

T. KRWAWICZ

Immunologiczne właściwości przedniego odcinka oka.

Immunological properties of the anterior part of the eye.

Wpływ chorego oka na kształtowanie się ogólnych procesów odpornościowych ustroju, jak również wpływ ogólnych procesów immunologicznych ustroju na przebieg uodpornienia w oku, to zagadnienia, które mają duże teoretyczne jak również i praktyczne znaczenie. Jakimi drogami przychodzi w oku do immunologicznego przestrojenia, czy mamy do czynienia z tkankową czy humoralną drogą uodpornienia poszczególnych odcinków oka zwłaszcza tych, które nie mają naczyń, jak rogówka lub soczewka, czy istnieje jakaś odporność miejscowa — to wszystko pytania na które tylko częściowo możemy odpowiedzieć. Sprawa udziału poszczególnych części oka w przebiegu ogólnych procesów odpornościowych wysuwa się na pierwszy plan. Zagadnienia te były przedmiotem badań szeregu dawniejszych autorów. W niniejszej pracy postanowiliśmy zająć się tymi zagadnieniami w odniesieniu do przedniego odcinka oka, a w szczególności rogówki, spojówki i przedniej komory. Przebieg procesów odpornościowych dotyczący dalszych części oka będzie przedmiotem późniejszych naszych badań.

Stałym czynnikiem obronnym spojówki jest przede wszystkim znajdujący się we łzach lizozym (Fleming 1922), co do którego istnieje już bogata literatura. Z badań ostatnich przeprowadzonych w Warszawie przez Juraszyską (1937), wynika, że lizozym zawarty we łzach, posiada zdolności bakterjobjójcze względem gronkowców złocistych i paciorkowców. Działaniem lizozymu w niniejszej pracy nie zajmowaliśmy się.

Jak z dotychczasowych badań wynika, spojówka bierze wyraźny udział w przebiegu procesów odpornościowych całego ustroju. Roemer (1901—1907) wykazał, że wielokrotnym wkraplaniem do worka spojówkowego abryny w roztworze 1:100.000, wywołującym silne błoniaste zapalenie spojówek, możemy doprowadzić spojówkę do takiego stopnia od-

porności, że abryna stosowana w dowolnej ilości miejscowo nie wywołuje już żadnych objawów zapalnych.

Że nie chodzi tu o jakieś miejscowe działanie farmakologiczne lecz o rzeczywiste czynne uodpornienie t.zn. o wytworzenie się specyficznych przeciwciał, wykazał on w ten sposób, że unicestwiał działanie dawki śmiertelnej dla myszy przez dodanie do antygeny (abryny) surowicy zwierzęcia uodpornionego drogą worka spojówkowego. Roemer (l. c.) uzyskał też z surowicy takich zwierząt antytoxynę, która zmieszana z abryną nie wywoływała u człowieka zapalnego stanu spojówek.

Podobne doświadczenia przeprowadzali Steindorf i Loehlein (1914) z krwią węgorza, wywołując miejscowe uodpornienie worka spojówkowego. Krew węgorza, ma właściwości antygeny wywołującego szybkie zapalenie spojówek z chemozą znacznego stopnia.

Na fakt, że spojówka bierze udział w przebiegu procesów odpornościowych całego ustroju, wskazuje lecznicze i szybkie działanie podskórnego zastrzyku surowicy przeciw-dyfterytycznej przy dyfterytycznym zapaleniu spojówek.

Mniej sprzyjające warunki do udziału w przebiegu procesów odpornościowych mogłaby mieć napozór rogówka, gdyż w przeciwieństwie do bogato unaczynionych części oka rogówka pozostaje bez naczyń. Faktem jest, że po zwyczajnym uodpornieniu krowianką, cała skóra jest odporna na zarazek ospy za wyjątkiem rogówki, która pozostaje wrażliwa na nowe zakażenie. Natomiast po szczepieniu samej rogówki krowianką, jest ona odporna, ale skóra i rogówka drugiego oka pozostaje nadal wrażliwa na zakażenie. W związku z tym Süpfle (1909) odróżnia dwa obok siebie przebiegające procesy: proces uodpornienia rogówki i proces uodpornienia reszty organizmu. Axenfeld (1909), jest zdania, że rogówka w uodpornieniu krowianką przez skórę wogóle nie bierze udziału. Grüterowi (1912) udało się natomiast wykazać pewien udział rogówki w ogólnym procesie odpornościowym ustroju. Udało mu się mianowicie wciągnąć rogówkę do ogólnego procesu odpornościowego przez wstrzyknięcie krowianki dożylnie.

Z nowszych badań Zoellera i Bastouila (1924) wynika, że rogówka bierze udział w uodpornieniu biernym. Wywoływali oni u świnek morskich wrzody rogówek przez wprowadzenie do worka spojówkowego pałeczek tyfusu i obserwowali lecznicze działanie surowicy przeciwtyfusowej wstrzykniętej w ilości 2 cm³ podskórnice. To lecznicze działanie dawało się zaobserwować już w przeciągu 24 godzin. Surowica paratyfusowa pozostawała bez żadnego efektu.

Sedani Herrmann (1924) wykazali, że po wszczepieniu do rogówki pałeczek tyfusu występowały w surowicy aglutyniny. Nasuwa się jednak w tym wypadku pewna wątpliwość, a mianowicie czy część materiału użyta do uodpornienia rogówki nie została zresorbowana przez

spojówkę. P o l e f f (1922) wykazał, że dożylne wstrzykiwanie krowianki tylko wtedy prowadzi do uodpornienia czynnego rogówki, gdy zwierzęta są dobrze odżywiane. U głodzonych zwierząt próby te zazwyczaj się nie udają.

Jak z powyższego zestawienia przeprowadzonych doświadczeń wynika, udział rogówki w przebiegu ogólnych procesów odpornościowych ustroju jest mały i niestaly. Niewątpliwie sprawa udziału rogówki w procesach odpornościowych ustroju jest zagadnieniem spornym. Czy brak naczyń w rogówce ma wpływ na brak lub gorszy przebieg procesów odpornościowych i jakie elementy komórkowe rogówki mogłyby brać udział w przebiegu procesów immunobiologicznych w rogówce, jaką jest rola układu siateczkowo-śródbłonkowego w przebiegu tych procesów, to pytania na które nie znajdujemy dotychczas odpowiedzi. Zagadnieniami tymi zajmiemy się w niniejszych badaniach.

Jeżeli chodzi o procesy odpornościowe dotyczące przedniej komory, to z badań W e s s e l y' e g o (1903) wiadomo, że przy zastosowaniu jakiegokolwiek zadrażnienia oka, niezależnie od tego czy będzie ono natury chemicznej, mechanicznej, cieplnej czy elektrycznej, ilość antyciał u zwierzęcia uodpornionego w płynie przedniej komory wzrasta wyraźnie.

S a l u s (1910) wykazał, że wstrzykując 150 I E. antytoxyny dyfterytycznej można biernie uodpornić królika i w odpowiednim czasie punktując przednią komorę, wykazać drogą biologiczną zawartość w niej antytoxyny. Okazało się, że antytoxyna przechodzi do przedniej komory dopiero przy odpowiednio wysokim uodpornieniu zwierzęcia. Okazało się również, że czas potrzebny do nagromadzenia się antytoxyny w przedniej komorze w ilości, która mogłaby zubożnąć 10 krotną dawką śmiertelną toxyny dyfterytycznej dla świnki morskiej wagi 250 g., wynosi ponad 24 godzin od chwili wstrzyknięcia antytoxyny. B ü r g e r s (1911) wykazywał obecność i przechodzenie antytoxyny dyfterytycznej do przedniej komory w ten sposób, że po 48 godzinach po biernym uodpornieniu punktował przednią komorę i mieszał punktą z 8 dniową kulturą buljonową pałeczek błonicy, a następnie wstrzykiwał tę mieszaninę śwince morskiej podskórnice. Podczas gdy zwierzę kontrolne po wstrzyknięciu hodowli buljonowej ginie, zwierzę, które otrzymywało mieszaninę pozostaje przy życiu.

Obecność aglutynin w płynie przedniej komory, stwierdzał R ö m e r (1907) i doszedł do wniosku, że zjawiają się one tylko wtedy, gdy zwierzęta są uodpornione dużymi dawkami surowicy. L e b e r (1906) uodporniał czynnie króliki przez śródżylne wstrzykiwanie pałeczek tyfusu i przecinkowców cholery. Pobierając płyn przedniej komory znajdował przy użyciu odpowiedniej emulsji pałeczek ze stopniowymi rozcieńczeniami płynu przedniej komory aglutynację w rozcieńczeniu 1 : 10 — 1 : 40.

Natomiast przy badaniu płynu przedniej komory u zwierząt nieuodpornionych zjawisko aglutynacji występowało najwyżej w rozcieńczeniu 1 : 5. Według badań L e b e r a (l. c.) aglutynacja w płynie przedniej komory wykazuje miano 10 razy niższe niż w surowicy krwi tego samego zwierzęcia. Z danych, które przytacza B e r e n s (1936) wynika, że aglutynacja w płynie przedniej komory jest conajmniej 250—1000 razy niższa niż w surowicy krwi. O obecności precypityn w płynie przedniej komory wiemy z doświadczeń D u n g e r n a (1903) R ö m e r a (l. c.) G a t t i e g o (1905) i W e s s e l y ' e g o (l. c.) Jeżeli przednią komorę opróżni się przez punkcję i wstrzyknie kroplę antygeny przeciwko któremu zwierzę było uodpornione, możemy zobaczyć wówczas w przedniej komorze, po jej wypełnieniu się, wyraźną precypitację.

Jak z powyższego zestawienia wynika, pojawienie się antyciał w płynie przedniej komory zarówno w przebiegu czynnego jak i biernego uodpornienia, jest faktem bezspornym. Duża różnica w mianie aglutynacyjnym płynu komory przedniej zwierząt uodpornionych czynnie w porównaniu ze surowicą ich krwi, wymagałaby nieco dokładniejszych metod badania. W doświadczeniu niniejszym postanowiliśmy zająć się zarówno tym zagadnieniem, jak również problemem, czy istnieje możliwość wprowadzenia gotowych niweczników do przedniej komory od zewnątrz przez nieuszkodzony worek spojówkowy.

W dalszym ciągu staraliśmy się zaobserwować, czy przez wprowadzenie antygeny do przedniej komory wzrasta poziom niweczników we krwi.

Badania własne

a) Metodyka Badań.

Doświadczenia przeprowadziliśmy na 28 królikach albinosach. W pierwszej grupie 12 królików badano wpływ uodpornienia ogólnego, drogą śródskórnych iniekcji antygeny, na procesy odpornościowe w spojówce oraz wpływ uodpornienia drogą wkraplania antygeny do worka spojówkowego na procesy odpornościowe w skórze. Jako antygeny użyliśmy specjalnie do tych celów przygotowanego antygeny roślinnego, rycynę. Rycyna podobnie jak abryna i krotyna należy do silnych jądów roślinnych, które mają właściwości antygeny. Resorbcja rycyny jest równie szybka i łatwa przy wprowadzeniu jadu drogą iniekcji podskórnej jak śródżylnej. Dawka śmiertelna przy wprowadzaniu jadu drogą jelitową jest około 100 razy większa niż przy zastrzyku. Wysokie uodpornienie zwierzęcia można uzyskać stosując coraz to bardziej wzrastające dawki. Rycyna zastosowana śródskórnie lub do worka spojówkowego wywołuje po pewnym okresie inkubacji bardzo wybitne zmiany w skórze względnie w spojówce. Na skórze powstaje głęboki rozległy naciek z silnym zaczerwienieniem skóry i powiększeniem najbliższych gruczołów. Po pew-

nym określonym czasie (6—9 dni) naciek w centralnych partiach ulega nekrozie. W spojówce wywołuje rycyna ostre objawy zapalne o charakterze błoniastym.

Antygen przygotowaliśmy w ten sposób, że nasiona rycyny po oczyszczeniu z łusek, zostały dokładnie roztarte i poddane działaniu eteru przez okres 24 godzin, celem odtłuszczenia, oddzielenia lecytyny, cholesterolu i alkaloidów. Po odlaniu eteru białą masę pozostałą na dnie naczynia poddano działaniu wyciągającemu dziesięciokrotnej ilości 10% roztworu soli kuchennej. W ten sposób uzyskany wyciąg dializowano uzyskując gotowy czynny antygen, który przechowywaliśmy w stanie zamrożonym w lodówce przy temp. -10°C . Przepis ten jest modyfikacją przepisu podanego przez K o b e r t a (1906).

Rycynę w ten sposób przygotowaną wstrzykiwano kilku królikom śródskórnie w ilości od 0,05 ccm w dawkach wzrastających, co wywoływało powstawanie głębokich nacieków z następowym powstawaniem ognisk nekrotycznych. Po uspokojeniu się zmian zapalnych na skórze wstrzykiwano podwójną i potrójną ilość antygeny śródskórnie starając się uzyskać w ten sposób uodpornienie skóry. U następnych 4 królików wkraplano antygen do worka spojówkowego obu oczu starając się doprowadzić do uodpornienia miejscowego i zaobserwować wpływ na uodpornienie skóry. U dalszych dwu królików stosowano antygen do worka spojówkowego jednego tylko oka. U tak przygotowanych zwierząt z chwilą, gdy spojówki doszły do tak wysokiego stopnia uodpornienia czynnego, że przestały reagować zupełnie na miejscowe stosowanie antygeny w dowolnej ilości, a potrójne dawki śródskórne dawały zaledwie ślad reakcji, przeprowadziliśmy miareczkowanie. Próby wstępne na prawidłowych zwierzętach wykazały, że nasz antygen w rozcieńczeniu 1 : 100 jest najbardziej właściwy do miareczkowania odporności, gdyż daje u zwierząt normalnych mały lecz zupełnie jeszcze wyraźny naciek z nie dużą nekrozą pośrodku, przyczem ilość 0.2 ccm zwierzę znosi bez żadnych objawów ogólnego zatrucia. Antygen w rozcieńczeniu 1 : 10 stosowany do worka spojówkowego, daje u tych zwierząt jeszcze wszystkie objawy zapalenia spojówek. W tych rozcieńczeniach stosowano antygen, t. j. 1 : 100 śródskórnie u zwierząt z uodpornioną spojówką i 1 : 10 do worka spojówkowego zwierząt uodpornionych przez skórę. Reakcje kontrolowano na zdrowych królikach. (Wyniki patrz niżej).

Dążąc do uzyskania danych co do mechanizmu procesów immunologicznych w rogówce, postanowiliśmy zastosować metodę obserwacji dyfuzji barwików, podaną przez B i r k n a u g a K. i B ö e (1946). Barwki wstrzykiwaliśmy wprost do rogówki i porównywaliśmy sposób rozchodzenia się ich w rogówce u zwierzęcia uodpornionego i u zwierzęcia nieuodpornionego. Jednocześnie obserwowaliśmy sposób rozchodzenia się barwików w skórze. Stosowaliśmy

przede wszystkim 1% roztwór błękitu brylantowo-kresylowego, 1% roztwór błękitu metylenowego, 1% roztwór czerwieni obojętnej oraz najlepiej do tych celów nadający się błękit S k y B l u e „Pontamin” dializowany i rozpuszczony w izotonicznym roztworze soli kuchennej. Roztwory barwików wstrzykiwano w ilości 0.002—0.003 cm³. Zwierzęta uodporniono dożylnymi zastrzykami zawiesiny pałeczek okrężnicy, lub pałeczek XI9, zabitych przez ogrzewanie oraz surowicą końską.

U innej grupy kilku królików stosowaliśmy podskórne i dożylnie zastrzyki zawiesiny zabitych i żywych hodowli *Proteus* XI9. Dążąc do uzyskania wysokiego uodpornienia ogólnego i badając drogą odczynu aglutynacyjnego zachowanie się niweczników w przedniej komorze, staraliśmy się poznać warunki i okoliczności, w których niweczники najłatwiej dadzą się ściągnąć do przedniej komory. Nacinano powierzchownie rogówkę, w innych wypadkach wywoływano aseptyczne ropienie w przedniej komorze u zwierząt wysoko uodpornionych. Do zastosowania odmienia XI9, skłoniła nas łatwość uzyskiwania wysokiego poziomu niwecznika *anti* XI9 we krwi królików oraz łatwość wykrywania niwecznika w przedniej komorze drogą odczynu aglutynacyjnego. U zwierzęcia uodpornionego zawiesiną XI9 wstrzykiwaliśmy też tę samą zawiesinę do przedniej komory, aby obserwować wpływ wprowadzonego do wnętrza komory antygeny na poziom niweczników we krwi. Wreszcie przez wkrapianie do worka spojówkowego zwierzęcia prawidłowego surowicy zwierzęcia z wysokim poziomem niweczników *anti* XI9 (aglutynacja 1 : 16,000) staraliśmy się stwierdzić czy niwecznik przedostaje się do przedniej komory przez rogówkę zdrową względnie uszkodzoną.

b) Wyniki Badań

S p o j ó w k a.

Króliki, którym wstrzykiwano rycyną śródskórnie, wykazywały po pewnym stałe występującym okresie utajenia wynoszącym w naszych doświadczeniach od 12—24 godzin, wyraźne zaczerwienienie i obrzęk skóry o średnicy około 2 cm z lekkim zbieleniem w miejscu samej iniekcji. Vide ryc. I.

W przeciągu następnych kilku dni miejscowe objawy zapalne nasilały się, a po środku, zazwyczaj w miejscu poprzednio zbielałym, wytwarzało się ognisko martwicze. Po odgraniczeniu się zamartwicy i wypadnięciu sekwestru skóry, proces zapalny cofał się szybko. Okres trwania zmian zapalnych w skórze od następnego dnia po wprowadzeniu śródskórnym antygeny aż do zupełnego wygojenia trwał przeszło trzy tygodnie. Temperatura ciała zwierzęcia nie przekraczała przez cały okres doświadczenia 39.5 Gruczoły pachwinowe w pierwszych dniach były macalne. Po wygojeniu się zmian na skórze wstrzykiwano zwierzętom powtórnie antygen śródskórnie. Przy użyciu tej samej dawki antygeny, na-

silenie zmian na skórze przy powtórnej iniekcji było znacznie mniej intensywne, nekroza skóry zaledwie zaznaczona. Okres trwania całego procesu zapalnego skrócony. Do zupełnego wygojenia zmian w skórze przyszło w ciągu dwu tygodni. Po trzecim zastrzyku śródskórnym reakcje skórne były tylko słabo zaznaczone. Lekkie miejscowe zaczerwienienie i naciek ustępowały w przeciągu kilku dni bez śladu. Podwójne i potrójne dawki antygeny dawały odpowiednio wyraźniej zaznaczone zmiany. U królików kontrolnych te same dawki antygeny wywoływały rozległe zmiany identyczne ze zmianami jakie obserwowaliśmy po pierwszym zastrzyku u zwierząt badanych. Króliki, u których stosowano rycynę do worka spojówkowego wykazywały, po pewnym okresie inkubacji, który nie przekraczał 12 godzin, objawy ostrego zapalenia spojówek

z przekrwieniem, obrzękiem, rozpułchnieniem i obfitą wydzieliną śluzoworopną, z tworzeniem się drobnych nadżerek w spojówce i błon rzekomych. Niekiedy obserwowano w spojówce obfite wybroczyny. Objawy powyższe nasilały się w przeciągu następnych 48 godzin. Niekiedy stwierdzaliśmy zmętnienia nabłonka przedniego rogówki i drobne nacieki przy rąbku. Po kilku dniach przekrwienie i obrzęk spojówek zmniejszały się, wydzielina zawierała coraz to mniej strzępów błoniastych. W przeciągu około 6 dni objawy zapalne znikwały zupełnie i spojówki wracały do stanu normalnego. W tym stanie spojówek wkraplano powtórnie antygen w tej samej ilości i rozcieńczeniu. Przy każdym następnym wkropleniu objawy zapalne traciły na nasileniu. W ten sposób uodporniano spojówki przez okres około 45 dni, aż do czasu kiedy zakraplanie nie wywoływało żadnej reakcji. Przez cały okres doświadczeń sprawdzano działanie antygeny co do którego zachodziła obawa rozkładu, na królikach kontrolnych. Po takim uodpornieniu królików przystąpiliśmy do właściwych badań mających na celu zaobserwowanie wpływu uodpornienia skóry na procesy immunologiczne w spojówce i odwrotnie wpływu uodpornienia spojówki na immunologię skóry. Do tych celów zastosowaliśmy u pewnej ilości królików z każdej grupy (uodpornionych drogą spo-



Ryc. 1.
Widoczny naciek zapalny w skórze grzbietu królika po śródskórnej iniekcji 0.05 cm³ rycyny.

jówki jak również drogą skóry) antygen rozcieńczony, który u królików kontrolnych dawał zupełnie wyraźne, a jednak niezbyt gwałtowne reakcje. Do iniekcji śródskórnych stosowaliśmy antygen w rozcieńczeniu 1:100, miejscowo do worka spojówkowego w rozcieńczeniu 1:10. U innych królików obu grup stosowaliśmy antygen w tym samym stężeniu, w jakim był używany do immunizacji.

Antygen nierozcieńczony wprowadzony śródskórnie u zwierząt uodpornionych przez skórę, wywoływał zaledwie zaznaczone zaczerwienienie skóry bez wyraźnego obrzęku, podczas gdy przy wprowadzeniu antygeny w rozcieńczeniu 1:100 brak był reakcji zupełnie. U tych królików wkraplanie antygeny do worka spojówkowego zarówno nierozcieńczonego jak i w rozcieńczeniu 1:10 nie wywoływało żadnych zmian zapalnych.

U królików uodpornionych przez spojówkę jednego oka, spojówki oka drugiego nie reagowały zupełnie na antygen wprowadzony w rozcieńczeniu 1:10 a po zastosowaniu antygeny nierozcieńczonego występowało jedynie nieznaczne przekrwienie bez obrzęku i ostrych objawów *conjunctivitis membranacea*. Iniekcje śródskórne antygeny w rozcieńczeniu 1:100 wywoływały zaledwie zaznaczone przekrwienie i obrzęk, które w przeciągu dwu dni znikaly zupełnie. Iniekcje śródskórne antygeny nierozcieńczonego wywoływały wyraźny ostro odgraniczony naciek. Nigdy jednakowoż nie przychodziło do nekrozy i wypadnięcia skóry. W obu przypadkach zmiany te były łagodne w porównaniu ze zmianami u królików kontrolnych.

Iniekcje antygeny nierozcieńczonego w miejscu blizny skórnej po poprzedniej iniekcji najczęściej wywoływały reakcję słabo zaznaczoną. Iniekcje natomiast antygeny rozcieńczonego, nie wywoływały w tych razach zupełnie reakcji.

Jak z powyższego doświadczenia wynika możemy przez uodpornienie drogą zastrzyków śródskórnych doprowadzić do zupełnej niewrażliwości spojówki na działanie rycyny. Przez uodpornienie spojówki doprowadzamy do częściowego uodpornienia spojówki oka drugiego, jak również do częściowego uodpornienia skóry. Wydaje się nie ulegać wątpliwości, że 1) resorbcja rycyny z worka spojówkowego prowadzi do powstania antitoxyny podobnie jak resorbcja z zastrzyku śródskórnego i daje tą drogą odporność ogólną. 2) Istnieje też odporność miejscowa oka które przechodziło zapalenie rycynowe, powodująca że oko to reaguje słabiej niż oko drugie. 3) Istnieje odporność miejscowa skóry.

R o g ó w k a

Jak z podanego we wstępie zestawienia piśmiennictwa wynika, badania nad immunologicznymi właściwościami rogówki nie zostały dotychczas uzgodnione i dostatecznie ugruntowane. W doświadczeniu niniejszym zajmiemy się bliżej tym zagadnieniem.

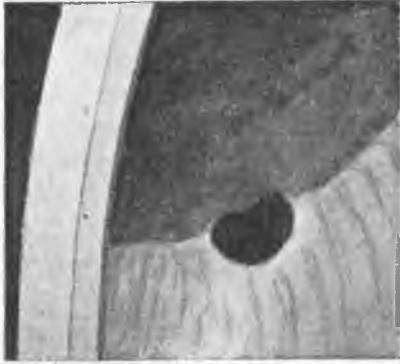
Zdolność uczulonej tkanki do zatrzymywania specyficznego antygeny jest znanym zjawiskiem. Ostatnio do badań przebiegu procesów immunologicznych w skórze zaczęto stosować również izotoniczne roztwory odpowiednich barwików przeżyciowych i obserwowano sposób rozprzestrzeniania się barwika w zależności od stanu uczulenia zwierzęcia. Huda ch i M c M a s t e r (1933) oraz B i r k h a u g i B ö e (1946) wykazali, że alergja bakteryjna oraz anafilaksja surowicza prowadzą do zmian w organiźmie, które manifestują się zahamowaniem rozchodzenia się barwika przeżyciowego w skórze.

Opierając się na tych spostrzeżeniach postanowiliśmy u zwierząt alergicznych obserwować sposób rozchodzenia się barwika w rogówce, kontrolując równocześnie rozprzestrzenianie się barwika w skórze.

U dwu królików uczulonych surowicą końską zastrzyknięto śródskórnice i śródrogówkowo 1% roztwór barwika *Brillantkresilblau* w ilości 0.002 ml., obserwując sposób rozchodzenia się barwika po 1,4 i 24 godzinach. Wyniki były kontrolowane na zwierzęciu zdrowym. W ciągu doświadczeń kilkakrotnie powtarzanych nie zauważyliśmy jakichkolwiek wyraźniejszych różnic pomiędzy sposobem rozchodzenia się tego barwika u zwierząt uczulonych i zdrowych. W skórze barwik zazwyczaj już po kilku godzinach rozprzestrzeniał się w sposób rozlany i dyfundował wyraźnie ku obwodowi. Także w rogówce dyfundował równie szybko u zwierząt uczulonych jak i zdrowych. U następnych dwu królików uczulonych zawiesiną zabitej hodowli odmienia XI9, wstrzykiwano śródskórnice i śródrogówkowo 1% roztwór błękitu metylenowego, lecz nie uzyskano wyników, które mogłyby wskazywać na odmienny sposób rozchodzenia się barwika u zwierząt alergicznych. U tych samych królików stosowaliśmy również 1% roztwór czerwieni obojętnej, bez zaobserwowania jakichkolwiek różnic w rozchodzeniu się barwika tak u królików zdrowych jak i alergicznych. Roztwór czerwieni obojętnej dyfundował najszybciej ku obwodowi.

Że istnieje jednak wyraźna różnica w rozprzestrzenianiu się barwika w rogówce zwierzęcia uczulonego przekonały nas dopiero doświadczenia przeprowadzone na 4 królikach uczulonych wielokrotnymi podskórnymi iniekcjami *bacterium coli*, u których zastosowaliśmy najslabiej dyfundującą, przyżyciowy barwik, mianowicie błękit Sky Blue „Pontamin“, jako 1.1% roztwór w płynie fizjologicznym. Roztworu tego podawaliśmy 0.0025 ml. Miano aglutynacyjne użytego szczepu wynosiło we krwi zwierząt uodpornionych około 1 : 100.

Doświadczenie przeprowadzono w następujący sposób: królikowi wstrzyknięto 1cm³ dożylnie i 1cm³ podskórnice zawiesiny *bact. coli* zawierającej około 250 milj. w 1 ml. Po ok. 4 godzinach gdy ciepłota ciała wzrosła do 40.1⁰ C. zastrzyknięto śródrogówkowo i śródskórnice 0.0025 ml. barwika S k y B l u e, i obserwowano sposób rozprzestrzeniania się bar-



Ryc. 2.

Na rysunku pół schematycznym widoczny jest obraz rogówki w świetle lampy szczelinowej, królika uczulonego inj. zawiesiny bact. coli, u którego barwik Sky Blue wstrzyknięty śródrogówkowo przedstawia się jako ostro odgraniczone, ciemnoniebieskie nagromadzenie barwika bez tendencji dyfundowania ku obwodowi.

po kilku godzinach widoczna jest jasno niebieska otoczka dyfundującego barwika. Różnice te utrzymywały się dłużej niż 24 godzin. (Vide ryc, 2, 3).

Równocześnie przeprowadziliśmy to samo doświadczenie wstrzykując śródskórną tę samą ilość przyżyciowego barwika Sky Blue i uzyskaliśmy podobne różnice między zwierzętami uczulonymi i normalnymi. U zwierząt alergicznych w okresie pierwszych kilku godzin po zastrzyku barwika widzieliśmy charakterystyczne drobne drzewkowate wypustki i rozgałęzienia barwikowe, opisane przez Birkhauga (l. c.) i innych. W późniejszym okresie (po 4 i 24 godzinach) granice plamy barwikowej pozostawały u zwierząt uczulonych bardziej ostro odgraniczone niż u zwierząt kontrolnych, u których już po godzinie barwik wyraźnie dyfundował ku obwodowi. (Porównaj ryc, 4, 5, 6). Doświadczenie to powtórzono na dalszych trzech królikach i uzyskano identyczne

wika w rogówce i skórze w porównaniu do rozchodzenia się tej samej ilości barwika wstrzykniętej śródrogówkowo i śródskórną u zwierzęcia kontrolnego. Różnic wyraźnych między zwierzęciem gorączkującym i prawidłowym nie stwierdzono. Natomiast zupełnie wyraźne różnice w rozchodzeniu się barwika, uzyskaliśmy u królika, u którego systematycznie co kilka dni wstrzykiwano zawiesinę zabitych pałeczek okrężnicy, podskórną w ilości 1cm³. Gdy poziom niwecznika we krwi wzrósł do 1:100, okazało się, że barwik wstrzyknięty śródrogówkowo, przedstawiał się w obserwacji po 1, 4 i 24 godzinach, jako ostro odgraniczone, ciemnoniebieskie nagromadzenie barwika bez tendencji dyfundowania ku obwodowi, podczas gdy u zwierzęcia kontrolnego już



Ryc. 3.

Na rysunku pół schematycznym widoczny jest obraz rogówki w świetle lampy szczelinowej, królika zdrowego, u którego barwik Sky Blue wstrzyknięty śródrogówkowo, przedstawia się jako rozlane, pośrodku ciemnoniebieskie nagromadzenie barwika z wyraźną tendencją dyfundowania barwika ku obwodowi.

wyniki. Joyner i Sabin (1938) i inni, tłumaczą ten odmienny sposób rozchodzenia się barwika w skórze zwierzęcia alergicznego, obniżeniem się przepuszczalności naczyń limfatycznych.

Pewną rolę w odmiennym sposobie rozchodzenia się barwika w rogówce zwierząt alergicznych w porównaniu ze zwierzętami normalnymi, odgrywają naszym zdaniem komórki warstwy właściwej rogówki. Wiadomo, że pewne substancje a przede wszystkim koloidy o ładunku elektrycznym mogą przechodzić przez rogówkę zarówno poprzez komórki jak i pozakomórkowo. Komórki warstwy właściwej rogówki jako histiocytarne (Krawicz 1946), biorą w tym niewątpliwie udział i pośrednicząc we wszelkich procesach odpornościowych przebiegających w rogówce, stanowią, być może, w stanie alergii czynnik powodujący zatrzymywanie się barwika.

Doświadczenie powyższe wskazywałoby na immunologiczną łączność pomiędzy rogówką a resztą organizmu. Wyraźne zmiany w rozprzestrzenianiu się barwika w rogówce zwierząt alergicznych w porównaniu



Ryc. 4.

Na rysunku widoczne nagromadzenie barwika w skórze królika uczulonego *bact. coli*, u którego wstrzyknięty śródskórnym barwik Sky Blue nie ma tendencji do rozprzestrzeniania się ku obwodowi.



Ryc. 5.

Na rysunku widoczne nagromadzenie barwika w skórze królika zdrowego, u którego barwik Sky Blue wstrzyknięty śródskórnym dyfunduje ku obwodowi.



Ryc. 6.

Na rysunku widoczne nagromadzenie barwika w skórze królika uczulonego *bact. coli*, u którego barwik Sky Blue wstrzyknięty śródskórnym rozprzestrzenia się w przeciągu kilku pierwszych godzin w formie drzewkowatych wypustek i rozgałęzień.

z rozprzestrzenianiem się w rogówce zwierząt normalnych, świadczyłyby o tym, że udało nam się wciągnąć rogówkę do procesu senzybilizacji wywołanego przez zastrzyki podskórne. To, że przy uodpornieniu skóry krowianką nie uzyskuje się pełnej odporności rogówki nie świadczy o braku udziału rogówki w ogólnych procesach odpornościowych, ale raczej o istnieniu jakiejś barjery izolującej oko, analogicznej do znanej z literatury zapory izolującej, centralnego układu nerwowego. Grütter (l. c.), wykazał bowiem, że dożylnie wprowadzenie krowianki może doprowadzić do uodpornienia rogówki.

P r z e d n i a k o m o r a .

Doświadczenia mające na celu prześledzenie wpływu uodpornienia ogólnego na przebieg procesów odpornościowych w przedniej komorze, przeprowadziliśmy na królikach uodpornionych zawiesiną zabitej i żywej hodowli odmienia XI9 w iniekcjach podskórnych i dożylnych, przez dłuższy okres czasu, aż do uzyskania wysokiego poziomu niwecznika we krwi. Oczywiście nie wszystkie zwierzęta w jednakowy sposób uodparniane równie szybko reagują zwiększeniem poziomu niwecznika we krwi. Podczas gdy u niektórych zwierząt już po kilku tygodniach (5—6 iniekcji) poziom niwecznika we krwi przekraczał 1 : 16.000, to u innych nawet po kilkunastu iniekcjach odczyn Weil-Felixa nie dochodził do 2.000. Otóż króliki z mianem poniżej 1 : 2.000 wyeliminowano z doświadczenia. U królika u którego odczyn aglutynacyjny dla XI9 we krwi wynosił 1 : 16.000, silne zadrażnienie spojówek jednego oka, bez zmian na rogówce, wywołane wprowadzeniem do worka spojówkowego rycyny, nie spowodowało podniesienia się poziomu niweczników w płynie z przedniej komory. Odczyn ten w płynie z przedniej komory wynosił 1 : 20, zarówno na oku zadrażnionym jak i zdrowym. Zadrażnienie jednak spojówek przez wprowadzenie rycyny do worka spojówkowego związane z uszkodzeniem rogówki przez punkcję przedniej komory, wpłynęło wyraźnie na poziom niwecznika w przedniej komorze. Płyn przedniej komory z oka zadrażnionego wydobyty 24 godzin po wprowadzeniu rycyny i punkcji wykazywał miano 1 : 320, podczas gdy na drugim oku płyn komory przedniej również punktowanej poprzednio, lecz bez zastosowania rycyny, wykazywał miano 1 : 40.

Podobnie u królika, u którego odczyn aglutynacyjny we krwi wynosił 1 : 8.000, spowodowały powierzchowne nacięcia rogówki ściągnięcie niwecznika *anti* XI9 do przedniej komory. Odczyn aglutynacyjny w płynie przedniej komory oka niezadrażnionego wynosił 1 : 5, podczas gdy w oku skaryfikowanym 1 : 40.

Wyniki te potwierdzają spostrzeżenia dawniejszych autorów, wg. których każde mechaniczne zadrażnienie oka powoduje zwiększenie poziomu niwecznika w przedniej komorze. Proces ropny, prawdopodobnie aseptyczny, przedniej komory wywoływał również zwiększenie poziomu niwecznika w przedniej komorze. Przekonało nas o tym następujące doświadczenie. U królika, u którego poziom niwecznika we krwi wynosił 1 : 12.000 a w przedniej komorze oka prawego 1 : 5, staraliśmy się wyizolować gałkę oczną lewą przez oddzielenie spojówki tuż przy rąbku, odseparowanie twardówki od naczyń i resekcję *optico-ciliarną*. Gałka utrzymywała się jedynie na mięśniach prostych. W przeciągu 24 godzin wystąpiło prawie całkowite zmętnienie rogówki a w przeciągu następných dwu dni cała przednia komora wypełniła się ropnym płynem. Wykonane wówczas badanie płynu przedniej komory, wykazało aglutynację 1 : 160. Badanie bakt. płynu wykazało obecność licznych leukocytów. Żadnych bakterii nie stwierdzono. Wydaje nam się, że po wyłączeniu gałki od krążenia ogólnego, poziom niweczników w przedniej komorze wzrósł tylko w związku z wylewem krwi do oka, względnie pochodzi z resztek surowicy krwi zawartych w oku.

Z dotychczasowych badań *Lebera* (l.c.) i innych oraz naszych doświadczeń, wynika, że uodpornieniu ogólnemu towarzyszy pewien, co prawda niski, poziom niwecznika w przedniej komorze i że przez lokalne zadrażnienie można ten poziom w płynie przedniej komory znacznie podwyższyć.

Że jednak przez wprowadzenie antygeny do przedniej komory możemy wpłynąć na podniesienie się poziomu niwecznika we krwi, przekonało nas następujące doświadczenie: Królikowi, u którego po trzech iniekcjach podskórnych oraz dwóch śródżylnych zawiesiny zabitej hodowli odmieńca XI9, poziom niwecznika we krwi wynosił 1 : 1000 i utrzymywał się w tym stanie przez 14 dni, zastrzyknięto do przedniej komory parę kropli zawiesiny zabitej hodowli odmieńca XI9. Po 10 dniach poziom niwecznika we krwi wzrósł do 1 : 4800. Doświadczenie to powtórzone z podobnym wynikiem.

Z powyższego doświadczenia wynika, że przez wprowadzenie antygeny do przedniej komory, możemy doprowadzić do wzrostu poziomu niweczników we krwi.

Wprowadzanie niweczników do przedniej komory od zewnątrz przez nieuszkodzony worek spojówkowy, mogłoby mieć pewne praktyczne znaczenie. Z tych też względów przeprowadziliśmy następujące doświadczenie: Królikowi z wysokim poziomem niwecznika we krwi (W. F. 1 : 16000) pobrano krew z serca w ilości 6cm³ i po oddzieleniu surowicy wkraplało do worka spojówkowego zwierzęcia zdrowego przez okres 6 godzin co pół godziny. W żadnym wypadku nie udało nam się drogą

odczynów aglutynacyjnych stwierdzić ani śladu obecności niwecznika w przedniej komorze. Również powierzchowne nacięcia rogówki celem wywołania wzmożonej resorbcji z równoczesnym zakraplaniem surowicy do worka spojówkowego dały negatywne wyniki. W naszych więc warunkach doświadczalnych nie udało nam się wprowadzić antyciał od zewnątrz do przedniej komory.

S T R E S Z C Z E N I E .

Na podstawie przeprowadzonych doświadczeń uważamy za udowodnione, że :

1) Wywołując odporność antitoksyczną ogólną przez zastrzyki śródskórne rycyny możemy doprowadzić do zupełnego uodpornienia spojówki na rycynę wkraplaną miejscowo. U zwierząt uodpornionych drogą iniekcji śródskórnych, rycyna stosowana w dowolnej ilości do worka spojówkowego nie wywoływała żadnych objawów zapalnych ze strony spojówki.

2) Istnieje też odporność miejscowa oka, które przechodziło zapalenie rycynowe, powodująca, że oko to reaguje słabiej niż oko drugie. Przez uodpornienie drogą wkraplania rycyny do worka spojówkowego jednego oka możemy doprowadzić do całkowitego uodpornienia miejscowego spojówek tego oka jak również do częściowego uodpornienia spojówek oka drugiego i skóry.

3) Udział rogówki w alergii skóry zwierząt senzybilizowanych preparatami bakteryjnymi daje się wykazać metodą barwikową, przy użyciu lampy szczelinowej. Zdolność rogówki do hamowania rozprzestrzeniania się barwika przyżyciowego S k y B l u e „*Pontamin*” występuje równoległe z taką zdolnością skóry u zwierzęcia uczulonego przez systematyczne iniekcje podskórne i dożylne zawiesiny hodowli *bact. coli*.

4) Wydaje się prawdopodobne, że brak naczyń w rogówce wyrównują w odniesieniu do należytego przebiegu procesów odpornościowych prohistiocytarne komórki warstwy właściwej rogówki, które jako jedno z ogniw układu siateczkowo-śródbłonkowego ustroju pośredniczą we wszelkich procesach odpornościowych przebiegających w rogówce (K r w a w i c z l. c.).

5) Potwierdzono badania wcześniejszych autorów, dowodzące, że koncentracja niweczników w przedniej komorze u zwierząt uodpornionych sztucznie jest 250—1000 razy mniejsza niż w surowicy krwi.

6) Dla charakteryzacji zapory pomiędzy krwią a przednią komorą ważne wydaje się nam stwierdzenie, że przez wprowadzenie antygeny do przedniej komory możemy wydatnie podwyższyć poziom niweczników we krwi.

7) Potwierdzono wyniki dawniejszych autorów dowodzących, że uraz mechaniczny oka (rogówki, tęczęwki) powoduje zwiększenie napływu niweczników ze krwi do przedniej komory.

8) Próby mające na celu wprowadzenie niweczników do przedniej komory przez wkraplanie do worka spojówkowego surowicy zwierzęcia wysoko uodpornionego, miały w naszych warunkach doświadczalnych jak dotąd wynik negatywny. Wydaje się nam, że obie błony graniczne rogówki, zarówno błona B o w m a n a jak i D e s c e m e t a, jako błony retikulinowe, stanowią zaporę utrudniającą przedostawanie się niweczników do przedniej komory.

PIŚMIENNICTWO.

1. Axenfeld Th.: *Klin. Mbl. Augenheilk.* 47. II. 330. (1909).
2. Berens K.: *The Eye and its Diseases* (1936).
3. Birkhaug K. and Böe J.: *The Journ. of Immunology* Vol. 54. nr. 2. 107. (1946).
4. Bürgers Th.: *Z. Augenheilk.* 25. (1911).
5. Dungen: *Die Antikörper Jena* (1903).
6. Fleming A.: *Proc. roy. Soc. B.* 93. (1922).
7. Gatti: *Ann. Ottalm.* 31. (1902) b. *Ann Ottalm.* 34. (1905).
8. Grüter W.: *Arch. Augenheik.* 70. 241, 359 (1912).
9. Hudach S. S. and Mc Master P. d.: *Journ. Exp. Med.* 57. (1933).
10. Joyner A. L. and Sabin F. R.: *Journ. Exp. Med.* 68. (1933).
11. Juraszyńska J.: *Klinika Oczna* 188. (1937).
12. Krwawicz T.: *Pol. Tyg. Lek.* Nr. 15. (1946).
13. Kobert R.: *Hb. d. Path. Mikroorganismen.* t. II. I. s. 108. (1927).
14. Leber A.: *Graefes Arch.* 64. (1906).
15. Poleff L.: *Physik. Med. Ges. Kiew*, (1922).
16. Römer P.: *Graefes Arch.* 52, 72. (1901) *Ophthalm. Ges., Heidelberg.*
293. 1907.
17. Salus S.: *Graefes Arch.* 75. I. (1910).
18. Sedan J. Herrman R.: *Rev. gen. Ophtalm.* 38, 267. (1924). *Ref. Zbl Ophthalm.* 14. 446.
19. Steindorf K.: *Graefes Arch.* 88. 158. (1914).
20. Szily A.: *Die Anaphylaxie in der Augenheilkunde.* Stuttgart, (1914).
21. Wessely K.: *Dtsch. Med. Wschr.* 7/8 (1903).
22. Zoeller O. et Bastouil.: *Soc. Biol. Paris* 90. 1154 (1924) *Ref. Zbl. Ophthalm.* 14. 36.

S U M M A R Y

Experiments lead the author to the following conclusions :

1. General antitoxic immunity resulting after intracutaneous ricine injections establishes a total immunity of the coniuectiva to local application of ricine: High doses of ricine instilled into the coniujectival sac do not incite any inflammatory reaction in animals immunized by intracutaneous injections.

2. The existence of a local immunity of the eye after a ricine inflammation has been proved in that the reaction on this eye has been weaker than on the other. Instillation of ricine into the coniuectiva of one eye establishes a high immunity of the coniuectiva of the treated eye, as well as a partial immunity of the other coniuectiva and of the skin.

3. By using the slit lamp method it has been proved that the inhibition of the spread of a vital dye (Pontamin Sky Blue) in the skin of animals immunized by a course of subcutaneous or intravenous injections of bact. coli was accompanied by a similar inhibition in the cornea.

4. It seems probable that prohistiocytic cells of the corneal stroma, representing one link of the reticulo-endothelial system and being involved in all immunization processes of the cornea, may compensate for the lacking vessels during the process of immunization.

5. Former investigations of other authors, stating that the antibody titer in the anterior chamber of artificially immunized animals is 250—1000 times lower than in the blood serum, were confirmed.

6 The fact, that by introducing antigens into the anterior chamber we may considerably raise the antibody titer of the blood, seems of importance in characterizing the nature of the barrier between blood and anterior chamber.

7. Results of other authors stating that a mechanical injury of the eye (cornea, iris) is followed by an increased penetration of antibodies into the anterior chamber, were confirmed.

8. Attempts to introduce antibodies into the anterior chamber by applying the serum of highly immunized animals into the coniujectival sac, gave negative results in our experimental conditions. It seems that both limitant membranes of the cornea, the B o w m a n and the D e s c e m e t membranes, being reticuline membranes constitute a barrier, which inhibits the penetration of antibodies into the anterior chamber.