $\frac{1}{2}$ часовъ. При этомъ свертыванія бѣлка не происходило даже послѣ $\frac{1}{2}$ часового нагрѣванія. Щелочная жидкость доводилась соляной кислотой до слабо-щелочной реакціи и подвергались изслѣдованію въ разведеніяхъ 1:25; 1:50 и 1:100. Результаты преципитации отмѣчались черезъ

каждые $\frac{1}{2}$ часа, а всего наблюденіе продолжалось, какъ и въ предыдущемъ опытѣ, $1\frac{1}{2}$ часа.

Таблица № 53.

№№ кроликовъ	Антисыворотка	Время наблюд.	Мышечный экстрактъ съ 0,1% соды нагрѣв. 100° въ теченіи:														
			полъ часа ($\frac{1}{2}$ ч.)						1 часа (1 ч.)						полтора часа ($1\frac{1}{2}$ ч.)		
			Лощ.		Коров.		Свин.		Лощ.		Коров.		Свин.		Лощ.	Коров.	Свин.
			25	50	100	25	50	100	25	50	25	50	25	50	25	50	50
22	лош.	$\frac{1}{2}$	+	0	0	0	—	—	0	—	—	—	0	—	0	0	—
		1	+	+	+	0	—	—	+	0	0	—	0	—	0	0	—
		$1\frac{1}{2}$	+	+	+	0	—	—	+	0	0	—	0	—	+	?	0
23	"	$\frac{1}{2}$	+	0	0	0	—	—	0	0	0	—	0	—	0	0	—
		1	+	+	+	0	—	—	+	0	0	—	0	—	0	0	—
		$1\frac{1}{2}$	+	+	+	?	0	—	+	?	0	—	0	—	+	0	—
24	коров.	$\frac{1}{2}$	0	—	—	+	0	0	0	—	?	0	0	—	0	0	—
		1	0	—	—	+	+	0	0	—	+	?	0	—	0	0	—
		$1\frac{1}{2}$	0	—	—	+	+	+	0	—	+	+	0	—	0	?	0
25	"	$\frac{1}{2}$	0	—	—	+	0	0	0	—	0	0	0	—	0	0	—
		1	0	—	—	+	+	0	0	—	+	0	0	—	0	0	—
		$1\frac{1}{2}$	0	—	—	+	+	0	0	—	+	?	0	—	?	0	—
26	свин.	$\frac{1}{2}$	0	—	—	0	—	—	0	0	0	—	0	0	—	0	0
		1	0	—	—	0	—	—	?	0	0	—	0	0	—	0	0
		$1\frac{1}{2}$	0	—	—	0	—	—	+	0	0	—	0	0	—	0	0
27	"	$\frac{1}{2}$	0	—	—	0	—	—	+	0	0	—	?	0	0	—	0
		1	0	—	—	0	—	—	+	?	0	—	+	0	0	—	0
		$1\frac{1}{2}$	0	—	—	0	—	—	+	+	0	—	+	?	0	—	?

Изъ этой таблицы также, какъ изъ предыдущей, можно сдѣлать выводъ, что чѣмъ дольше нагрѣвается бѣлокъ, тѣмъ слабѣе становится преципитация и тѣмъ медленнѣе образуется преципитатъ. Съ мышечнымъ экстрактомъ, нагрѣтымъ въ продолженіи $\frac{1}{2}$ часа, преципитация получается въ теченіи первыхъ 30 минутъ наблюденія (кроме сыворотки № 26, гдѣ появляется только черезъ 1 часъ стоянія), это уже ясная реакція, но только въ разведеніи 1:25; въ болѣе слабыхъ разведеніяхъ преципитации черезъ $\frac{1}{2}$ часа еще нѣтъ; въ концѣ наблюденія за ходомъ реакціи, т. е. черезъ $1\frac{1}{2}$ часа, реакція у антисыворотокъ (№№ 22, 23 и 24) получается уже

*) 1:250—0.

и въ разведеніи 1:100, у двухъ (№№ 25 и 27) въ разведеніи 1:50 и только у сыворотки № 26 получается также только въ разведеніи 1:25.

Нагрѣтый въ теченіи 1 часа мышечный экстрактъ даетъ уже болѣе слабую реакцію: черезъ $\frac{1}{2}$ часа замѣтно начало реакціи только у двухъ антисыворотокъ (№№ 24 и 27) и только послѣ часового наблюденія она появляется въ разведеніяхъ экстракта 1:25 у всѣхъ сыворотокъ, кромѣ сыворотки № 26; а черезъ полтора часа у 5-ти сыворотокъ реакція получается и въ разведеніяхъ 1:50 (сывор. № 26 въ разведеніи 1:25 даетъ слѣды реакціи); въ большихъ разведеніяхъ реакція послѣ часового нагрѣванія не получается.

Наконецъ, послѣ $1\frac{1}{2}$ часового нагрѣванія преципитация получается совсѣмъ слабая, появляясь только при $1\frac{1}{2}$ часовомъ наблюденіи: сыворотки №№ 22 и 24 даютъ преципитацию, правда, очень слабую, и въ разведеніи 1:50, сыворотки № 23, 25 и 27 только въ разведеніи 1:25, а сыворотка № 26 не преципитируетъ совсѣмъ. И въ этихъ опытахъ сыворотка № 24 оказалось самой сильно-дѣйствующей, а сыворотка № 26 — самой слабой. Специфичность здѣсь такая же, какъ въ предыдущемъ опытѣ; химически въ разведеніи 1:25 бѣлокъ опредѣляется очень слабо.

Сравнивая эти опыты съ предыдущими опытами нагрѣванія мышечныхъ экстрактовъ въ разведеніи съ физиологическимъ растворомъ, видимъ, что, устраняя свертываніе при нагрѣваніи прибавленіемъ къ физиологическому раствору 0,1% соды, мы достигаемъ усиленія преципитации, что сказывается въ двухъ направленіяхъ: увеличивается способность реагировать съ болѣе разведенными растворами (съ содой доходитъ до 1:100, а безъ нея только 1:50), а затѣмъ увеличивается способность реагировать и послѣ болѣе продолжительнаго нагрѣванія экстракта. Такъ послѣ на-

грѣванія съ содой въ теченіи $1\frac{1}{2}$ часовъ реакція, хотя и слабая, получалась, а безъ соды — ея совсѣмъ не было.

Изъ сравненія этихъ опытовъ съ опытами, гдѣ сывороточный Hitze-Alkali-преципитинъ дѣйствуетъ на мышечный экстрактъ, нагрѣтый въ теченіи $\frac{1}{2}$ часа съ содой при 100° (таблица № 30), опять выступаетъ превосходство мышечныхъ Hitze-Alkali-преципитиновъ, такъ какъ сывороточный реагируетъ въ этомъ опытѣ очень слабо.

Далѣе изслѣдовался мышечный Hitze-Alkali-преципитинъ на сыворотку, которая въ разведеніи 1:25 нагрѣвалась въ кипящей банѣ въ теченіи 30 минутъ.

Мышечные Hitze-Alkali-преципитины также какъ сывороточные обладаютъ сильной преципитирующей силой при дѣйствіи на сывороточный бѣлокъ, нагрѣтый при 100° въ теченіе 30 минутъ: 3 антисыворотки преципитировали до разведенія 1:10000 (№№ 22, 24 и 27); двѣ (№№ 23 и 25) до разведенія 1:5000 и 1 (№ 26) — до 1:1000. Преципитатъ появлялся черезъ 5—10 минутъ и въ крѣпкихъ разведеніяхъ былъ очень обильный.

Таблица № 54.

№. № кролик.	Антисыворотка	Сыворотка нагрѣтая до 100° въ теченіи 30 минутъ														
		Лошади					Коровы					Свиньи				
		25	50	100	500	1000	5000	10000	15000	25	50	100	500	1000	5000	10000
22	Лош.	++	++	++	+	+	+	+	0	+	+	?	0	—	—	—
23	„	++	++	++	+	+	+	+	0	+	+	+	0	—	—	—
24	Кор.	+	+	+	0	—	—	—	—	++	++	++	+	+	+	—
25	„	+	+	0	—	—	—	—	—	++	++	+	+	+	+	—
26	Свин.	+	+	+	0	—	—	—	—	+	?	0	0	0	0	0
27	„	+	+	0	0	—	—	—	—	+	+	?	0	—	—	—

Также сравнительно сильно реагировали эти антисыворотки съ чужими сыворотками, при чемъ большинство давало осадокъ еще и въ разведеніи 1:100; преципитатъ появлялся здѣсь медленнѣе (15—20 минутъ) и былъ незначительный. Если сравнить дѣйствіе этихъ антисыворотокъ на

антигенъ изъ сыворотки по Schmidt'y съ дѣйствиемъ на 100°-сывороточный бѣлокъ, то въ послѣднемъ случаѣ дѣйствіе антисыворотокъ въ общемъ сильнѣе, а специфичность ихъ менѣе рѣзко выражена. Приблизительно такія же отношенія получаются и у антисыворотокъ, полученныхъ введеніемъ сывороточныхъ бѣлковъ, денатурированныхъ по спос. Schmidt'a.

Значить, антисыворотки Schmidt'a, все равно — получены-ли онѣ отъ введенія сывороточныхъ или мышечныхъ бѣлковъ, приблизительно одинаково реагируютъ съ 100° — сывороточнымъ бѣлкомъ.

Г. Дѣйствіе на бѣлки, денатурированные щелочью при комнатной температурѣ.

Подобно тому какъ сывороточный Hitze-Alkali-преципитинъ изслѣдовался на кровяную сыворотку, обработанную ѣдкимъ натромъ при комнатной температурѣ, также и мышечный Hitze-Alkali-преципитинъ изслѣдовался на такимъ же способомъ обработанный мышечный экстрактъ.

Для этого, какъ было уже описано, экстрактъ смѣшивался съ физиологическимъ растворомъ и щелочью въ пропорціи Schmidt'a, но оставлялся стоять 15 минутъ при комнатной температурѣ, затѣмъ нейтрализовался и изслѣдовался.

Способность мышечныхъ Hitze-Alkali-преципитиновъ дѣйствовать на мышечный экстрактъ, подвергнутый обработкѣ только щелочью, приблизительно такая же, съ какой дѣйствуютъ эти преципитины на нативный мышечный бѣлокъ. Но это касается только реакціи со своимъ бѣлкомъ; относительно же реакціи съ чужими бѣлками, то здѣсь больше сходства съ реакціей на антигенъ; тогда какъ съ нативными бѣлками реакція специфична, здѣсь антисыворотки реагируютъ съ чужими бѣлками, хотя и слабѣе, чѣмъ при дѣйствіи на антигенъ.

Таблица № 55.

№№ кролик.	Антисывор.	Мышечный экстрактъ при комн. темпер. + NaOH — 15 мин.																	
		Лошади						Коровы						Свиньи					
		25	50	100	250	500	1000	25	50	100	250	500	1000	25	50	100	250	500	1000
22	Лош.	+	+	+	+	?	0	+	0	—	—	—	—	0	0	—	—	—	—
23	"	+	+	+	+	+	0	+	0	—	—	—	—	?	0	—	—	—	—
24	Кор.	?	0	—	—	—	—	+	+	+	+	0	0	+	0	—	—	—	—
25	"	0	0	—	—	—	—	+	+	+	+	+	0	+	0	—	—	—	—
26	Свин.	0	0	—	—	—	—	?	0	—	—	—	—	+	+	+	+	0	0
27	"	0	0	—	—	—	—	0	0	—	—	—	—	+	+	+	0	0	0

Объясненіе этому надо искать также въ появленіи продуктовъ денатурированія бѣлка, а вмѣстѣ съ тѣмъ и „специфичности состоянія“. Опыты съ сывороткой, также при комнатной температурѣ обработанной ѣдкимъ натромъ, дали совершенно согласные съ этими результаты, а потому здѣсь не приводятся.

Д. Дѣйствіе на высушенный при 100° бѣлокъ.

Наконецъ, были поставлены опыты преципитации этими антисыворотками высушеннаго при 100° сывороточнаго бѣлка, переведеннаго съ помощью ѣдкой щелочи въ растворъ, нейтрализованный затѣмъ соляной кислотой. Подробно методика описана выше, при изслѣдованіи сывороточныхъ антисыворотокъ; разведенія взяты тѣ же.

Таблица № 56.

№№ кролик.	Антисывор.	Сухая сыв-ка раств. NaOH									№№ кролик.	Антисывор.	Сухая сыв-ка раств. NaOH									
		Лош.			Кор.			Свин.					Лош.			Кор.			Свин.			
		Неразв.	5	10	Неразв.	5	10	Неразв.	5	10			Неразв.	5	10	Неразв.	5	10	Неразв.	5	10	
22	Лош.	?	0	0	0	0	0	—	0	0	—	25	Кор.	0	0	—	0	0	0	0	0	—
23	"	0	0	0	0	0	0	—	0	0	—	26	Свин.	0	0	—	0	0	—	0	0	0
24	Кор.	0	0	—	+	0	0	0	0	0	—	27	"	0	0	—	0	0	—	0	0	0

Только двѣ антисыворотки (№№ 22 и 24) дали въ этомъ опытѣ черезъ 1½ часовое наблюденіе реакцію, при чемъ антисыворотка № 22 — очень слабую; остальные же 4 совсѣмъ не реагировали.

Сравнивая эти результаты съ результатами преципитации сывороточнымъ Hitze-Alkali-преципитиномъ также обработаннаго бѣлка (табл. № 31), оказывается, что мышечные преципитины обладаютъ меньшей способностью реагировать съ такъ сильно денатурированнымъ сывороточнымъ бѣлкомъ, чѣмъ сывороточные преципитины.

Кромѣ этихъ опытовъ я получалъ такой же сухой мышечный бѣлокъ, подвергая высушиванію въ кипящей банѣ мышечный экстрактъ. Но получить съ этимъ сухимъ бѣлкомъ преципитацин не удавалось.

Я пробовалъ его переводить въ растворъ кипяченіемъ съ 0,1% растворомъ соды, но и послѣ ½ часового кипяченія количество осадка не уменьшалось, химически бѣлокъ не опредѣлялся и преципитацин не получалось.

Затѣмъ я дѣйствовалъ ѣдкимъ натромъ, какъ это предлагаетъ Schmidt для сывороточнаго сухого бѣлка, т. е. при температурѣ 70° и въ продолженіи 10—20 минутъ, однако же и здѣсь уменьшенія бѣлка не замѣчалось и преципитацин не получалось. Увеличивъ продолжительность пагрѣванія до 30—40 минутъ, я опять не получилъ положительнаго результата, хотя здѣсь можно уже ожидать уничтоженія подѣ влияніемъ щелочи способности преципитироваться, чѣмъ можетъ быть и нужно объяснить этотъ отрицательный результатъ, такъ какъ часть бѣлка здѣсь растворилась.

Такимъ образомъ мои старанія перевести высушенный при 100° мышечный бѣлокъ въ растворъ, съ которымъ могли бы реагировать мышечные Hitze-Alkali-преципитины, не привели къ желаемому результату.

Е. Дѣйствіе на экстракты изъ органовъ.

Дальнѣйшіе опыты относились уже къ изслѣдованію мышечныхъ антисыворотокъ на экстракты изъ различныхъ органовъ.

Таблица № 57.

№№ кроликовъ	Антисыворотка	Нативные экстракты изъ																														
		Почки									Печени									Селезенки												
		Лош.			Коров.			Свин.			Лош.			Коров.			Свин.			Лош.			Коров.			Свин.						
		25	50	100	25	50	100	25	50	100	25	50	100	25	50	100	25	50	100	25	50	100	25	50	100	25	50	100				
		23	23	24	25	26	27	23	23	24	25	26	27	23	23	24	25	26	27	23	23	24	25	26	27	23	23	24	25	26	27	
Лош.	+	+	?	0	—	—	0	—	—	+	?	0	0	—	—	0	—	—	+	+	+	+	0	—	—	0	—	—	0	—	—	
”	+	?	0	0	—	—	0	—	—	+	0	0	0	—	—	0	—	—	+	+	+	+	0	—	—	0	—	—	0	—	—	
Кор.	0	—	—	+	+	?	0	0	—	0	—	—	0	—	—	+	+	0	0	0	0	0	+	—	—	+	+	0	—	—	0	—
”	0	—	—	+	0	0	0	0	—	0	—	—	0	—	—	+	+	0	0	0	0	0	+	—	—	+	+	0	—	—	0	—
Свин.	0	—	—	0	—	—	—	+	+	+	?	0	0	—	—	0	—	—	+	+	+	+	0	—	—	0	—	—	+	+	+	+
”	0	—	—	0	—	—	—	+	?	0	0	—	—	—	—	+	+	0	0	0	0	0	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+

Таблица № 58.

№№ кроликовъ	Антисыворотка	Экстракты обработанные по Schmidt																											
		Почки									Печени						Селезенки												
		Лош.			Кор.			Свин.			Лош.			Кор.			Свин.			Лош.			Кор.			Свин.			
		25	50	100	25	50	100	25	50	100	25	50	100	25	50	100	25	50	100	25	50	100	25	50	100	25	50	100	
		22	Лош.	?	0	0	0	—	—	—	0	—	—	—	?	0	0	0	0	—	—	0	—	—	+	+	0	0	—
23	„	?	0	0	0	—	—	—	0	—	—	—	0	0	0	0	0	—	—	0	—	—	+	+	0	0	—	—	
24	Кор.	0	—	—	+	+	0	0	0	—	—	—	0	0	0	0	0	—	—	0	—	—	+	+	0	0	—	—	
25	„	0	—	—	+	+	0	0	—	—	—	—	0	0	0	0	0	—	—	0	—	—	+	+	0	0	—	—	
26	Свин.	0	—	—	0	—	—	—	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	—	—	0	—	—	+	+	0	0	—	—
27	„	0	—	—	0	—	—	—	+	0	0	0	0	—	—	+	0	0	—	—	0	—	—	+	+	?	0	0	—

Таблица № 59.

№.№ кроликовъ	Антисыворотка	Экстракты съ физиологическимъ растворомъ 1:25—100°—30 мин.																	
		Почки									Печени						Селезенки		
		Лош.			Кор.			Свин.			Лош.			Кор.			Свин.		
		25	50	100	25	50	100	25	50	100	25	50	100	25	50	100	25	50	100
22	Лош.	0	0	0	0	—	—	0	—	—	0	0	0	0	—	—	?	0	0
23	"	?	0	0	0	—	—	0	—	—	0	0	0	0	—	—	?	0	0
24	Кор.	0	—	—	?	0	0	0	—	—	0	0	0	0	—	—	+	0	0
25	"	0	—	—	?	0	0	0	—	—	0	0	0	0	—	—	+	0	0
26	Свин.	0	—	—	0	—	—	0	0	0	0	—	—	0	—	—	?	0	0
27	"	0	—	—	0	—	—	0	0	0	0	—	—	0	—	—	+	0	0

*) 1:250 — +; 1:500 — 0.

Таблица № 60.

№№ Кролик.	Антисывор.	Экстракты съ физiol. раств. + 0,1% соды 1:25—100—30 мин.																	
		П о ч к и						П е ч е н и						С е л е з е н к и					
		Лощ.			Кор.			Лощ.			Кор.			Лощ.			Кор.		
		25	50	100	25	50	100	25	50	100	25	50	100	25	50	100	25	50	100
22	Лощ.	+	+	0	0	—	—	+	0	0	0	—	—	+	0	0	0	—	—
23	"	+	?	0	0	—	—	?	0	0	0	—	—	+	0	0	0	—	—
24	Кор.	0	—	—	+	?	0	0	—	—	+	0	0	0	—	—	+	?	0
25	"	0	—	—	+	?	0	0	—	—	?	0	0	0	—	—	+	?	0
26	Свин.	0	—	—	0	—	—	0	—	—	0	—	—	0	—	—	0	—	—
27	"	0	—	—	0	—	—	0	—	—	0	—	—	0	—	—	0	—	—

Разсматривая эти 4 таблицы, мы видимъ, что сильнѣе всего мышечные антисыворотки дѣйствуютъ на нативные экстракты изъ органовъ; а изъ экстрактовъ сильнѣе реагируютъ съ селезеночнымъ, а затѣмъ съ почечнымъ и, наконецъ, хуже всего съ печеночнымъ. При этомъ отдѣльныя антисыворотки давали и обратныя отношенія, т. е. реагировали сильнѣе съ печеночнымъ; но такія антисыворотки встрѣчались какъ исключеніе (напр. антисыв. № 26 при дѣйствіи на экстрактъ изъ печени, обработанный по Schmidt'y).

Какъ было сейчасъ замѣчено, съ нативными экстрактами антисыворотки реагировали сильнѣе всего, давая преципитацию 1:50 и 1:100 (рѣже), а съ селезеночными экстрактами доходя даже до 1:250, но никогда реакція съ экстрактами изъ органовъ не превосходила своего титра.

Съ денатурированными по Schmidt'y экстрактами реакція была значительно слабѣе, давая въ самомъ большомъ разведеніи 1:100 преципитацию только одинъ разъ (сывор. № 24 съ селезеночнымъ экстрактомъ), а въ остальныхъ случаяхъ не поднималась выше 1:50; съ печеночнымъ же экстрактомъ двѣ сыворотки (№№ 23 и 25) совсѣмъ не реагировали.

Наконецъ, двѣ послѣднія таблицы, показывающія дѣйствіе антисыворотокъ на мышечный экстрактъ кипяченый въ разведе-

ніи 1:25 съ содой и безъ нея, представляютъ между собой большую разницу, какъ это, между прочимъ, наблюдалось и при аналогичныхъ изслѣдованіяхъ сывороточныхъ преципитиновъ Schmidt'a (табл. №№ 34 и 35). При кипяченіи безъ соды реакція получалась очень слабая, почти постоянно только въ разведеніи 1:25, а нѣкоторыя антисыворотки даже не реагировали то съ однимъ, то съ другимъ экстрактомъ. Сыворотка № 26 не дала реакціи ни съ однимъ экстрактомъ. Не то мы видимъ въ опытахъ съ экстрактомъ, который нагрѣвался съ содой: здѣсь всѣ антисыворотки реагируютъ со всѣми экстрактами, за исключеніемъ антисыворотокъ №№ 26 и 27, которыя не преципитировали печеночнаго экстракта. Преципитация въ этихъ опытахъ съ разведеніями 1:25 получалась въ большинствѣ случаевъ вполне ясная, иногда же преципитация получалась и съ разведеніями 1:50. Результаты химическаго изслѣдованія бѣлковъ были приведены ранѣе при опытахъ съ сывороточными преципитинами Schmidt'a.

Такимъ образомъ кипяченіе съ содой, какъ устраняющее свертываніе бѣлковъ экстракта, а потому способствующее образованію преципитата съ иммунной сывороткой, и въ то же время неденатурирующее бѣлокъ до потери этой способности, имѣетъ безусловное преимущество передъ кипяченіемъ безъ соды.

Вообще же опыты съ преципитированіемъ мышечными антисыворотками по Schmidt'y экстрактовъ изъ различныхъ органовъ и въ различныхъ состояніяхъ денатурированія, указываютъ на существованіе въ этихъ антисывороткахъ общихъ преципитиновъ, которыми только и можно объяснить положительный результатъ этихъ опытовъ.

Таблица № 61 представляет сводку всѣхъ опытовъ, произведенныхъ съ мышечными преципитирующими сыворотками, полученными иммунизацией животныхъ экстрактами, денатурированными по способу Schmidt'a.

Таблица № 61.

Антисыворотка, полученная отъ введенія мышечныхъ экстрактовъ денатурированныхъ по Schmidt'y

Растворы	Результ.	Растворы	Результ.	Растворы	Результ.
Мыш. экстр. по Schm.	+	Мыш. экстр. + 0,1% соды 100°—30'	+	Нативные экстр. органовъ	+
Сыворотка по Schm.	+++	Сыворотка съ физ. р. 100°—30'	++++	Экстр. органовъ по Schmidt'y	+
Нативный мыш. экстр.	++	Мыш. экстр. + NaOH комн. t°—15'	++	Экстр. орг. + физ. раст. 100°—30'	0
Нативная сыворотка	+++	Сухой экстр. + NaOH	0	Экстр. орг. + 0,1% соды 100°—30'	+
Мыш. экстр. + физ. раст. 100°—30'	+	Сух. сыворотка + NaOH	почти 0		

1. Полученіе мышечныхъ преципитирующихъ сыворотокъ по способу Schmidt'a нисколько не затруднительнѣе полученія нативныхъ мышечныхъ антисыворотокъ или сывороточныхъ антисыворотокъ Schmidt'a.
2. Мышечные антисыворотки, полученные по способу Schmidt'a, обладаютъ тѣми же свойствами мышечныхъ преципитиновъ, какъ и нативныя мышечныя антисыворотки, т. е. одинаковой съ сывороточными преципитинами преципитирующей силой дѣйствія на сывороточный бѣлокъ и болѣе сильнымъ дѣйствіемъ на мышечные бѣлки.
3. Мышечные Hitze - Alkali - преципитины, соединяя преимущество мышечныхъ преципитиновъ со свойствами Hitze - Alkali - преципитиновъ вообще, обладаютъ спо-

собностью реагировать не только съ сывороточнымъ щелочнымъ бѣлкомъ и съ нагрѣтымъ до 100°, но и съ 100°—мышечнымъ,¹⁾ чѣмъ почти не обладаютъ сывороточные преципитины Schmidt'a.

Глава 10.

Преципитины, полученные отъ введенія мясного сока и щелочныхъ мясныхъ экстрактовъ, денатурированныхъ по Schmidt'y.

Многіе авторы, работавшіе съ мышечными экстрактами, примѣняли для полученія экстрактовъ изъ мяса не просто физиологическій растворъ, а съ добавленіемъ той или иной щелочи. Цѣль, которая преслѣдовалась при этомъ, заключалась въ желаніи достигнуть болѣе полного растворенія бѣлковыхъ веществъ мяса и получить такимъ образомъ экстрактъ содержащій большее количество бѣлковъ.

Дѣйствительно, напримѣръ, Гаммарстенъ¹⁾ такъ говоритъ о раствореніи міозина: „міозинъ имѣетъ общія свойства глобулиновъ и соотвѣтственно этому онъ не растворимъ въ водѣ и растворяется въ разведенныхъ солевыхъ растворахъ, а также въ сильно разведенныхъ кислотахъ и щелочахъ, причемъ онъ легко переходитъ въ альбуминатъ“.

При этомъ каждый авторъ примѣнялъ ту щелочь, которая ему казалась наиболѣе подходящей; и какое въ этомъ отношеніи было разнообразіе, видно изъ слѣдующихъ нѣсколькихъ примѣровъ: Nötel²⁾ примѣнялъ для извлеченія бѣлковъ изъ рубленого лошадиного мяса 0,1% растворъ

1) Гаммарстенъ. Учебникъ физиологической химіи. Изд. 1905 г. стр. 409.

2) Nötel. „Ueber ein Verfahren z. Nachweis von Pferdefleisch“. Zeitschr. f. Hygiene u. Infektkr. 1902. Bd. 39.

сода; Grund¹⁾ извлекает не просто содовым раствором, а физиологическим раствором съ содой; о таком же растворе упоминает и Schmidt²⁾; в болѣе позднее время онъ предлагаетъ уже другую щелочь — окись магнія, какъ болѣе подходящую, при чемъ пропорцію для вытяжекъ изъ мяса рекомендуетъ слѣдующую: 50 гр. рубленого мяса смѣшиваются со 100 к. с. физиологическаго раствора повареной соли, содержащаго на 1 литръ около 5 гр. окиси магнія; масса размѣшивается и черезъ 2 часа или болѣе выжимается черезъ фланелевый или бумажный платокъ на смоченный физиологическим растворомъ фильтръ. Наконецъ, Forssner³⁾ примѣнялъ для приготовления вытяжекъ изъ органовъ морскихъ свинокъ $\frac{1}{2}\%$ растворъ амміака.

Въ виду того, что содержаніе бѣлковъ въ экстрактахъ, полученныхъ съ помощью физиологическаго раствора, дѣйствительно, не велико, чѣмъ, можетъ быть, надо объяснить такое продолжительное иммунизированіе кроликовъ, а также невысокіе титры по отношенію къ экстрактамъ; и въ виду существующихъ указаній, что щелочными жидкостями можно экстрагировать болѣе бѣлковъ, мною, по предложенію проф. Евгенія Алексѣевича Шенилевскаго, также были предприняты опыты иммунизированія кроликовъ вытяжками изъ мяса, полученными съ помощью щелочныхъ растворовъ, и чистымъ выжатымъ мяснымъ сокомъ.

Мясо во всѣхъ этихъ опытахъ было только коровье. Пропущенное черезъ котлетную машинку мясо я экстрагировалъ двумя различными щелочными растворами: одинъ

1) Grund. „Über organspezifische Präcipitine und ihre Bedeutung“. — Deutsche Arch. f. klin. Medic. 1906. Bd. 87.

2) Schmidt. „Einige Versuche über die Geschwindigkeit der Inaktivierung (Denaturierung) der präcipitablen Substanz durch Alkalien“. — Biochem. Zeitschr. 1910. Bd. 24.

3) Forssner. „Über die Möglichkeit isolierte Eiweisskörper bzw. eiweisshaltige Flüssigkeiten, welche aus einem und demselben Organismus stammen, durch die Präcipitinreaktion zu differenzieren.“ — Münch. med. Wochensh. 1905, № 19.

— сода 1 гр., повареной соли 8,5 гр. и дистиллированной воды 1000 к. с.; другой — ѣдкаго натра 1 гр., повареной соли 8,5 гр. и дистиллированной воды 1000 к. с. Такимъ образомъ я прибавлялъ къ физиологическому раствору повареной соли въ одномъ случаѣ $0,1\%$ соды, въ другомъ — $0,1\%$ ѣдкаго натра.

При этомъ имѣлось въ виду, что содовый растворъ, какъ слабая щелочь, не можетъ денатурировать бѣлки, а растворъ ѣдкаго натра, какъ содержащій болѣе OH-ионовъ въ растворѣ, могъ оказаться уже дѣйствующимъ денатурирующимъ образомъ на бѣлковыя вещества. По крайней мѣрѣ Cohnheim¹⁾, говоря о быстротѣ превращенія нативныхъ бѣлковъ въ щелочные альбуминаты подъ вліяніемъ щелочей, приводитъ мнѣніе Johansson'a, что достаточно $0,2\%$ ѣдкаго натра, чтобы при комнатной температурѣ въ теченіи $2\frac{1}{2}$ часовъ перевести большую часть сывороточнаго альбумина въ щелочной альбуминатъ, и при этомъ происходитъ даже выдѣленіе амміака.

Моей цѣлью было узнать, какъ это вліяетъ, если такое измѣненіе бѣлковъ существуетъ, на конечный результатъ иммунизации кроликовъ.

Эти щелочные растворы смѣшивались въ равныхъ по вѣсу количествахъ съ рубленнымъ мясомъ и ставились въ Schüttelapparat на 24 часа, затѣмъ выжимались черезъ бумажную ткань и фильтровались черезъ обыкновенный фильтръ. Реакція такимъ способомъ полученныхъ экстрактовъ бывала или нейтральной или же слабо-кислой, что объясняется, по видимому, дѣйствіемъ мясо-молочной кислоты. Такимъ образомъ а priori можно предполагать, что большого денатурированія бѣлковъ здѣсь нельзя ожидать.

Третій препаратъ изъ мышцъ былъ мясной сокъ, который я получалъ, подвергая рубленое мясо дѣйствію пресси.

1) Otto Cohnheim. „Chemie der Eiweisskörper“. Braunschweig 1900.

Оба экстракта и мясной сок хранились на холоду въ темныхъ стеклянкахъ съ прибавленіемъ хлороформа; выпадающій при этомъ осадокъ мной тоже употреблялся для инъекцій вмѣстѣ съ жидкой частью; тѣмъ болѣе, что при обработкѣ по Schmidt'у этотъ осадокъ растворяется при прибавленіи щелочи. Самый антигенъ изъ этихъ препаратовъ я приготовлялъ по способу Schmidt'a также какъ изъ сыворотки и обыкновеннаго мышечнаго экстракта; и тотчасъ по охлажденіи до комнатной температуры выпрыскивалъ. Надо еще отмѣтить, что хлопьевидный осадокъ послѣ $1\frac{1}{2}$ часового нагрѣванія при 70° былъ болѣе обильный, чѣмъ въ обыкновенныхъ мышечныхъ экстрактахъ, въ особенности же въ мясномъ сокѣ, но онъ отъ щелочи при взбалтываніи сравнительно легко растворялся.

Этими препаратами мною было иммунизировано 6 кроликовъ (№№ 28—33): по 2 кролика — содовымъ и ѣдкаго натра экстрактами и мяснымъ выжатымъ сокомъ. Инъекціи дѣлались черезъ 2 дня въ 3-ій, всего 9—10 инъекцій, по 30 к. с. заразъ въ брюшную полость. Переносили кролики иммунизацию легко.

А. Дѣйствіе на бѣлки денатурированные по Schmidt'у.

Полученныя антисыворотки для опредѣленія титра испытывались каждая на свой мышечный препаратъ, т. е. на

Таблица № 62.

№№ кролик.	Антисыворотка	Опред. титра съ обраб. по Schm. щел. экст. и выж сок.												
		Лошади			Коровы						Свиньи			
		25	50	100	25	50	100	250	500	1000	5000	25	50	100
28	содовая	+	+	0	++	++	+	+	+	0	0	+	?	0
29	"	++	+	0	++	++	+	+	0	0	0	++	0	0
30	Ѣдк. натр.	++	+	0	++	++	+	+	+	0	0	++	+	0
31	"	++	0	0	++	++	+	+	?	0	0	++	0	0
32	выж. сока	++	+	0	++	++	+	+	+	+	0	++	+	0
33	"	+	+	0	++	++	+	+	+	?	0	+	0	0

тотъ, который употреблялся для иммунизации кроликовъ, а именно: антисыворотки №№ 28 и 29 — на содовый экстрактъ, №№ 30 и 31 — на экстрактъ ѣдкаго натра и №№ 32 и 33 — на выжатый сокъ.

Мышечныя антисыворотки содоваго экстракта дали титръ со своимъ экстрактомъ: одна — 1:500, другая — 1:250, а съ чужими содовыми экстрактами, т. е. лошади и свиньи, 1:50 и одинъ разъ (антисыворотка № 29) 1:25. Антисыворотки, полученныя иммунизацией экстрактомъ ѣдкаго натра, обѣ дали титръ 1:500, а съ гетерологическими экстрактами ѣдкаго натра антисыворотка № 30 — 1:50, а антисыв. № 31 — 1:25. Наконецъ, антисыворотки отъ выжатаго сока дали болѣе титръ 1:1000 и неспецифичныя помутнѣнія 1:50, кромѣ антисыв. № 33, которая со свинымъ выжатымъ сокомъ дала 1:25. Всѣ обычные контрольные опыты дали отрицательный результатъ. Преципитатъ въ этихъ опытахъ появлялся довольно быстро (5—10 минутъ) и въ разведеніяхъ 1:25 и 1:50 былъ обильный; наоборотъ, гетерологическія помутнѣнія были незначительныя и появлялись медленно (15—20 мин.).

Сравнивая полученные здѣсь титры съ титрами антисыворотокъ, полученныхъ иммунизацией кроликовъ обыкновенными мышечными экстрактами въ обработкѣ Schmidt'a (табл. № 48), мы видимъ, что въ данномъ случаѣ титры выше: въ то время какъ тамъ титры были почти у всѣхъ антисыворотокъ 1:250, въ этихъ опытахъ были для экстрактовъ 1:500, а для выжатаго сока 1:1000. Это можетъ зависеть отъ двухъ причинъ: или послѣднія антисыворотки обладаютъ болѣе преципитирующей силой, чѣмъ антисыворотки обыкновенныхъ экстрактовъ, или же содержаніе бѣлка въ экстрактахъ содовомъ и ѣдкаго натра, а также и въ выжатомъ сокѣ, больше чѣмъ въ экстрактахъ физиологическаго раствора, а тогда титры быть сравниваемы не могутъ.

Для рѣшенія этого вопроса всѣ 6 антисыворотокъ были

ислѣдованы на мышечный экстрактъ, полученный съ помощью физиологическаго раствора и денатурированный по Schmidt'y.

Таблица № 63.

№№ кролик.	Антисыворотка	Мышечный экстр. (физиол. раств.) обраб. по Schm.												
		Лошади			Коровы						Свиньи			
		25	50	100	25	50	100	250	500	1000	5000	25	50	100
28	Содовая	+	?	0	+	+	+	+	?	0	0	+	0	0
29	"	+	0	0	+	+	+	?	0	0	0	+	0	0
30	Бдк. натр.	+	0	0	+	+	+	+	+	0	0	+	?	0
31	"	+	0	0	+	+	+	+	0	0	0	+	0	0
32	Выж. сок.	+	0	0	+	+	+	+	+	0	0	+	0	0
33	"	+	?	0	+	+	+	+	+	0	0	+	0	0

Сравнивая таблицу опредѣленія титра антисыворотокъ №№ 28—33 съ этой таблицей, мы замѣчаемъ, что при дѣйстви на обыкновенные мышечные экстракты, денатурированные по способу Schmidt'a, эти антисыворотки проявляютъ меньшую преципитирующую силу, что сказывается, съ одной стороны, въ неполученіи такого большого преципитата въ разведеніяхъ 1 : 25 и 1 : 50 и вообще въ болѣе слабой реакціи, а, съ другой стороны, въ неспособности реагировать въ такихъ же разведеніяхъ, какъ со своими препаратами (содовымъ, Ѣдкаго натра и выжатаго сока). Такъ, всѣ антисыворотки, кромѣ № 30, дали преципитацию или въ меньшихъ разведеніяхъ или въ тѣхъ же, но болѣе слабую.

Такъ какъ въ этихъ обоихъ опытахъ антисыворотки изслѣдовались на одни и тѣ же мышечные бѣлки при одинаковомъ денатурированіи ихъ, то такую разницу въ преципитирующей силѣ надо объяснить только разницей содержанія бѣлковъ въ этихъ экстрактахъ.

Съ другой стороны, сравнивая таблицу опредѣленія титра антисыворотокъ №№ 22—27 (табл. № 48) съ послѣдней таблицей, можно сдѣлать и другой выводъ: такъ какъ антисыворотки №№ 28—33 даютъ въ большинствѣ случаевъ, кромѣ двухъ (№№ 29 и 31), преципитацию еще въ разведеніи

1 : 500 обыкновеннаго мышечнаго экстракта, денатурированнаго по Schmidt'y, а антисыворотки №№ 22—27 даютъ только до разведенія его 1 : 250, то объяснять такой незначительный титръ антисыворотокъ №№ 22—27 однимъ незначительнымъ содержаніемъ бѣлковъ въ этихъ экстрактахъ нельзя, а надо считать, что по преципитирующей силѣ антисыворотки № 22—27 стоятъ ниже антисыворотокъ №№ 28—33.

Такимъ образомъ оказывается, что, вводя животнымъ выжатый мясной сокъ или вытяжки, сдѣланные съ помощью соды или Ѣдкаго натра, можно получить болѣе дѣятельныя антисыворотки къ мышечному бѣлку, чѣмъ при введеніи обыкновенныхъ мышечныхъ экстрактовъ, когда бѣлки извлекаются физиологическимъ растворомъ поваренной соли.

Далѣе антисыворотки №№ 28—33 были изслѣдованы на сывороточный бѣлокъ, подвергнутый обработкѣ Schmidt'a.

И у этихъ антисыворотокъ реакція съ сывороточнымъ бѣлкомъ получалась въ значительно большихъ разведеніяхъ и давала болѣе обильный преципитатъ, чѣмъ со своими антигенами. 4 антисыворотки реагировали до разведенія 1 : 10000, а 2 (№№ 29 и 31) до 1 : 5000; по вмѣстѣ съ тѣмъ усилились и помутнѣнія съ чужими сыворотками (1 : 100).

Объяснить эту разницу между титромъ антисыворотокъ

Таблица № 64.

№№ кролик.	Антисыворотка	Сыворотка обработ. по способу Schmidt'a														
		Лошади				Коровы						Свиньи				
		25	50	100	500	50	100	500	1000	5000	10000	15000	25	50	100	500
28	содовая	+	+	+	0	++	++	++	+	+	+	0	+	+	?	0
29	"	+	+	?	0	++	++	+	+	+	0	0	+	?	0	0
30	Ѣдк. натр.	+	+	0	0	++	++	++	+	+	+	0	+	+	?	0
31	"	+	+	0	0	++	++	+	+	+	0	0	+	+	0	0
32	выж. сок.	+	+	+	0	++	++	++	+	+	+	0	+	+	+	0
33	"	+	+	+	0	++	++	++	+	+	+	0	+	+	?	0

и дѣйствию на сывороточный бѣлокъ можно опять-таки двумя причинами; существованіемъ въ антисывороткахъ наряду со специфичными мышечными преципитинами значительнаго количества общихъ преципитиновъ, которые реагируютъ съ сывороточнымъ бѣлкомъ, какъ это признаетъ и Schmidt; и значительно большимъ содержаніемъ бѣлковъ въ сывороткахъ по сравненію съ экстрактами, что подтверждается и данными химическаго анализа (см. добавленіе). Антисыворотки №№ 28—33 въ дѣйствиіи своемъ на сывороточный антигенъ Schmidt'a также сильнѣе реагируютъ, чѣмъ антисыворотки №№ 22—27.

Б. Дѣйствіе на нативные бѣлки.

Изслѣдованіе антисыворотокъ на нативные бѣлки также производилось троякимъ образомъ: 1) на нативный выжатый сокъ, содовый и ѣдкаго натра экстракты, т. е. на свои мышечные препараты, но только неизмѣненные, 2) на обыкновенный мышечный экстрактъ (мясо извлекалось физиологическимъ растворомъ) и 3) на нативную кровяную сыворотку.

Со своими неденатурированными мышечными препаратами, какъ показываетъ таблица № 65, антисыворотки реагируютъ приблизительно также, какъ съ денатурированными; зато гетерологическія помутненія, какъ это замѣчалось при изслѣдованіи всѣхъ Hitze-Alkali-преципитиновъ на нативные бѣлки, почти отсутствовали; такъ какъ 2 только

Таблица № 65.

№№ кролик.	Антисыворотка	Нативный выжатый сокъ и щелочные экстракты.											
		Лошад.		Коровы								Свиньи	
		25	50	25	50	100	250	500	1000	5000	10000	25	50
28	Содовая	0	0	++	++	+	+	+	?	0	0	0	0
29	"	0	0	++	++	+	+	+	?	0	0	0	0
30	Ѣдк. натр.	0	0	++	++	+	+	+	+	0	0	0	0
31	"	?	0	++	++	+	+	+	+	0	0	?	0
32	Выж. сок.	+	0	++	++	+	+	+	+	?	0	?	0
33	"	0	0	++	+	+	+	+	?	0	0	0	0

антисыворотки (№№ 31 и 32) дали незначительныя помутненія съ разведеніями 1 : 25.

Этимъ опытомъ, какъ и слѣдующими двумя, лишній разъ подтверждается, что Hitze-Alkali-преципитины обладаютъ способностью реагировать съ нативными бѣлками.

Таблица № 66.

№№ кролик.	Антисыворотка	Натив. мышечн. экстр. (физиол. раст.)									
		Лош.		Коровы						Свин.	
		25	50	25	50	100	250	500	1000	25	50
28	содовая	0	0	++	+	+	+	+	0	0	0
29	"	0	0	++	+	+	+	0	0	0	0
30	Ѣдк. натр.	0	0	++	+	+	+	+	0	0	0
31	"	?	0	++	+	+	+	+	0	0	0
32	выж. сок.	+	0	++	+	+	+	+	0	?	0
33	"	0	0	+	+	+	+	+	0	0	0

Изъ этой таблицы видно, что антисыворотки №№ 28—33 и съ нативными мышечными экстрактами (физиологическій растворъ) реагируютъ слабѣе, чѣмъ съ нативнымъ выжатымъ сокомъ и своими экстрактами, что можетъ быть объяснено только большимъ содержаніемъ бѣлка въ выжатомъ сокѣ и экстрактахъ съ содой и ѣдкимъ натромъ, какъ это было замѣчено и при параллельномъ изслѣдованіи на денатурированные мышечные бѣлки. Точно также оказалось

Таблица № 67.

№№ кролик.	Антисыворотка	Нативная кровяная сыворотка												
		Лош.		Коровы								Свин.		
		25	50	50	100	500	1000	5000	10000	15000	20000	25	50	
28	содовая	0	0	++	++	+	+	+	+	?	0	0	0	0
29	"	+	0	++	++	+	+	+	+	0	0	?	0	0
30	Бдк. натр.	0	0	++	++	+	+	+	+	0	0	0	0	0
31	"	?	0	++	++	+	+	+	+	0	0	+	0	0
32	выж. сок.	+	0	++	++	++	+	+	+	+	0	+	0	0
33	"	0	0	++	++	+	+	+	+	0	0	0	0	0

изъ опытовъ съ нативными мышечными экстрактами, что антисыворотки №№ 28—33 дѣйствуютъ сильнѣе, чѣмъ антисыворотки №№ 22—27 (таблица №№ 50 и 66).

Съ нативной кровяной сывороткой опять получилось какъ бы значительное увеличеніе преципитирующей силы антисыворотокъ, при чемъ у всѣхъ была преципитация не ниже 1:10000, а у двухъ антисыворотокъ (№№ 28 и 32) и въ разведеніи 1:15000; въ это же время съ чужими кровяными сыворотками у трехъ (№№ 28, 30 и 32) реакціи не было и въ разведеніяхъ 1:25, а остальные три (№№ 29, 31 и 33) дали помутнѣніе только въ этихъ разведеніяхъ.

В. Дѣйствіе на 100°-бѣлки.

Ислѣдованія мышечныхъ антисыворотокъ на подвергнутые нагрѣванію съ физиологическимъ растворомъ мышечные экстракты и сыворотки въ разведеніи 1:25 въ кипящей банѣ въ теченіи 30 минутъ дали слѣдующіе результаты. При такой обработкѣ экстрактовъ и мясного сока выпадаетъ обильный хлопьевидный осадокъ, но въ разведеніяхъ 1:25 химически опредѣлимы еще слѣды бѣлка. Изъ сравненія дѣйствія антисыворотокъ №№ 28—33 на свои экстракты и сокъ, нагрѣтые при 100° 30 минутъ, съ таковымъ же опытомъ антисыворотокъ №№ 22—27 (табл. № 52) выходитъ, что антисыворотки №№ 28—33 обладаютъ способностью въ большихъ разведеніяхъ преципитировать свои экстракты и сокъ, давая реакцію въ разведеніи 1:100, а одна (№ 32) и 1:250; только двѣ антисыворотки (№№ 29 и 31) не дали больше 1:50; тогда какъ антисыворотки №№ 22—27 не преципитировали выше разведенія 1:50 своего экстракта. Вторая разница заключается въ появленіи въ послѣднемъ случаѣ незначительныхъ помутнѣній съ чужими бѣлками, чего не наблюдалось въ опытахъ съ мышечными антисыворотками №№ 22—27.

Таблица № 68.

№№ Кролик.	Антисывор.	Щелочн. экстр. и выж. сокъ. нагрѣв. 100 — 30 м.								
		Лошади		Коровы					Свиньи	
		25	50	25	50	100	250	500	25	50
28	Содовая	?	0	+	+	+	0	0	?	0
29	„	0	0	+	+	0	0	0	0	0
30	Бѣдк. натр.	0	0	+	+	?	0	0	?	0
31	„	0	0	+	+	0	0	0	0	0
32	Выж. сок.	0	0	+	+	+	?	0	?	0
33	„	0	0	+	+	+	0	0	0	0

И то и другое надо объяснять какъ большей преципитирующей силой антисыворотокъ №№ 28—33, такъ и большимъ содержаніемъ бѣлковъ въ мясномъ сокѣ, содовомъ и бѣдкаго натра экстрактахъ, благодаря чему можетъ проявиться явленіе „специфичности состоянія“.

Таблица № 69.

№№ кролик.	Антисыворотка	Кровяная сыворотка нагрѣт. 100° — 30 мин.																		
		Лошади					Коровы								Свиньи					
		25	50	100	250	500	50	100	500	1000	5000	10000	15000	20000	25	50	100	250	500	
28	Содовая	+	+	+	0	0	++	++	+	+	+	+	?	0	0	+	+	+	0	0
29	”	+	+	?	0	0	++	++	+	+	+	+	?	0	0	+	+	?	0	0
30	Бѣд.натр.	+	+	+	?	0	++	++	+	+	+	+	?	0	0	+	+	+	0	0
31	”	+	+	+	0	0	++	++	+	+	+	+	?	0	0	+	+	0	0	0
32	Выж. сок.	+	+	+	?	0	++	++	+	+	+	+	+	0	0	+	+	+	?	0
33	”	+	+	+	0	0	++	+	+	+	+	+	?	0	0	+	+	+	0	0

Въ опытахъ съ кровяными сыворотками наблюдается полученіе реакціи въ значительно большихъ разведеніяхъ по сравненію съ мышечными экстрактами, а также появленіе гетерологическихъ помутнѣній. Со своей коровьей сывороткой реакція получалась въ разведеніяхъ 1:10000 и 1:15000 (два раза), а съ чужими — 1:100, и даже у двухъ антисыворотокъ (№№ 30 и 32) — 1:250.

На мышечный экстрактъ, полученный съ помощью физиологическаго раствора и обработанный при 100°, антисыво-

ротки изслѣдовались, какъ и антисыворотки №№ 22—27, послѣ нагрѣванія въ теченіи $1\frac{1}{2}$ —1— $1\frac{1}{2}$ часовъ; при чемъ срокъ наблюденія за реакціей продолжался $1\frac{1}{2}$ часа, а результаты реакціи отмѣчались черезъ каждыя $\frac{1}{2}$ часа.

Таблица № 70.

№№ кроликовъ	Антисыворотка	Время наблюд.	Мышечный экстрактъ 1 : 25 физiol. раств. 100° въ теченіи											
			полъ часа (1/2 ч.)			одного часа (1 ч.)			полтора ч. (1 1/2 ч.)					
			Лош.			Кор.			Свин.					
			25	25	50	100	25	25	50	100	25	25	50	100
28	содовая	1 1/2	0	+	?	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			0	+	+	0	0	?	0	0	0	0	0	0
			0	+	+	?	0	0	?	0	0	+	0	0
29	"	1 1/2	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			0	+	?	0	0	+	0	0	0	0	0	0
			0	+	+	0	0	+	0	0	0	0	0	0
30	Ѣдк. натр.	1 1/2	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			0	+	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			0	+	+	0	0	+	0	0	0	0	0	0
31	"	1 1/2	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			0	+	?	0	0	?	0	0	0	0	0	0
32	выж. сок.	1 1/2	0	+	0	0	0	?	0	0	0	0	0	0
			0	+	?	0	0	+	?	0	0	0	0	0
			0	+	+	?	0	+	?	0	0	?	0	0
33	"	1 1/2	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
			0	+	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0
			0	+	+	0	0	+	0	0	0	0	0	0

Также какъ въ аналогичномъ опытѣ съ антисыворотками №№ 22—27 (табл. № 52) и здѣсь мы видимъ ясную зависимость появленія преципитациі отъ продолжительности нагрѣванія мышечнаго экстракта: такъ послѣ $\frac{1}{2}$ часового нагрѣванія помутнѣніе появляется большей частью только въ разведеніи 1:25, уже черезъ $\frac{1}{2}$ часа наблюденія; послѣ же часового нагрѣванія преципитация замѣтна только черезъ часъ; наконецъ, послѣ $1\frac{1}{2}$ часового нагрѣванія экстрактъ теряетъ способность преципитироваться 4-мя антисыворотками, и только антисыворотки №№ 28 и 31 даютъ послѣ $1\frac{1}{2}$ часового стоянія небольшое помутнѣніе въ разведеніи 1:25.

При болѣе долгомъ стояніи преципитаты увеличиваются въ объемѣ и появляются въ болѣе слабыхъ разведеніяхъ, однако и послѣ $1\frac{1}{2}$ часового стоянія преципитация получается: съ мышечнымъ экстрактомъ, нагрѣтымъ полъ часа, въ разведеніи 1:50 и только антисыворотки №№ 18 и 32 дали слѣды въ разведеніи 1:100; съ мышечнымъ экстрактомъ, нагрѣтымъ 1 часъ, въ разведеніи 1:25 ясная и 1:50 слѣды (и то не со всѣми антисыворотками); послѣ же $1\frac{1}{2}$ часового нагрѣванія преципитациі, можно считать, почти не получается.

Сравнивая эти опыты съ такими же опытами антисыворотокъ №№ 22—27, можно замѣтить лишь небольшое усиленіе реакціи антисыворотокъ №№ 28—33 съ экстрактами, нагрѣтыми $\frac{1}{2}$ и 1 часъ, сказывающееся въ появленіи болѣе обильнаго преципитата. Но рѣзкой разницы здѣсь нѣтъ, если не считать, что антисыворотки №№ 28 и 32 дали слѣды реакціи и въ разведеніи 1:100. Какъ тѣ, такъ другія антисыворотки одинаково не преципитируютъ мышечнаго экстракта, подвергнутаго $1\frac{1}{2}$ часовому нагрѣванію.

Совершенно такіе же опыты были поставлены съ нагрѣваніемъ въ кипящей банѣ разведеній бѣлковъ съ физиологическимъ растворомъ, содержащимъ 0,1% соды, при этомъ мясной сокъ и экстракты содовый и ѣдкаго натра, а

Таблица № 71.

№№ кролик.	Антисыворотка	Щелочн. экстр. и выж. сокъ + 0,1% соды — 100° — 30 мин.								
		Лош.		Коровы					Свиньи	
		25	50	25	50	100	250	500	25	50
		25	50	25	50	100	250	500	25	50
28	Содовая	?	0	+	+	+	+	0	?	0
29	"	0	0	+	+	?	0	0	0	0
30	ѣдк. натр.	0	0	+	+	+	0	0	?	0
31	"	0	0	+	+	0	0	0	0	0
32	Выж. сок.	?	0	+	+	+	+	0	?	0
33	"	?	0	+	+	+	?	0	0	0

также кровяная сыворотка, изслѣдовались послѣ нагрѣванія въ теченіи 30 минутъ, а обыкновенный мышечный экстрактъ подвергался опять-таки изслѣдованію послѣ $\frac{1}{2}$, 1 и $1\frac{1}{2}$ часового нагрѣванія.

При кипяченіи съ содой 3 антисыворотки (№№ 28, 32 и 33) преципитируютъ въ разведеніи 1 : 250, 2 (№№ 29 и 30) — 1 : 100 и 1 (№ 31) — 1 : 50. Первые 5 перечисленныхъ здѣсь антисыворотокъ дали усиленіе преципитации по сравненію съ дѣйствіемъ на эти же экстракты и сокъ, нагрѣваемые безъ соды; одна антисыворотка (№ 31) показала ту же реакцію. Также нѣкоторыя антисыворотки (№№ 32 и 33) дали неспецифическіе осадки, чего не бывало при кипяченіи безъ соды. Такимъ образомъ, прибавляя 0,1% соды и не допуская тѣмъ самымъ свертыванія бѣлка, мы достигаемъ небольшого усиленія преципитации.

Что же касается дѣйствія этихъ антисыворотокъ на кровяную сыворотку, нагрѣваемую съ содой, то, какъ показываетъ слѣдующая таблица, здѣсь замѣтной разницы съ сывороткой, нагрѣтой безъ соды, не имѣется.

Таблица № 72.

№№ крол.	Анти-сыворотка	Кровян. сывор. + 0,1% соды, нагрѣт. 100° — 30 мин.														
		Лошади					Коровы							Свиньи		
		25	50	100	250	500	25	50	100	500	1000	5000	10000	15000	20000	
28	Содовая	+	+	+	0	0	++	++	+	+	+	+	+	0	0	+
29	Тдк. натра	+	+	+	0	0	++	++	+	+	+	+	+	0	0	+
30		+	+	+	?	0	++	+	+	+	+	+	+	?	0	+
31	"	+	+	+	?	0	++	+	+	+	+	+	+	0	0	+
32	Выж. сок.	+	+	+	?	0	++	++	+	+	+	+	+	+	+	0
33	"	+	+	+	0	0	++	+	+	+	+	+	+	?	0	+

Сравнивая эту таблицу съ таблицей дѣйствія этихъ же самыхъ антисыворотокъ на кровяную сыворотку, нагрѣваемую 30 минутъ при 100° безъ прибавленія соды (табл. № 69), замѣчаемъ, что однѣ сыворотки (№№ 29, 30 и 31) дали

небольшое увеличеніе преципитации съ сывороткой кипяченой съ содой; другія (№ 32 и 33) оказались одинаково дѣйствующими и въ томъ и другомъ случаѣ; наконецъ, антисыворотка № 28 дала въ этомъ опытѣ небольшое уменьшеніе; но эти колебанія въ ту или другую сторону были настолько незначительны, какъ и колебанія реакціи съ чужими сыворотками, что въ общемъ надо считать, что замѣтнаго значенія на реакцію преципитации кровяной сыворотки нагрѣваніе ея съ прибавленіемъ соды не имѣетъ. Объясняется, по моему, это тѣмъ, что въ то время какъ мышечный экстрактъ при нагрѣваніи безъ соды даетъ сильное свертываніе бѣлковъ въ видѣ обильнаго осадка, и прибавленіе соды устраняетъ это, — такой разницы съ кровяной сывороткой нѣтъ, такъ какъ безъ соды получается только опалесцирующий растворъ, а при прибавленіи соды растворъ послѣ кипяченія остается прозрачнымъ. Значитъ, нѣтъ и большой разницы въ содержаніи бѣлковъ въ растворахъ съ содой и безъ нея, а потому нѣтъ замѣтной разницы и въ преципитации.

Изъ таблицы № 73 видно, какъ продолжительность нагрѣванія вліяетъ на время появленія преципитации. Если будемъ брать результаты преципитации послѣ $1\frac{1}{2}$ часового наблюденія за ходомъ реакціи, то увидимъ, что послѣ $\frac{1}{2}$ часового нагрѣванія 4 антисыворотки реагируютъ до разведенія 1 : 100 и 2 (№№ 29 и 31) до 1 : 50; послѣ 1 часового нагрѣванія преципитация выше разведенія 1 : 50 не получалась, при чемъ однѣ антисыворотки давали въ разведеніи экстракта 1 : 50 ясную реакцію (№№ 28, 30, 32 и 33), другія (№№ 29 и 31) слѣды ея; наконецъ, послѣ $1\frac{1}{2}$ часового нагрѣванія антисыв. №№ 30 и 32 только въ разведеніи 1 : 25, антисыв. №№ 28 и 32 — неясную реакцію въ разведеніи 1 : 50, а антисыв. №№ 29 и 31 не дали совсѣмъ реакціи.

Съ чужими бѣлками реакціи не получалось.

Сравнивая дѣйствіе этихъ антисыворотокъ на мышечный

Таблица № 73.

№№ кроликовъ	Антисыворотка	Время наблюд.	Мышечный экстрактъ 1 : 25 съ 0,1% соды 100° въ теченіи														
			полъ часа (1/2 ч.)					одного часа (1 ч.)			полтора часа (1 1/2 ч.)						
			Лош.	Коровы			Свин.	Лош.	Кор.		Свин.	Лош.	Кор.		Свин.		
				25	50	100			25	25			50	100		25	25
28	содовая	1/2	0	+	?	0	0	0	?	0	0	0	0	0	0	0	
		1	0	+	+	0	0	0	+	+	0	0	0	0	0	0	
		1 1/2	0	+	+	+	0	0	0	+	+	0	0	+	?	0	0
29	"	1/2	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		1	0	+	+	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	0	
		1 1/2	0	+	+	0	0	0	0	+	?	0	0	0	0	0	0
30	Ѣдк. натр.	1/2	0	+	?	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		1	0	+	+	?	0	0	0	+	?	0	0	0	0	0	
		1 1/2	0	+	+	+	0	0	0	+	+	0	0	+	0	0	0
31	"	1/2	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		1	0	+	+	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	
		1 1/2	0	+	+	0	0	0	0	+	?	0	0	0	0	0	0
32	Выж. сок.	1/2	0	+	?	0	0	0	0	?	0	0	0	0	0	0	
		1	0	+	+	0	0	0	0	+	?	0	0	+	0	0	
		1 1/2	0	+	+	+	0	0	0	+	+	0	0	+	?	0	0
33	"	1/2	0	+	?	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		1	0	+	+	?	0	0	0	+	?	0	0	0	0	0	0
		1 1/2	0	+	+	?	0	0	0	+	+	0	0	?	0	0	0

экстрактъ, нагрѣваемый съ содой или безъ соды (табл. №№ 70 и 73), замѣчаемъ, что въ послѣднихъ опытахъ, т. е. съ экстрактомъ нагрѣтымъ съ содой, преципитация получается сильнѣе; это замѣтно, какъ послѣ 1/2 часового нагрѣванія, такъ и 1 и 1 1/2 часового; но особенно это замѣтно именно съ экстрактомъ нагрѣтымъ 1/2 часа и слабѣе всего съ 1 1/2 часовымъ экстрактомъ, такъ какъ здѣсь реакція тоже или не получалась совсѣмъ или получалась очень слабо. Это указываетъ на то, что при 1 1/2 часовомъ нагрѣваніи денатурированіе бѣлковъ идетъ настолько далеко (надо еще имѣть въ виду незначительное вообще содержаніе бѣлковъ въ экстрактахъ), что только наиболѣе сильно-дѣйствующія антисыворотки могутъ еще проявлять реакцію, и то совсѣмъ незначительную.

Если теперь сравнить дѣйствіе антисыворотокъ №№

28—33 и антисыворотокъ №№ 22—27 на одинаковый мышечный экстрактъ, полученный съ помощью физиологическаго раствора и одинаково обработанный 100° — температурой при разведеніи въ содовомъ растворѣ (табл. №№ 53 и 73), то и тутъ надо признать болѣе сильное дѣйствіе за антисыворотками №№ 28—33, что рѣзче выступаетъ съ 1/2 и 1 часовыми экстрактами, тогда какъ съ экстрактомъ, нагрѣтымъ въ теченіи 1 1/2 часовъ, эта разница исчезаетъ, такъ какъ дѣйствіе тѣхъ и другихъ антисыворотокъ съ этимъ экстрактомъ слабое.

Г. Дѣйствіе на бѣлки, денатурированные щелочью при комнатной температурѣ.

Далѣе преципитирующія сыворотки №№ 28—33 изслѣдовались на бѣлки, обработанные ѣдкимъ натромъ въ пропорціи Schmidt'a при комнатной температурѣ въ теченіи 15 минутъ, причемъ этому изслѣдованію подвергались только тѣ мышечные препараты, которые служили для иммунизации кроликовъ №№ 28—33, т. е. выжатый мясной сокъ и экстракты, полученные дѣйствіемъ растворовъ соды и ѣдкаго натра.

Результаты дѣйствія антисыворотокъ №№ 28—33 на гомологическіе бѣлки, обработанные щелочью при комнатной температурѣ, не представляютъ изъ себя ничего особеннаго, занимая среднее мѣсто между результатами дѣйствія этихъ антисыворотокъ на нативные щелочные экстракты и выжатый сокъ и на свои антигены (табл. №№ 62, 65 и 74); зато преципитация съ гетерологическими экстрактами имѣетъ больше сходства съ неспецифическими осадками при дѣйствіи антисыворотокъ на свои антигены; неспецифическіе осадки въ послѣднихъ опытахъ только уступаютъ по величинѣ осадкамъ, получающимся при изслѣдованіи на антигены.

Сходство специфическихъ осадковъ въ этомъ опытѣ съ

Таблица № 74.

№№ кролик.	Антисыворотка	Выж. сокъ и щелочн. экстр. + NaOH — 15 мин. — комн. t°												
		Лошади			Коровы						Свиньи			
		25	50	100	25	50	100	250	500	1000	5000	25	50	100
28	содовая	+	?	0	+	+	+	+	+	0	0	+	0	0
29	"	+	0	0	+	+	+	+	0	0	0	+	0	0
30	бдк. натр.	+	0	0	+	+	+	+	+	+	0	+	0	0
31	"	+	0	0	+	+	+	+	+	+	0	?	0	0
32	выж. сок.	+	?	0	+	+	+	+	+	+	0	+	0	0
33	"	+	0	0	+	+	+	+	+	0	0	+	0	0

осадками въ нативныхъ экстрактахъ и антигенахъ объясняется тѣмъ, что щелочь при комнатной температурѣ денатурируетъ бѣлокъ незначительно, а потому преципитация получается одинаковая и какъ бы занимающая среднее мѣсто между преципитациями съ нативными бѣлками и съ денатурированными по Schmidt'у.

Но что измѣненіе бѣлка все-же происходитъ, на это указываетъ появленіе гетерологическихъ помутнѣній, которыя нужно объяснить присутствіемъ денатурированныхъ бѣлковъ, обусловливающихъ появленіе „специфичности состоянія“.

Д. Дѣйствіе на высушенные при 100° бѣлки.

Чтобы имѣть возможность провести полное сравненіе антисыворотокъ №№ 28—33 съ антисыворотками №№ 22—27, я изслѣдовалъ первыя на высушенную при 100° кровяную

Таблица № 75.

№№ кроликовъ	Антисыворотка	Сух. сыв. раств. NaOH						№№ кроликовъ	Антисыворотка	Сух. сыв. раств. NaOH						
		Лош.		Коров.		Свин.				Лош.		Коров.		Свин.		
		Нераз.	5	Нераз.	5	10	Нераз.			5	Нераз.	5	10	Нераз.	5	
28	Содовая	0	0	?	0	0	0	0	31	Бдк. нат.	0	0	0	0	0	0
29	"	0	0	0	0	0	0	0	32	Выж. сок.	0	0	+	0	0	0
30	Бдк. нат.	0	0	?	0	0	0	0	33	"	0	0	0	0	0	0

сыворотку и высушенный мышечный экстрактъ, которые переводились въ растворъ, какъ было описано выше, съ помощью бѣдкаго натра, а затѣмъ растворъ нейтрализовался соляной кислотой. Разведенія брались тѣ же самыя.

Отсюда видно, что дѣйствіе антисыворотокъ №№ 28—33 на сильно денатурированный сывороточный бѣлокъ весьма незначительное, причемъ три антисыворотки (№№ 29, 31 и 33) совсѣмъ не даютъ преципитации, а другія 3 — очень слабую. Въ этомъ отношеніи онѣ похожи на антисыворотки №№ 22—27, которыя также очень слабо и далеко не всѣ реагировали съ высушеннымъ сывороточнымъ бѣлкомъ.

Также неудачны были опыты преципитировать этими антисыворотками высушенный при 100° мышечный бѣлокъ (изъ обыкновеннаго экстракта), такъ какъ перевести его въ растворъ получасовымъ кипяченіемъ съ 0,1% растворомъ соды или децинормальнымъ растворомъ бѣдкаго натра при нагреваніи до 70° въ теченіи 15—20 минутъ не удавалось, и преципитация не получалась; 1/2 часовое нагреваніе съ этимъ растворомъ бѣдкой щелочи, хотя и растворяло бѣлокъ, но преципитация также не получалась, что зависело, повидному, отъ сильнаго денатурированія бѣлковыхъ веществъ. Отъ этого предостерегаетъ, между прочимъ, и Schmidt въ своихъ опытахъ съ высушеннымъ сывороточнымъ бѣлкомъ, рекомендуя не нагревать щелочной растворъ болѣе 10—20 минутъ.

Е. Дѣйствіе на экстракты изъ органовъ.

Наконецъ антисыворотки №№ 28—33 изслѣдовались, какъ и всѣ предыдущія, на экстракты изъ органовъ.

Таблица № 76.

№№ кроликовъ	Антисыворотка	Нативные экстракты изъ:																		
		Почки					Печени					Селезенки								
		Лош.	Коровы				Свин.	Лош.	Коровы				Свин.	Лош.	Коровы				Свин.	
		25	25	50	100	250	25	25	25	50	100	250	25	25	25	50	100	250	25	
		25	25	50	100	250	25	25	25	50	100	250	25	25	25	50	100	250	25	
28	содовая	0	+	+	+	0	0	0	+	+	0	0	0	0	0	+	+	?	0	0
29	"	0	+	+	+	0	0	0	+	+	0	0	0	0	0	+	+	+	0	0
30	Бдк. натр.	0	+	+	+	0	0	0	+	+	0	0	0	0	0	+	+	+	0	0
31	"	0	+	+	+	0	0	0	+	+	0	0	0	0	0	+	+	+	0	0
32	выж. сок.	0	+	+	+	0	0	0	+	+	?	0	0	0	0	+	+	+	0	0
33	"	0	+	+	+	0	0	0	+	+	?	0	0	0	0	+	+	+	0	0

Таблица № 77.

№№ кроликовъ	Антисыворотка	Экстракты обработ. по Schmidtъ																			
		Почки					Печени					Селезенки									
		Лош.	Коровы				Свин.	Лош.	Коровы				Свин.	Лош.	Коровы				Свин.		
		25	25	50	100	250	25	25	25	50	100	250	25	25	25	50	100	250	25		
28	содовая	0	+	+	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	+	+	?	0	0	
29		0	+	+	0	0	0	0	0	+	?	0	0	0	0	+	+	?	0	0	
30	Бдк. натр.	0	+	+	0	0	0	0	0	+	?	0	0	0	0	0	+	+	+	0	0
31		0	+	+	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	+	+	+	0	0
32	выж. сок.	0	+	+	0	0	0	0	0	+	+	0	0	0	0	0	+	+	+	0	0
33		0	+	+	?	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	+	+	0	0	0

Таблица № 78.

№№ кроликовъ	Антисыворотка	Экстракты 1:25 съ физiol. раств. 100 ^о —30 мин.														
		Почки						Печени						Селезенки		
		Лош.	Коров.			Свин.	Лош.	Коров.			Свин.	Лош.	Коров.		Свин.	
		25	25	50	100	25	25	25	50	100	25	25	25	50	100	25
28	содовая	0	+	0	0	0	0	?	0	0	0	0	+	?	0	0
29	„	0	+	0	0	0	0	?	0	0	0	0	+	0	0	0
30	Ѳдк. натр.	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0
31	„	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0
32	выж. сок.	0	+	0	0	0	0	?	0	0	0	0	+	?	0	0
33	„	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0

*) 1:500—0.

Изъ этихъ опытовъ съ экстрактами изъ органовъ, которые преципитировались антисыворотками №№ 28—33 въ нативномъ состояніи и обработанными 3-мя различными способами (по Schmidtъ, нагрѣваніемъ съ содой и безъ нея), видно, что сильнѣе всего антисыворотки дѣйствуютъ

Таблица № 79.

№№ крол.	Анти-сыворотка	Экстракты 1:25 съ 0,1% соды 100°-- 30 мин.														
		Почки				Печени				Селезенки						
		Лош.	Коров.			Свин.	Лош.	Коров.			Свин.	Лош.	Коров.			Свин.
		25	25	50	100	25	25	25	50	100	25	25	25	50	100	25
28	Содовая	0	+	+	0	0	0	+	0	0	0	0	+	+	0	0
29	"	0	+	+	0	0	0	0	?	0	0	0	+	?	0	0
30	Бдк. натр.	0	+	+	?	0	0	0	0	0	0	0	+	+	0	0
31	"	0	+	+	0	0	0	0	?	0	0	0	+	+	0	0
32	Выж. сок.	0	+	+	0	0	0	0	+	0	0	0	+	+	0	0
33	"	0	?	+	0	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0

на нативные экстракты, слабѣе всего съ нагрѣтыми при 100° безъ соды; среднее же положеніе занимаютъ экстракты въ обработкѣ по Schmidtъ и послѣ нагрѣванія съ содой.

Изъ экстрактовъ сильнѣе всего реагируютъ антисыворотки съ селезеночнымъ, затѣмъ почечнымъ и, наконецъ, съ печеночнымъ; хотя и въ данномъ случаѣ отдѣльные антисыворотки представляли обратныя отношенія, реагируя сильнѣе съ почечными и т. д. Но такія антисыворотки представляютъ исключеніе.

Съ нативнымъ почечнымъ и селезеночнымъ экстрактами большинство антисыворотокъ реагируютъ до разведенія 1:100, а съ нативнымъ печеночнымъ 1:25 и 1:50. Съ селезеночнымъ, обработаннымъ по Schmidtъ, реагируютъ до разведенія 1:100, съ такимъ же почечнымъ — 1:50, а съ печеночнымъ 1:25 и 1:50. Съ кипячеными безъ соды: съ селезеночнымъ — 1:25 и 1:50, съ почечнымъ 1:25 и съ печеночнымъ давали или слѣды реакціи или полное отсутствіе ея. Наконецъ, съ кипячеными съ содой: съ селезеночнымъ — 1:50, съ почечнымъ 1:25 и 1:50 и съ пече-

ночнымъ — 1:25, а двѣ антисыворотки (№№ 30 и 33) дали отсутствіе реакціи.

Такимъ образомъ антисыворотки, полученныя иммунизацией кроликовъ обработанными по способу Schmidt'a выжатымъ мяснымъ коровьимъ сокомъ и коровьими мышечными экстрактами, при чемъ мышечные бѣлки извлекались или растворомъ соды или ѣдкаго натра, содержатъ также, какъ и остальные антисыворотки, общіе преципитины, благодаря которымъ и удается, главнымъ образомъ, преципитация съ бѣлками, добытыми изъ селезенки, почки и печени.

Въ этихъ же опытахъ мы находимъ подтвержденіе ранѣе полученныхъ наблюденій, что при нагреваніи бѣлковыхъ растворовъ съ содой бѣлки болѣе сохраняютъ способность преципитироваться, чѣмъ нагрѣтые безъ соды и потому свернувшіеся.

Нижеслѣдующая таблица представляетъ сводку всѣхъ опытовъ съ антисыворотками № 28—33.

Таблица № 80.

Антисыворотка, полученная отъ введенія мясного сока и щелочныхъ мясныхъ экстрактовъ, денатурированныхъ по Schmidt'y.

Растворы	Результ.	Растворы	Результ.	Растворы	Результ.
Выж. сокъ и щел. экстр. по Schm.	+++	Выж.сокъ и щел. экстр. + физ. р. 100°—30'	+	Сухая сыв-ка и мыш. бѣл. + NaOH.	0
Обык. мыш. экстр. по Schm.	+	Сыв-ка + физ. р. 100°—30'	++++	Выж.сокъ и щел. экстр. + NaOH — комн. т°.	+++
Сыв-ка по Schm.	++++	Обыкн. мыш. экстр. съ физ. р. 100°—30'	+	Нат. экстр. орган.	+
Нат. выж. сокъ и щел. экстр.	+++	Выж.сокъ и щел. экстр. + 0,1% соды 100°—30'	+	Экстр. орг. по Schm.	+
Нат. обык. мыш. экстр.	++	Сыв-ка + 0,1% соды 100°—30'	++++	Экстр. орг. + физ. р. 100°—30'	+
Нат. сыв-ка.	++++	Обыкн. мыш. экстр. + 0,1% соды 100°—30'	+	Экстр. орг. + 0,1% соды — 100°—30'	+

1. Экстрагированіе мяса 0,1% растворами соды или ѣдкаго натра не только является вполне безопаснымъ въ смыслѣ денатурированія бѣлковыхъ веществъ, но, повидимому, даетъ вытяжки съ большимъ содержаніемъ бѣлковъ, чѣмъ вытяжки, полученныя съ помощью фізіологическаго раствора.

2. Иммунизированіе кроликовъ этими экстрактами и выжатымъ мяснымъ сокомъ въ обработкѣ Schmidt'a даетъ вполне пригодную для изслѣдованія преципитирующую сыворотку, сильнѣе дѣйствующую, чѣмъ сыворотки отъ иммунизированія обычными мышечными экстрактами; въ особенности это относится къ сывороткамъ полученнымъ отъ введенія мясного сока; что же касается антисыворотокъ послѣ иммунизации щелочными экстрактами, то замѣтить разницы между антисывороткой содоваго экстракта и антисывороткой экстракта съ ѣдкимъ натромъ — не удалось.

3. Эти антисыворотки, какъ и всѣ мышечные преципитины, обладаютъ свойствомъ предпочтительнѣе реагировать съ мышечными бѣлками, но въ то же время почти одинаково, какъ и сывороточные преципитины, реагировать съ сывороточными бѣлками.

4. Обладаютъ всѣми свойствами Hitze-Alkali-преципитиновъ, но передъ сывороточными преципитинами Schmidt'a имѣютъ то преимущество, что реагируютъ и съ мышечнымъ 100° — бѣлкомъ.

Добавленіе.

Опредѣленіе содержанія бѣлковъ въ преципитируемыхъ растворахъ химическимъ путемъ.

Изслѣдуя полученныя мною антисыворотки на бѣлки сыворотки, мяса и различныхъ органовъ, какъ въ нативномъ, такъ и въ денатурированномъ состояніи, мнѣ не

разъ приходилось убѣждаться въ почти очевидной зависимости силы преципитации, между прочимъ, и отъ содержанія бѣлковъ въ различныхъ преципитируемыхъ растворахъ. Такъ на примѣръ: получая мышечные преципитины, все равно — къ нативнымъ или къ денатурированнымъ по Schmidt'y бѣлкамъ, и изслѣдуя ихъ, я наблюдалъ большую количественную разницу между преципитацией со своими мышечными экстрактами и преципитацией съ сывороточными бѣлками. Разница эта объяснялась съ одной стороны тѣмъ, что мышечныя антисыворотки содержатъ, повидимому, много общихъ преципитиновъ, которые вызываютъ преципитацию и съ сывороточными бѣлками, а съ другой стороны, играетъ огромное значеніе въ этомъ явленіи и содержаніе значительно большаго количества бѣлковъ въ сывороткѣ.

Но въ нашихъ опытахъ встрѣчались и обратные случаи, а именно такіе, когда преципитация не получалась въ тѣхъ разведеніяхъ, въ которыхъ предварительная химическая проба указывала на бѣлокъ. Здѣсь имѣются въ виду не тѣ случаи, когда бѣлокъ въ преципитируемомъ растворѣ завѣдомо есть, но онъ денатурированъ или по способу Schmidt'a или сильнымъ нагреваніемъ, такъ что нативные преципитины не реагируютъ вслѣдствіе этого денатурированія бѣлковъ. Наоборотъ, здѣсь имѣются въ виду случаи неполученія реакціи нативныхъ преципитиновъ съ растворами нативныхъ же бѣлковъ, хотя бѣлокъ въ этихъ растворахъ химически опредѣлялся. На примѣръ, какъ сывороточные, такъ и мышечные преципитины отказывались уже реагировать съ такими разведеніями экстрактовъ почки, печени и селезенки, въ которыхъ бѣлокъ еще былъ находимъ даже химическимъ путемъ, т. е. методомъ значительно менѣе чувствительнымъ, чѣмъ биологическій. Причину такой слабой реакціи надо уже искать въ маломъ содержаніи въ этихъ антисывороткахъ общихъ преципитиновъ, благодаря чему реакція получается только въ крѣпкихъ растворахъ

другихъ бѣлковъ того же вида животныхъ. Это явленіе вполне аналогично появленію неспецифическихъ помутнѣній, которыя тоже получаютъ только въ крѣпкихъ растворахъ гетерологическихъ бѣлковъ.

Наконецъ, продолжительность иммунизации животнаго для полученія достаточно высокой специфической сыворотки зависитъ, надо думать, отъ содержанія бѣлковъ въ томъ или въ другомъ антигенѣ. Достаточно уже накопилось наблюденій, что, вводя животному большія количества бѣлковъ, можно скорѣе получить сильно-дѣйствующую антисыворотку, чѣмъ при введеніи антигена съ небольшимъ количествомъ бѣлка, хотя и здѣсь въ концѣ концовъ получится специфическая сыворотка. Такъ Obermayer und Pick говорятъ, что имъ удавалось, впрыскивая въ теченіи мѣсяца по 0,02 гр. бѣлка, получать иммунную сыворотку. Въ нашихъ опытахъ также можно предполагать, что болѣе быстрое полученіе антисыворотокъ съ достаточно высокимъ титромъ при иммунизации кроликовъ выжатымъ мяснымъ сокомъ и щелочными экстрактами по сравненію съ иммунизацией обыкновенными мышечными экстрактами — зависитъ отъ сравнительно большаго содержанія бѣлковыхъ веществъ въ первыхъ антигенахъ, что, дѣйствительно, можно было заключить изъ сравненія опытовъ преципитации съ тѣми и другими экстрактами.

Во всѣхъ этихъ случаяхъ интересно было знать не столько абсолютное содержаніе бѣлковыхъ веществъ въ различныхъ бѣловыхъ растворахъ, сколько сравнительное количество въ томъ или другомъ растворѣ. Въ виду того значенія, которое имѣетъ для насъ знаніе сравнительнаго содержанія бѣлковъ въ различныхъ растворахъ и въ разведеніяхъ этихъ растворовъ, я не ограничился только предварительными химическими опытами, обычно примѣняемыми и рекомендуемыми всѣми авторами, какъ-то: пробой съ азотной кислотой и полученіемъ при взбалтываніи болѣе или

менѣ стойкой пѣны. Но такъ какъ для меня играли значеніе сравнительныя цифры содержанія бѣлка, то я не примѣнялъ и сложныхъ методовъ опредѣленія абсолютнаго количества бѣлковыхъ веществъ, а пользовался только методомъ Эсбаха, какъ наиболѣе простымъ и въ то же время удовлетворяющимъ моимъ цѣлямъ, и осадочными и цвѣтовыми реакціями качественного опредѣленія бѣлка въ послѣдовательныхъ разведеніяхъ бѣлковыхъ растворовъ. Въ первомъ случаѣ я судилъ по количеству получающагося осадка, повторяя каждый опытъ нѣсколько разъ; во второмъ случаѣ по тому разведенію бѣлковаго раствора, въ которомъ бѣлокъ еще опредѣлимъ. Каждое разведеніе бѣлковаго раствора изслѣдовалось мною нѣсколькими реактивами; это дѣлалось изъ тѣхъ соображеній, что существуютъ указанія на неодинаковую чувствительность того или другого бѣлка къ одному реактиву; на примѣръ, Гаммарстенъ такъ говоритъ объ этомъ: „По отношенію къ одному и тому же реактиву на бѣлки различныя бѣлковыя тѣла обнаруживаютъ различную чувствительность и поэтому невозможно для каждой отдѣльной реакціи установить предѣлъ чувствительности для всѣхъ бѣлковъ“.

Изъ всего существующаго количества осадочныхъ, алкалоидныхъ и цвѣтовыхъ реакцій на бѣлокъ были выбраны по возможности тѣ реакціи, на которыя существуютъ указанія, какъ на наиболѣе чувствительныя. Такимъ образомъ я примѣнялъ біуретовую реакцію, кипяченіе съ добавленіемъ уксусной кислоты, пробу Heller'a съ азотной кислотой, реакцію съ желѣзисто-синеродистымъ калиемъ и уксусной кислотой, съ фосфорновольфрамовой кислотой, пикриновой и дубильной кислотой.

Результаты изслѣдованій приведены въ таблицѣ № 81, гдѣ числа обозначаютъ, до какого разведенія того или другого бѣлковаго раствора получается еще реакція съ даннымъ реактивомъ. Приготовленіе и примѣненіе всѣхъ этихъ реак-

тивовъ было обычное; надо только еще упомянуть, что для осажденія бѣлковъ таниномъ я пользовался изъ двухъ предложенныхъ для этого растворовъ Hedin'a и Almen'a первымъ, который приготавлился слѣдующимъ образомъ: брались танину 7 гр., повареной соли 10 гр., ледяной уксусной кислоты 5 к. с. и все это смѣшивалось съ 100 к. с. воды.

Различныя разведенія почти всѣхъ бѣлковыхъ растворовъ, которые примѣнялись въ моихъ опытахъ или въ качествѣ антигеновъ при иммунизации животныхъ или только въ качествѣ преципитируемыхъ растворовъ, изслѣдовались всѣми семью реактивами. При этомъ всякій бѣлковый растворъ, все равно-денатурированный или неденатурированный, разводился постепенно физиологическимъ растворомъ, какъ это дѣлалось для постановки опыта преципитации, и всѣ разведенія изслѣдовались на бѣлокъ до полного исчезновенія реакціи со всѣми реактивами.

Всѣ бѣлковые растворы сыворотки и экстрактовъ, денатурированные или неденатурированные, изслѣдовались мною также по способу Эсбаха въ его альбуминометрахъ. Обыкновенно приходилось дѣлать разведенія этихъ бѣлковыхъ растворовъ для полученія болѣе точныхъ результатовъ, а затѣмъ производилось вычисленіе. При этомъ оказалось, что сывороточные растворы приходилось разбавлять значительно больше, чѣмъ экстракты. Каждый опытъ повторялся 2—3 раза.

Изслѣдуя бѣлковые растворы, обработанные по способу Schmidt'a, я нейтрализовалъ ихъ передъ опредѣленіемъ бѣлка, какъ это дѣлалось передъ постановкой опыта преципитации, а затѣмъ разводилъ физиологическимъ растворомъ въ 3—4—10 разъ и наливалъ въ альбуминометръ. Вѣроятно такой нейтрализаціей объясняется то, что у меня осадокъ ни разу не всплывалъ на верхъ пробирки, что по мнѣнію Б. И. Словцова¹⁾ иногда получается при содержаніи боль-

1) В. И. Словцовъ. Руководство для клиническаго изслѣдованія мочи. 1908 СПб.

Таблица № 81.

Исследуемые растворы	1	2	3	4	5	6	7
	Битревая реакция	Кипячение + ук.сн. к.	Азотная к-та	Желтый- синер. калий + ук.сн. к.	Фосфорно- вольфр. к.	Пикриновая + лимонная кислоты	Танин
1. Натив. лошад. сыв.	1000	1000	5000	5000	5000	1000	5000
2. " коров. "	1000	500	5000	1000	5000	1000	5000
3. " свин. "	500	1000	5000	1000	5000	1000	5000
4. Лошад. сыв. по Schm.	100	100	1000	500	1000	100	1000
5. Коров. " " "	500	100	1000	500	1000	500	1000
6. Свин. " з "	500	100	1000	1000	1000	100	1000
7. Натив. лош. мыш. экстр.	50	100	500	100	500	100	500
8. " кор. " "	100	100	500	500	100	100	500
9. " свин. " "	100	500	500	500	500	500	500
10. Лош.мыш.экстр. по Schm.	50	50	100	50	100	0	100
11. Коров. " " " "	50	50	100	100	50	50	100
12. Свин. " " " "	50	100	100	100	100	50	100
13. Натив. кор. содов. экстр.	500	1000	1000	500	1000	100	1000
14. " " бдк. натра "	100	1000	1000	500	1000	100	1000
15. " " выж. сокъ "	1000	1000	5000	5000	5000	500	5000
16. Содов. экстр. по Schm.	50	100	500	100	100	50	100
17. Бдк. натр. " " "	100	100	500	100	100	50	500
18. Выж. сокъ " " "	100	100	500	100	500	100	500
19. Нат. лош. почечн. экстр.	50	100	500	1000	500	100	500
20. " кор. " " "	100	100	1000	100	500	100	1000
21. " свин. " " "	100	500	1000	500	500	500	1000
22. " лош. печен. " "	100	100	500	100	500	100	500
23. " кор. " " "	50	100	500	100	500	50	500
24. " свин. " " "	100	500	1000	100	1000	500	1000
25. " лош. селез. " "	50	100	500	100	1000	100	500
26. " кор. " " "	50	500	1000	500	500	100	500
27. " свин. " " "	100	100	1000	500	1000	100	500
28. Лош. почечн. по Schm.	50	100	100	100	100	50	100
29. Коров. " " " "	100	50	100	50	100	50	100
30. Свин. " " " "	50	100	100	100	100	50	50
31. Лош. печен. по Schm.	50	50	500	100	500	50	100
32. Коров. " " " "	50	100	100	100	100	50	100
33. Свин. " " " "	50	50	500	500	100	50	100
34. Лош. селез. по Schm.	100	100	500	100	500	100	500
35. Коров. " " " "	100	100	500	100	500	50	500
36. Свин. " " " "	50	100	500	100	100	100	500

шихъ количествъ нуклеопрогена въ мочѣ, а чаще при щелочной реакціи ея. Результаты приведены въ ‰, какъ это получается по способу Эсбаха.

Таблица № 82.

Исследуемые растворы	Резуль- таты ‰	Исследуемые растворы	Резуль- таты ‰	Исследуемые растворы	Резуль- таты ‰
1. Натив.лош.сыв.	52,5	13. Нат. содов. кор.		25. Нат. лош. селез.	7,9
2. " кор. "	47,2	экстр.	15,0	26. " кор. "	6,8
3. " свин. "	68,2			27. " свин. "	7,5
4. Лош. сыв. Schm.	10,0	14. Нат. бдк. натр.		28. Лош. поч. Schm.	0,6
5. Коров. "	15,0	экстр.	14,5	29. Коров. " "	0,9
6. Свин. "	25,0	15. Нат. выж. сокъ	20,0	30. Свин. " "	1,0
7. Нат. лош. мыш.		16. Содов. эк. Schm.	1,8	31. Лош. печ. Schm.	0,75
экстр.	7,9	17. Бдк. натр. "	1,3	32. Коров. " "	0,4
8. Нат. кор. мыш.		18. Выж. сокъ "	3,4	33. Свин. " "	0,8
экстр.	9,6	19. Нат. лош. по-			
9. Нат. свин. мыш.		чечн. экстр.	5,2		
экстр.	9,9	20. Нат. коров. по-			
10. Лош. мыш. эк.		чечн. экстр.	10,0	34. Лошад. селез.	
Schm.	0,75	21. Нат. свин. по-		Schm.	0,6
11. Коров. мыш. эк.		чечн. экстр.	10,5	35. Коров. селезен.	
Schm.	0,99	22. Нат. лош. печен.	6,9	Schm.	0,7
12. Свин. мыш. эк.		23. " кор. "		36. Свин. селезен.	
Schm.	1,0	24. " свин. "	10,5	Schm.	0,7

Получивъ такимъ образомъ опредѣленіе бѣлковъ въ употребляемыхъ мною растворахъ по двумъ способамъ, мы можемъ болѣе или менѣе увѣренно говорить о сравнительномъ содержаніи бѣлковъ въ этихъ растворахъ и такимъ образомъ разрѣшать вопросы, возникающіе въ этомъ отношеніи при изслѣдованіи преципитиновъ. Тѣмъ болѣе можетъ быть обоснована такая увѣренность, что при сравненіи результатовъ изслѣдованія бѣлка по тому или другому способу, наблюдается почти полный параллелизмъ въ обоихъ изслѣдованіяхъ, такъ напримѣръ: въ обѣихъ таблицахъ мы видимъ рѣзкую разницу въ содержаніи бѣлка въ сывороточныхъ растворахъ и въ мышечныхъ, и въ то же время почти одинаковое содержаніе въ экстрактахъ мышечныхъ и почечныхъ, печеночныхъ и селезеночныхъ; какъ та, такъ и другая таблицы указываютъ на большее содержаніе

бѣлковъ въ выжатомъ сокѣ, содовомъ и ѣдкаго натра экстрактахъ по сравненію съ экстрактами физиологическаго раствора, особенно эта разница велика въ мясномъ сокѣ; также замѣчается въ обѣихъ таблицахъ уменьшеніе бѣлка при денатурированіи экстрактовъ по способу Schmidt'a. Что касается денатурированныхъ сыворотокъ, то уменьшеніе бѣлка болѣе замѣтно при изслѣдованіи его по Эсбаху.

Такимъ образомъ эти изслѣдованія даютъ право болѣе категорически говорить о возможности вліянія большаго или меньшаго содержанія бѣлковъ на реакцію преципитации ихъ. Напримѣръ: значительно большее содержаніе бѣлковъ въ сывороткахъ не можетъ не имѣть значенія (кромѣ другихъ причинъ) въ усиленіи преципитации мышечными преципитинами сывороточныхъ растворовъ по сравненію съ мышечными; также точно большее содержаніе бѣлка въ выжатомъ сокѣ, содовомъ и ѣдкаго натра мышечныхъ экстрактахъ, повидимому, и даетъ увеличеніе титра антисыворотокъ при изслѣдованіи ихъ на сокъ и эти экстракты и, наоборотъ, уменьшеніе — при изслѣдованіи на экстракты, полученные съ помощью физиологическаго раствора. Это же большее содержаніе бѣлка въ сокѣ и щелочныхъ экстрактахъ, возможно, служить причиной болѣе скорой иммунизации животныхъ, какъ это наблюдалось у насъ.

Въ то же время, опираясь на эти изслѣдованія, надо притти къ выводу, что слабое дѣйствіе Hitz-alkali-преципитиновъ, все равно — сывороточныхъ или мышечныхъ, на экстракты почки, печени и селезенки, денатурированные по Schmidt'y, не можетъ зависеть только отъ незначительнаго содержанія бѣлковъ въ этихъ экстрактахъ, такъ какъ преципитация съ ними не получается больше разведенія 1:50, тогда какъ химически бѣлокъ еще ясно различимъ въ разведеніи 1:100. Повидимому, объясненіе здѣсь надо искать въ незначительномъ содержаніи въ антисывороткахъ общихъ къ этимъ бѣлкамъ преципитиновъ.

Тѣ же самыя явленія имѣются и при дѣйствіи нативныхъ преципитиновъ на нативные экстракты изъ органовъ, но выражены они здѣсь менѣе рѣзко.

Въ заключеніе считаю необходимымъ сказать нѣсколько словъ о чувствительности примѣнявшихся мною реакцій.

Наиболѣе чувствительными въ моихъ опытахъ какъ для сывороточныхъ, такъ и для мышечныхъ бѣлковъ, въ неизмѣненномъ и въ денатурированномъ состояніяхъ, оказались: реакція Heller'a съ азотной кислотой и реакція съ таниномъ; что сходится съ данными другихъ авторовъ. Наименѣе чувствительными оказались реакціи: біуретовая, кипяченіе съ уксусной кислотой и пикриновая кислота, такъ какъ онѣ получаются только въ болѣе крѣпкихъ разведеніяхъ. Наконецъ, среднее мѣсто занимаютъ реакціи съ желѣзистосинеродистымъ калиемъ и уксусной кислотой и реакція съ фосфорновольфрамовой кислотой, при чемъ вторая все же чувствительнѣе первой.

Обзоръ результатовъ и оцѣнка ихъ.

Поставивъ себѣ задачей въ началѣ работы изучить свойства различныхъ преципитиновъ, полученныхъ по способу профессора Schmidt'a, и вмѣстѣ съ тѣмъ выяснитъ, насколько такіе преципитины могли бы быть примѣнимы для опредѣленія денатурированныхъ бѣлковъ на практикѣ, — я одну часть кроликовъ иммунизировалъ денатурированными по Schmidt'y бѣлками, а другую часть нативными бѣлками съ цѣлью имѣть для сравненія нативные преципитины. Какъ нативные, такъ и полученные по способу Schmidt'a преципитины были двоякаго рода: сывороточные и мышечные.

Иммунизация кроликовъ нативными сывороточными и мышечными бѣлками даетъ преципитины, которые имѣ-

ютъ, съ одной стороны, свойства общія для тѣхъ и другихъ, съ другой стороны, — принадлежащія опредѣленному преципитину. Первые представляютъ свойства общія для нативныхъ преципитиновъ вообще, т. е. безразлично, какой бѣлокъ служилъ антигеномъ при полученіи этихъ преципитиновъ. Вторые же представляютъ свойства, присущія только данному преципитину, т. е. или мышечному или сывороточному.

Что касается общихъ свойствъ нативныхъ преципитиновъ, то тутъ надо указать на теченіе реакціи ихъ съ нативными бѣлками, которое въ общемъ придерживается схемы Uhlenhuth'a. Этого нельзя сказать про реакцію съ нагрѣтыми бѣлками, гдѣ отступленіе отъ этой схемы замѣчается явнѣе.

Специфичность нативныхъ преципитиновъ не была абсолютная, а только количественная, однако выражена была рѣзко, т. е. гетерологическія помутнѣнія получались въ разведеніяхъ далеко отстоящихъ отъ титра.

Наряду со специфическими для данного бѣлка преципитинами въ нативныхъ антисывороткахъ надо признавать существованіе преципитиновъ общихъ для различныхъ бѣлковъ того же вида животныхъ, благодаря которымъ получается реакція этихъ антисыворотокъ съ экстрактами изъ органовъ; но эта реакція слабѣе, чѣмъ со своимъ антигеномъ, что зависитъ, вѣроятно всего, отъ разницы въ содержаніи тѣхъ и другихъ преципитиновъ, а не отъ разницы въ содержаніи бѣлковъ.

Элективное насыщеніе по Weichardt'y даетъ возможность получить антисыворотки, нереагирующія съ тѣмъ или другимъ экстрактомъ. Однако въ настоящее время не встрѣчается необходимости въ примѣненіи такихъ органо-специфическихъ сыворотокъ на практикѣ.

Изслѣдованіе нативныхъ преципитирующихъ сыворотокъ на денатурированные бѣлки показало от-

сутствіе какой либо реакціи съ бѣлками, обработанными по Schmidt'y, а также подвергнутыми нагрѣванію при 100° въ теченіи 1/2 часа какъ съ содой, такъ и безъ нея.

Болѣе точное опредѣленіе „ширины реакціи“ нативныхъ преципитиновъ было произведено только по отношенію къ сывороточному преципитину и показало, что нативный преципитинъ обладаетъ „шириной реакціи“ отъ 0° до 85°, т. е. при условіяхъ опыта онъ даетъ еще преципитацию и съ 85°-бѣлкомъ; тогда какъ съ 86°-бѣлкомъ реакціи уже не получается.

Наконецъ, опыты съ дѣйствіемъ нативныхъ преципитиновъ на бѣлки, денатурированные ѣдкимъ натромъ въ условіяхъ Schmidt'a при комнатной температурѣ и при 70°, показали, что въ первомъ случаѣ реакція становится немного слабѣе, во второмъ же ея совсѣмъ нѣтъ.

Наиболѣе существенной разницей между сывороточными и мышечными нативными преципитинами, которую мнѣ удалось установить, является неодинаковая способность этихъ преципитиновъ реагировать съ мышечными бѣлками. А именно, оказалось, что мышечные преципитины сильнѣе реагируютъ съ мышечными экстрактами, чѣмъ сывороточные преципитины, хотя въ общемъ эта разница не такъ уже велика. На сывороточные бѣлки и тѣ и другіе преципитины дѣйствуютъ приблизительно одинаково.

Болѣе сильное дѣйствіе мышечныхъ преципитиновъ на мышечные экстракты надо объяснять тѣмъ, что мышечный же бѣлокъ служилъ для нихъ антигеномъ; причину же ихъ почти одинаковой съ сывороточными преципитинами реакціи съ сывороточнымъ бѣлкомъ надо искать въ двухъ обстоятельствахъ: въ содержаніи въ мышечныхъ антисывороткахъ большаго количества общихъ для сывороточныхъ бѣлковъ преципитиновъ, а также въ 5—6 разъ большемъ содержаніи бѣлковыхъ веществъ въ сывороткахъ по сравненію съ экстрактами.

Препятствіе для полученія нативныхъ мышечныхъ преципитиновъ, которое выставляется многими авторами, а именно: токсичность мясныхъ экстрактовъ для кроликовъ, — на основаніи моихъ изслѣдованій легко можетъ быть обойдено, если до впрыскиванія экстракты нѣсколько дней продержать съ хлороформомъ.

При изслѣдованіи сывороточныхъ и мышечныхъ Hitze-Alkali-преципитиновъ также были обнаружены: 1) общія для тѣхъ и другихъ преципитиновъ свойства и 2) специально присущія каждому изъ нихъ.

Остановливаясь сначала на общихъ свойствахъ, надо указать, что для полученія годныхъ антисыворотокъ, содержащихъ Hitze-Alkali-преципитинъ, необходимо болѣе продолжительное иммунизированіе, какъ это замѣчено вообще для полученія антисыворотокъ къ денатурированнымъ бѣлкамъ. Однако и послѣ продолжительной иммунизации мнѣ не удавалось получать антисыворотокъ съ такимъ же высокимъ титромъ по отношенію къ своему антигену, какимъ обладали нативныя антисыворотки; но въ общемъ антисыворотки, полученные по способу Schmidt'a, были въ достаточной степени чувствительны и годны для изслѣдованій.

Главная разница въ теченіи реакціи Hitze-Alkali-преципитиновъ по сравненію съ требованіями Uhlenhuth'a заключается въ слишкомъ замедленномъ появленіи помутнѣній; остальное же теченіе реакціи обычное. Получающійся преципитатъ значительно меньше такового въ реакціяхъ нативныхъ преципитиновъ.

Еще большая разница между нативными и полученными по способу Schmidt'a антисыворотками заключается въ томъ, что Hitze-Alkali-преципитины обладаютъ слабѣе выраженной специфичностью по отношенію къ своему антигену, т. е. гетерологическія помутнѣнія получаются въ растворахъ денатурированного бѣлка, сравнительно недалеко отстоящихъ отъ титра сыворотокъ. Наилучшее объясненіе

этому явленію даетъ ученіе Obermayer'a und Pick'a о специфичности „видовой“ и „специфичности состоянія“, подтверждающееся и моими опытами.

Примѣненіе элективнаго насыщенія съ цѣлью получить болѣе специфичную сыворотку дало настолько значительное ослабленіе преципитирующей силы ея, что пользованіе такой сывороткой на практикѣ представляется едва-ли возможнымъ.

„Ширина реакціи“ антисыворотокъ, полученныхъ по способу Schmidt'a, значительно больше „ширины“ нативныхъ антисыворотокъ, такъ какъ Hitze-Alkali-преципитины реагируютъ: 1) съ нативными бѣлками, 2) съ бѣлками денатурированными по Schmidt'y, 3) нагрѣтыми до 100° съ содой и безъ нея (при чемъ послѣ нагрѣванія съ содой реакція выступаетъ въ общемъ рѣзче), 4) съ высушеннымъ при 100° сывороточнымъ бѣлкомъ, переведеннымъ въ растворъ при помощи ѣдкой щелочи (въ послѣднемъ случаѣ реакція получается сравнительно слабая).

Чѣмъ болѣе денатураціи подвергается преципитируемый бѣлковый растворъ, тѣмъ болѣе появляется гетерологическихъ помутнѣній, и, наоборотъ, реакція съ нативными бѣлками специфична.

Присутствіемъ общихъ для различныхъ гомологическихъ бѣлковъ преципитиновъ надо объяснить полученіе реакціи Hitze-Alkali-преципитиновъ съ экстрактами изъ различныхъ органовъ; причемъ и по отношенію къ этимъ бѣлкамъ антисыворотки Schmidt'a проявляютъ такую же „ширину реакціи“, но только преципитация, какъ и у нативныхъ антисыворотокъ, получается болѣе слабая.

Изъ свойствъ, присущихъ только сывороточнымъ Hitze-Alkali-преципитинамъ, надо указать на ихъ малую способность реагировать съ мышечными бѣлками, въ особенности съ денатурированными.

Наоборотъ, мышечные Hitze-Alkali-преципитины обладаютъ способностью, дѣйствуя сильнѣе на денатурированные мышечные бѣлки, приблизительно также, какъ сывроточные преципитины Schmidt'a, реагировать съ денатурированными сывроточными бѣлками; и только въ случаѣ сильной денатураціи бѣлковъ (каковой является высушивание при 100°) мышечные преципитины дѣйствуютъ слабѣе сывроточныхъ.

При иммунизации кроликовъ мышечными бѣлками, денатурированными по Schmidt'y, я пользовался слѣдующими 4-мя мышечными препаратами: 1) экстрактами изъ мяса, полученными съ помощью обыкновеннаго физиологическаго раствора поваренной соли, 2) съ добавленіемъ 0,1% соды; 3) съ добавленіемъ 0,1% ѣдкаго натра и, наконецъ, 4) выжатымъ мяснымъ сокомъ.

Изъ сравненія результатовъ иммунизации и изслѣдованія полученныхъ иммунныхъ сывротокъ оказалось, во-первыхъ, что экстрагированіе мышечныхъ бѣлковъ щелочными растворами способствуетъ полученію болѣе крѣпкихъ концентрацій ихъ; во-вторыхъ, что для иммунизации выжатымъ мяснымъ сокомъ и щелочными экстрактами нуженъ менѣе продолжительный срокъ, чѣмъ при пользованіи обыкновенными экстрактами (съ физиологическимъ растворомъ); и въ-третьихъ, что въ результатѣ иммунизации выжатымъ мяснымъ сокомъ и щелочными экстрактами получаютъ болѣе дѣятельныя сывротки. Въ особенности все это относится къ примѣненію выжатого мясного сока, тогда какъ по отношенію къ щелочнымъ экстрактамъ это менѣе рѣзко выражено. Причиной этого служить, повидимому, большее содержаніе бѣлковъ, такъ какъ, дѣйствительно, выжатый мясной сокъ содержитъ въ 2 раза, а щелочные экстракты въ 1½ раза больше бѣлковъ, чѣмъ обыкновенные экстракты.

Всѣ полученные мною результаты по изслѣдованію

Hitze-Alkali-преципитиновъ интересны съ теоретической точки зрѣнія въ томъ отношеніи, что доказываютъ способность не только нативныхъ, но и денатурированныхъ бѣлковъ вызывать, при введеніи ихъ въ организмъ животныхъ, образованіе иммунныхъ тѣлъ — преципитиновъ.

Такъ введеніе животнымъ бѣлковъ, денатурированныхъ нагрѣваніемъ и щелочью по Schmidt'y, вызывало въ данномъ случаѣ образованіе особыхъ, характерныхъ для этихъ бѣлковъ, преципитиновъ, главное свойство которыхъ реагировать не рѣзко специфично съ бѣлкомъ, обработаннымъ какъ антигенъ. Затѣмъ оказалось, что подобно тому, какъ нативные преципитины обладаютъ способностью реагировать съ нагрѣтыми до извѣстной степени бѣлками, такъ и Hitze-Alkali-преципитины реагируютъ съ бѣлками болѣе нагрѣтыми, чѣмъ антигенъ, но только ширина реакціонной способности ихъ значительно больше, чѣмъ нативныхъ преципитиновъ.

Вмѣстѣ съ тѣмъ былъ установленъ фактъ, что чѣмъ болѣе денатурированы бѣлковые растворы, на которые дѣйствуютъ Hitze-Alkali-преципитины, тѣмъ слабѣе выражена специфичность этой реакціи.

Наконецъ, обратило вниманіе при изученіи Hitze-Alkali-преципитиновъ еще одно явленіе, проливающее отчасти свѣтъ на понятіе о „преципитиногенѣ“. Оказалось, что антигенъ, полученный по Schmidt'y, не реагируя больше съ нативнымъ преципитиномъ, вызывалъ въ организмѣ животного образованіе преципитиновъ, реагирующихъ и съ нативнымъ бѣлкомъ. Значитъ, здѣсь бѣлокъ теряетъ способность преципитироваться, но сохраняетъ способность быть преципитиногеномъ. Приходится на основаніи этого факта согласиться съ Pick'омъ, который нашелъ, что антигенное (активное) свойство преципитиногена и осаждаемость преципитиномъ (пассивное) не одинаковы; при чемъ по моимъ опытамъ выходитъ, что антигенное свойство болѣе стойко къ денатурированію.

Ранѣе работавшіе съ полученіемъ преципитиновъ къ денатурированнымъ бѣлкамъ (Schütze, Loeffler, Obermayer und Pick, Kraus u. Joachim) получали антисыворотки, реагирующія и съ нативными бѣлками, отъ введенія бѣлковъ, денатурированныхъ до потери способности преципитироваться нативными преципитинами; и только Fernet und Müller находили, что менѣе стойко антигенное свойство бѣлка.

Подобныя же явленія встрѣчаются и въ другихъ областяхъ биологіи. Такъ Eisenberg und Volk, Штаммъ и др. отдѣляютъ способность агглютинироваться и быть агглютиногеномъ. Въ анафилаксіи работами сначала Rosenau und Andersson'a, а затѣмъ Безрѣдки, Doeurr'a und Raubitschek'a, Kraus'a und Volk'a, Thomsen'a и др., было найдено, что нагрѣваніемъ можно разединить двѣ функціи: сенсibiliзирующую и токсическую, при чемъ послѣдняя при нагрѣваніи исчезаетъ.

На основаніи этого я тоже прихожу къ выводу, что въ бѣлкѣ надо отличать два различныхъ свойства: преципитироваться (пассивное) и быть преципитиногеномъ (активное), при чемъ первое менѣе стойко чѣмъ второе.

Изъ рассмотрѣнныхъ свойствъ Hitze-Alkali-преципитиновъ можно сдѣлать нѣкоторыя заключенія и относительно примѣненія ихъ на практикѣ. Въ виду способности Hitze-Alkali-преципитиновъ дѣйствовать на нагрѣтый и обработанный щелочью бѣлокъ, примѣненіе ихъ на практикѣ можетъ имѣть значеніе при изслѣдованіи нагрѣтыхъ мясныхъ продуктовъ, въ особенности когда невозможно перевести бѣлковыя вещества въ растворъ съ помощью индифферентныхъ растворителей и приходится прибѣгать къ щелочнымъ растворамъ. Хорошимъ растворителемъ былъ-бы содовый растворъ вслѣдствіе его слабаго денатурирующаго свойства, однако сода въ то же время является и слабымъ растворителемъ; поэтому часто бываетъ необходи-

мымъ прибѣгать къ раствору ѣдкаго натра, а въ этомъ какъ разъ заключается одно изъ препятствій къ широкому примѣненію преципитина Schmidt'a. Оказывается, что слишкомъ продолжительная обработка ѣдкой щелочью лишаетъ бѣлокъ способности преципитироваться и преципитиномъ Schmidt'a. Вторымъ неблагопріятнымъ для практики явленіемъ оказывается менѣе рѣзко выраженная специфичность Hitze-Alkali-преципитиновъ, что, можетъ быть, удалось бы обойти постановкой достаточнаго числа контрольных опытовъ.

Изъ Hitze-Alkali-преципитиновъ для изслѣдованія денатурированныхъ мясныхъ продуктовъ мышечные преципитины, изученные нами, имѣютъ преимущество передъ сывороточными, предложенными Schmidt'омъ. Что же касается изслѣдованія неизмѣненныхъ мясныхъ продуктовъ, то здѣсь большой разницы между дѣйствіемъ нативныхъ мышечнаго и сывороточнаго преципитиновъ не замѣчается.

Таблица № 83.

Преципитируемое вещество	Hitze-Alkali-преципитинъ, получ. иммунизацией:			
	1 Кров. сыв.-ки	2 Обык. мыш. экстр.	3 Содов. и ѣдк. натр. экстр.	4 Выж. сока.
Обык. мыш. экстр. по Schmidt'y	1:60	1:250	1:250	1:500
Обык. мыш. экстр. + физ. раст. 100°—30' .	0	1:25	1:50	1:50

Таблица № 83 представляетъ дѣйствіе различныхъ Hitze-Alkali-преципитиновъ на обработанный по Schmidt'y и на 100°-мышечный экстрактъ. Такъ какъ изъ этой таблицы видно, что сильнѣе всего реагируетъ съ мышечнымъ бѣлкомъ преципитинъ выжатаго мясного сока, затѣмъ щелочныхъ экстрактовъ, потомъ обыкновеннаго экстракта и слабѣе всего сывороточный преципитинъ, то выжатый мясной сокъ надо

рекомендовать для получения Hitze-Alkali-преципитина, такъ какъ, содержа больше бѣлковъ, онъ сокращаетъ срокъ иммунизации и даетъ болѣе дѣятельную сыворотку.

ВЫВОДЫ.

1. Введеніе бѣлковъ, денатурированныхъ нагрѣваніемъ и щелочью по способу Schmidt'a, вызываетъ, подобно нативнымъ бѣлкамъ, образованіе въ организмѣ животнаго иммунныхъ тѣлъ — преципитиновъ.

2. Особымъ свойствомъ Hitze-Alkali-преципитиновъ является способность ихъ реагировать съ бѣлкомъ, денатурированнымъ какъ антигенъ.

3. Специфичность Hitze-Alkali-преципитиновъ при дѣйствіи ихъ на денатурированные бѣлковые растворы выражена сравнительно не рѣзко, что зависитъ отъ существованія у этихъ антисыворотокъ „специфичности состоянія“ (по Obermayer'u и Pick'u).

4. Ширина реакціонной способности преципитиновъ Schmidt'a больше ширины нативныхъ преципитиновъ.

5. Hitze-Alkali-преципитинъ сильно реагируетъ съ бѣлкомъ нагрѣтымъ до 100° и растворимымъ въ физиологическомъ растворѣ.

6. Съ бѣлкомъ нагрѣтымъ до 100° , но растворимымъ только въ щелочныхъ растворахъ реагируетъ до извѣстной степени, такъ какъ слишкомъ продолжительное дѣйствіе щелочи дѣлаетъ бѣлокъ неспособнымъ реагировать и съ преципитиномъ Schmidt'a.

7. Ширина реакціонной способности Hitze-Alkali-преципитина дѣлаетъ его болѣе примѣнимымъ при изслѣдованіи нагрѣтыхъ бѣлковъ, поэтому этотъ преципитинъ можетъ быть рекомендованъ для изслѣдованія нагрѣтыхъ мясныхъ продуктовъ, если только достаточнымъ количествомъ кон-

трольныхъ опытовъ на специфичность исключить возможность ошибочныхъ выводовъ.

8. Hitze-Alkali-преципитинъ въ особенности долженъ быть пригоденъ тамъ, гдѣ необходимо примѣнить щелочной растворъ для экстрагирования бѣлковъ изъ мясныхъ продуктовъ.

9. Для извлеченія бѣлковъ лучше всего пользоваться содовымъ растворомъ, какъ слабо денатурирующимъ бѣлокъ; при необходимости же воспользоваться болѣе сильнымъ растворителемъ-растворомъ ѣдкаго натра, надо помнить его рѣзкое денатурирующее свойство.

10. Свойство сыворотокъ преципитировать бѣлки изъ различныхъ органовъ можетъ оказаться пригоднымъ на практикѣ, если представится случай изслѣдовать продукты изъ органовъ.

11. При изслѣдованіи неизмѣненныхъ мясныхъ продуктовъ, повидимому, безразлично, пользоваться-ли сывороточнымъ или мышечнымъ преципитиномъ, такъ какъ разница въ дѣйствіи ихъ на нативный мышечный бѣлокъ незначительная.

12. При изслѣдованіи же денатурированныхъ мышечныхъ бѣлковъ преимущество мышечныхъ преципитиновъ передъ сывороточными рѣзко выступаетъ, почему надо рекомендовать пользоваться ими при изслѣдованіи измѣненныхъ мясныхъ продуктовъ; тѣмъ болѣе, что мышечные преципитины пригодны и для дифференцированія крови.

13. Токсичность нативныхъ мышечныхъ экстрактовъ можетъ быть устранена предварительнымъ храненіемъ съ хлороформомъ.

14. При полученіи мышечныхъ преципитиновъ лучше примѣнять выжатый мясной сокъ, который, содержа больше бѣлковъ, оказывается болѣе пригоднымъ для этого.

15. При примѣненіи экстрактовъ лучше пользоваться щелочными, какъ содержащими больше бѣлковъ.

Положенія.

1. Вопросъ объ изслѣдованіи съ помощью преципитинной реакціи бѣлковъ, подвергнутыхъ очень сильному нагрѣванію, и до настоящаго времени окончательно не разрѣшенъ.
 2. Необходимо, чтобы въ Россіи лабораторіи, въ вѣдѣніи которыхъ находится санитарный надзоръ надъ пищевыми продуктами, ввели и возможно широко пользовались біологическимъ методомъ преципитации при контролѣ надъ фальсификаціями мясныхъ продуктовъ.
 3. Торгово-санитарный надзоръ долженъ быть переданъ въ общественныя руки, а отвѣтственность торгово-промышленниковъ увеличена.
 4. Реакція L ö w i, какъ имѣющая, повидимому, связь съ заболѣваніями органовъ съ внутренней секреціей, безусловно заслуживаетъ дальнѣйшаго экспериментальнаго и клиническаго изслѣдованія.
 5. Поставить прижизненный діагнозъ заболѣванія поджелудочной железы въ настоящее время въ большинствѣ случаевъ удастся, если только примѣнять каждый разъ не одну, а нѣсколько предложенныхъ для этой цѣли реакцій.
 6. Аутосеротерапія экссудативныхъ плевритовъ даетъ неопредѣленные результаты.
 7. Примѣненіе реакцій иммунитета при ранней діагностикѣ туберкулеза весьма желательно.
 8. Формула R i g n e t не во всѣхъ случаяхъ даетъ правильную оцѣнку физической крѣпости человѣка.
 9. Условія производства и широкое примѣненіе труда малолѣтнихъ являются главными причинами сильнаго развитія туберкулеза легкихъ среди рабочихъ фарфоровыхъ фабрикъ.
 10. Желательно введеніе на медицинскихъ факультетахъ отдѣльнаго курса мясовѣдѣнія, такъ какъ знанія въ этой области необходимы для врачей вообще, и для военныхъ врачей въ особенности.
-