

tonus nerveux, à l'équilibre hormonal, à la fécondation et au développement même cellulaire et organique.

On refuse d'accepter l'existence des bactéries biophiles tant qu'on a pas isolé les facteurs biogènes secrétés par elles.

Leur existence cependant est formelle et se démontre :

1^ο Par les troubles de développement des êtres vivants soumis à des traitements appropriés produisant une carence en bactéries biophiles ou en substances secrétées par elles.

2^ο Par l'antagonisme formel et complet entre bactéries biophiles et bactéries de putréfaction et de la nécrose.

Les bactéries biophiles ou les substances secrétées par elles sont présentes dans tous les aliments frais d'origine animale ou dans les aliments fermentés à condition qu'ils ne soient pas infectés par des bactéries septiques et nécrosantes.

Dans les aliments susceptibles de subir des fermentations, comme les olives par exemple, les bactéries biophiles existent parmi ceux qui déterminent la première phase de la fermentation des olives. Ces bactéries enrichissent l'huile par des substances biogènes. Pour les identifier l'auteur a procédé à un isolement de tous les germes qui succèdent dans la fermentation des olives entre le 1^{er} et le 7^{ème} jour.

Dans un deuxième stade de recherches chacun de ces germes sera étudié au point de vue action enzymatique sur les différents éléments qui composent les olives.

ΑΝΑΚΟΙΝΩΣΕΙΣ ΜΗ ΜΕΛΩΝ

ΒΙΟΧΗΜΕΙΑ.— Ἡ *in vivo* καὶ *in vitro* ἐνσωμάτωσις τοῦ ραδιενεργοῦ φωσφόρου εἰς τὰ φωσφολιποειδῆ τῶν λευκῶν αἰμοσφαιρίων λευχαιμικῶν ἀσθενῶν*, ὑπὸ *K. Μοίρα* καὶ *Γ. Δεβῆ*** . Ἀνεκοινώθη ὑπὸ τοῦ κ. Γεωργ. Ἰωακείμογλου.

Εἰς προηγουμένης ἐρεύνας ἡμῶν (1, 2, 3) ἐπὶ τῆς συνθέσεως τῶν λιποειδῶν *in vitro* ὑπὸ λευκῶν αἰμοσφαιρίων λευχαιμικῶν ἀσθενῶν, κατόπιν ἐπιβάσεως μετ' ὀξεικοῦ νατρίου σεσημασμένου διὰ ραδιενεργοῦ ἄνθρακος, αἵτινες ἐγένοντο εἰς τὰ Ἐργαστήρια Ἐρευνῶν τῆς Θεραπευτικῆς Κλινικῆς τοῦ Πανεπιστημίου Ἀθηνῶν, προεβλήθη ἡ

* (Ἐκ τῆς Θεραπευτικῆς Κλινικῆς τοῦ Πανεπιστημίου).

** K. MIRAS and G. LEVIS, The *in vivo* and *in vitro* incorporation of P³² in the phospholipids of leucemic W.B.C.

ανάγκη εισαγωγής εις τὰ πειράματα τοῦ ραδιενεργοῦ φωσφόρου (P^{32}). Ἡ κατὰ τὴν *in vitro* ἐπέλασιν λευκῶν αἰμοσφαιρίων προσθήκη P^{32} , ὑπὸ τὴν μορφήν τοῦ Na_3PO_4 , προσφέρει σοβαρὰ πλεονεκτήματα διὰ τὴν μελέτην τῆς συνθέσεως τῶν φωσφολιποειδῶν ὑπὸ τῶν λευκῶν αἰμοσφαιρίων.

Ἡ ἐν τῇ Κλινικῇ ἡμῶν εὐρεῖα χρῆσις διὰ θεραπευτικούς σκοποὺς ραδιενεργοῦ φωσφόρου (P^{32}) ἔδωσε τὴν δυνατότητα ταυτοχρόνων παρατηρήσεων ἐπὶ τοῦ *in vitro* καὶ *in vivo* μεταβολισμοῦ τοῦ P^{32} εἰς τὰ φωσφολιποειδῆ τῶν αἰμοσφαιρίων καὶ τοῦ πλάσματος.

Τὸν *in vivo* μεταβολισμὸν τοῦ P^{32} , κατόπιν ἔνδοφλεβίου ἐνέσεως αὐτοῦ εἰς φυσιολογικὰ ἄτομα, ἐμελέτησαν οἱ Levenson καὶ συνεργάται αὐτοῦ (4). Οὗτοι εὔρον ὅτι τὸ πλεῖστον τοῦ P^{32} ἀπομακρύνεται ταχύτατα ἐκ τοῦ αἵματος μετὰ τὴν ἔνδοφλεβίον χορήγησιν.

Τὸ φαινόμενον τοῦτο ὀφείλεται εἰς ταχεῖαν ἀρχικῶς διαπίδυσιν τῶν φωσφορικῶν διὰ τῶν τριχοειδῶν, ἐνῶ γίνεται βαθμιαίως βραδυτέρα ἡ διαμετακίνησις ἐκ τοῦ πλάσματος. Τοῦτο, κατὰ τοὺς συγγραφεῖς, δυνατόν νὰ ὀφείλεται εἰς τὴν εἴσοδον τῶν φωσφορικῶν ἐντὸς τῶν κυττάρων.

Ὁ Rowe (5) ἐμελέτησεν *in vitro* τὴν ταυτόχρονον διὰ C^{14} καὶ P^{32} σύνθεσιν τῶν φωσφολιποειδῶν τῶν κυτταρικῶν στοιχείων τοῦ αἵματος. Αἱ ὑπὸ τοῦ συγγραφέως ἀναφερόμεναι κατανομαὶ ἐνσωματώσεως τοῦ P^{32} ὀφείλονται εἰς κλάσματα τῶν φωσφολιποειδῶν τῶν τε λευκῶν καὶ ἐρυθρῶν αἰμοσφαιρίων, καὶ ὡς ἐκ τούτου τὰ ἀποτελέσματα αὐτοῦ δὲν δύνανται νὰ συγκριθοῦν πρὸς τὰ ἀντίστοιχα τῆς ἡμετέρας ἐρεύνης.

Ἡ ἀνάγκη σταθερᾶς σχέσεως μεταξὺ ἀναλογίας λευκῶν καὶ ἐρυθρῶν αἰμοσφαιρίων δι' ἐρέυνας παρομοίας φύσεως εἶναι προφανής.

Ἡ παροῦσα ἐργασία ἀφορᾷ κυρίως τὴν μελέτην τῆς *in vivo* καὶ *in vitro* συνθέσεως τῶν φωσφολιποειδῶν ὑπὸ τῶν λευκῶν αἰμοσφαιρίων τῇ παρουσίᾳ Na_3PO_4 σεσημασμένου διὰ P^{32} .

ΥΛΙΚΑ - ΜΕΘΟΔΟΣ

Διὰ τὴν μελέτην ἐχρησιμοποιήθη αἷμα ἀσθενῶν πασχόντων ἐκ χρονίας μυελογενοῦς λευχαιμίας, οἵτινες ἔλαβον θεραπευτικῶς 2 mC P^{32} . Ἡ χορήγησις τοῦ ἰσοτόπου ἐγένετο ἔνδοφλεβίως. Ἐκ τοῦ ὅτι ὁ P^{32} ἐχορηγήθη εἰς ἐξωτερικούς ἀσθενεῖς, ἡ λήψις τοῦ αἵματος δὲν ἐγένετο πάντοτε νήστεως τοῦ ἀτόμου. Καθορισμὸς τῶν ληφθέντων σιτῶν δὲν ἦτο ἐπίσης πάντοτε δυνατός.

Ἐκ τοῦ αὐτοῦ ἀσθενοῦς ἐλαμβάνοντο τρεῖς δείγματα αἵματος. Τὸ πρῶτον πρὸ τῆς ἔνδοφλεβίου χορηγήσεως τοῦ ἰσοτόπου καὶ ἐχρησιμοποιεῖτο διὰ τὴν *in vitro* ἔρευναν.

Τὸ δεύτερον ἡμίσειαν ὥραν¹ μετὰ τὴν ἔνεσιν τοῦ P³² καὶ ἐχρησιμοποιεῖτο διὰ τὸν ὑπολογισμὸν τῆς κατὰ τὴν *in vitro* ἐπόασιν ἀναγκαιούσης ποσότητος P³², ὥστε αἱ *in vitro* καὶ *in vivo* πυκνότητες τοῦ P³² νὰ εἶναι κατὰ τὸ δυνατόν αἱ αὐταί. Τὸ τρίτον τέλος μετὰ παρέλευσιν 6.30' ὥρῶν ἀπὸ τῆς ἐνέσεως. Τὸ δείγμα τοῦτο ἐχρησίμευε διὰ τὴν μελέτην τοῦ *in vivo* ἐνσωματωθέντος P³² εἰς τὰ φωσφολιποειδῆ τῶν αἰμοσφαιρίων τοῦ πλάσματος.

Ἡ *in vitro* ἐνσωμάτωσις P³² ὑπὸ τῶν αἰμοσφαιρίων αἵματος ἐτέρου λευχαιμικοῦ ἀσθενοῦς ἠρηνήθη ἐν ἀντιπαραβολῇ.

Πειράματα ἐγένοντο περαιτέρω διὰ τὴν διαπίστωσιν τῆς ἐπιδράσεως τῆς πέψεως καὶ ἀπορροφήσεως τῶν σιτιῶν ἐπὶ τῆς *in vitro* κατανομῆς τῆς ἐνσωματωμένης ραδιενεργείας μεταξὺ πλάσματος καὶ λευκῶν αἰμοσφαιρίων. Πρὸς τοῦτο δείγματα αἵματος τοῦ αὐτοῦ ἀτόμου, ληφθέντα καὶ μετὰ λήψιν τροφῆς, ἠρηνήθησαν διὰ τῆς *in vitro* τεχνικῆς.

Ἐγένοντο ἐπίσης ἐπόασεις πλάσματος, ἐλευθέρου κυτταρικῶν στοιχείων, μετὰ P³² ὑπὸ μορφήν Na₃PO₄ διὰ τὴν διαπίστωσιν τῆς πιθανότητος ἐνσωματώσεως P³² εἰς τὰ φωσφολιποειδῆ τοῦ πλάσματος ἄνευ κυτταρικῆς συμμετοχῆς.

Ἐπόασεις.— Τὸ πρὸς ἐπόασιν ὀλικὸν αἷμα ἀνεμιγνύετο μετὰ P³² (ὑπὸ μορφήν Na₃PO₄ ἐλευθέρου φορέως), τὸ ποσὸν τοῦ ὁποίου ὑπελογίζετο ἰδιαιτέρως εἰς ἐκάστην περίπτωσιν. Προσετίθεντο ἐπίσης πενικιλίνη 100 Μ/κ. ἐκ. καὶ στρεπτομυκίνη 100 γ/κ. ἐκ. Τὸ μείγμα ἐφέρετο ἐντὸς ὕδατολούτρου 37° C, ὅπου παρέμενεν ὑπὸ ἀνάδευσιν καὶ εἰς ἀτμόσφαιραν O₂ ἐπὶ 6 ὥρας.

Ὁ διαχωρισμὸς τῶν λευκῶν ἀπὸ τῶν ἐρυθρῶν αἰμοσφαιρίων καὶ τοῦ πλάσματος ἐγένετο συμφώνως πρὸς τὴν εἰς προηγούμενον δημοσίευμα ἀναφερθεῖσαν μέθωδον (1). Μετὰ τὸν διαχωρισμὸν ἡ σχέσις τῶν λευκῶν πρὸς τὰ ἐρυθρὰ αἰμοσφαίρια ἦτο 5 : 1, ἣτις θεωρεῖται ἱκανοποιητικῆ.

Διὰ τὰς ἐκχυλίσεις ἐχρησιμοποιήθη ἡ μέθοδος τοῦ Folch καὶ τῶν συνεργατῶν του (6). Τὰ κυτταρικά στοιχεῖα τοῦ αἵματος κατεψύχοντο καὶ ἀνεθερμαίνοντο πρὸ τῆς ἐκχυλίσεως. Τὸ ἐκχύλισμα συνεπυκνοῦτο ὑπὸ κενὸν μέχρι ξηροῦ καὶ παρελαμβάνετο ὑπὸ 2 κ.ἐκ. χλωροφορμίου Ἐκ τούτου ποσοστὸν ἐτοποθετεῖτο ἐπὶ πλακιδίου διὰ τὴν μέτρησιν τῆς ραδιενεργείας. Τὸ ὑπόλοιπον ἐχρησιμοποιεῖτο διὰ τὸν χρωματογραφικὸν διαχωρισμὸν τῶν φωσφολιποειδῶν εἰς κεφαλίνας, λεκιθίνας, σφιγγομυελίνας καὶ λυσοφωσφολιποειδῆ συμφώνως πρὸς τροποποίησιν τῆς μεθόδου τοῦ Phillips (7). Ἡ ραδιενέργεια ἐκάστου κλάσματος καθὼς καὶ τοῦ ἀρχικοῦ δείγματος ἐμετρεῖτο εἰς σύ-

¹ Χρονικὴ περίοδος παρεμβαλλομένη μεταξὺ τῆς ἐνέσεως P³² καὶ ἀποκαταστάσεως ἰσορροπίας τῶν συγκεντρώσεων P³² μεταξὺ πλάσματος καὶ κυττάρων.

στημα Geiger-Müller, λειτουργούντος δια ροής αερίου (Q-Gas) με απόδοσιν 45% δια τόν P³² (Nuclear Chicago No C-110β).

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ - ΣΥΖΗΤΗΣΙΣ

Σκοπός τῆς παρούσης ἐργασίας ὑπῆρξεν ἡ μελέτη τῆς ἐνσωματώσεως τοῦ P³² εἰς τὰ φωσφολιποειδῆ τῶν αἰμοσφαιρίων καὶ τοῦ πλάσματος μετὰ ἀπὸ ἐξάωρον ἐπάσασιν ὀλικοῦ αἵματος, παρουσίᾳ Na₂PO₄ συγκριτικῶς πρὸς ὑπὸ ἀναλόγους συνθήκας μεταβολισμὸν τοῦ P³² in vivo.

Ἡ εἰς τὰ φωσφολιποειδῆ τοῦ αἵματος ἐνσωματωμένη ραδιενέργεια, μετὰ ἀπὸ ἐξάωρον in vitro ἐπάσασιν, ἀνῆλθεν εἰς πολὺ μικρὰ ποσοστά, κυμαινομένη εἰς τὰ λευκὰ αἰμοσφαίρια φυσιολογικῶν ἀτόμων μεταξὺ 0,11 καὶ 0,22%, εἰς δὲ τὰ λευχαιμικῶν ἀπὸ 0,25 - 1,5% τῆς προστεθείσης ραδιενεργείας. Τὸ ποσοστὸν τῆς ἐνσωματωμένης ραδιενεργείας ἦτο πλέον χαμηλὸν κατὰ τὴν in vivo ἐνσωμάτωσιν καὶ δὴ 0,37% ἔναντι 1,32% τῆς in vitro.

Ραδιενεργῶς σεσημασμένα φωσφολιποειδῆ ἀνιχνεύθησαν εἰς τὸ πλάσμα, τὰ λευκὰ καὶ τὰ ἐρυθρὰ αἰμοσφαίρια, τόσον κατὰ τὴν in vivo ὅσον καὶ κατὰ τὴν in vitro μελέτην. Διαφοραὶ ὡς πρὸς τὴν κατανομὴν μεταξὺ τῶν στοιχείων τούτων τοῦ αἵματος πᾶρετηρήθησαν κυρίως εἰς τὰ φωσφολιποειδῆ τοῦ πλάσματος κατὰ τὴν in vivo μελέτην. Ταῦτα περιεῖχον κατὰ μέσον ὄρον διπλάσιον ποσοστὸν ραδιενεργείας, συγκριτικῶς πρὸς τὴν ἀνιχνευθεῖσαν ραδιενέργειαν μετὰ τὴν in vitro ἐπάσασιν. Ἡ παρατηρηθεῖσα σχετικὴ ἀνομοιογένεια θὰ ἠδύνατο νὰ ἀποδοθῆ εἰς ἡυξημένην μεταβολικὴν δραστηριότητα καὶ διαμετακίνησιν τῶν φωσφολιποειδῶν τοῦ αἵματος κατὰ τὴν περίοδον τῆς πέψεως.

Πρὸς διαπίστωσιν ἐνδεχομένης ἐπιδράσεως τοῦ παράγοντος τούτου ἐπὶ τῆς εἰς τὰ φωσφολιποειδῆ τοῦ αἵματος ἐνσωματωμένης ραδιενεργείας (P³²) διενεργήθησαν συμπληρωματικὰ πειράματα. Τὰ ἐκ τούτων δεδομένα ἐκτίθενται εἰς τὸν πίνακα I, ἔνθα τὰ χαρακτηριζόμενα ὡς (α) ἀποτελέσματα ἀφοροῦν εἰς τὴν κατανομὴν τῆς ἐνσωματωθείσης ραδιενεργείας εἰς τὰ φωσφολιποειδῆ ἐρυθρῶν καὶ λευκῶν αἰμοσφαιρίων, ὡς καὶ τοῦ πλάσματος, αἵματος φυσιολογικῶν ἀτόμων ληφθέντος νήστεων τούτων καὶ ἐπάσθεντος ἐπὶ 6 ὥρας εἰς 37° C. Τὰ δὲ (β) ἀφοροῦν εἰς τὴν ἐνσωμάτωσιν τοῦ P³² εἰς τὰ φωσφολιποειδῆ αἵματος, ληφθέντος μετὰ παρέλευσιν 2 ὥρῶν ἀπὸ τῆς λήψεως λιπαροῦ γέυματος καὶ ἐπάσθεντος ὑπὸ τὰς γνωστὰς συνθήκας.

Παρ' ὅλον ὅτι ἡ εἰς φωσφόρον περιεκτικότης τῶν φωσφολιποειδῶν τοῦ πλάσματος παρέμεινεν ἀμετάβλητος πρὸ καὶ μετὰ τὴν λήψιν τροφῆς, ἡ ἐπὶ τοῖς ἑκατὸν εἰς τὰ φωσφολιποειδῆ αὐτοῦ ἐνσωματωθεῖσα ραδιενέργεια (ὑπολογισθεῖσα εἰς μC ἀνὰ γ.

φωσφόρου), ηύξηθη σημαντικῶς κατόπιν ἐπιώσεως τοῦ αἵματος τοῦ ληφθέντος κατὰ τὸν χρόνον τῆς πέψεως, ἤτοι ἀπὸ 0,9% εἰς 3,1% εἰς τὴν μίαν καὶ ἀπὸ 1% εἰς 2,5% εἰς τὴν ἑτέραν περίπτωσιν.

Ἐκ τοῦ πίνακος I καθίσταται προφανές ὅτι τὰ φωσφολιποειδῆ τῶν λευκῶν αἰμοσφαιρίων ἐνσωματώνουν τὸν P^{32} ταχύτερον τῶν ἐρυθρῶν αἰμοσφαιρίων. Ἐκ τῆς ὑφισταμένης σχέσεως μεταξὺ ἀριθμοῦ λευκῶν καὶ ἐρυθρῶν εἰς τὸ αἷμα προκύπτει ὅτι ἢ ἀνὰ κύτταρον λευκῶν ἐνσωματουμένη ραδιενέργεια εἶναι 100πλασία τῆς τῶν ἐρυθρῶν.

Τὰ φωσφολιποειδῆ διεχωρίσθησαν περαιτέρω εἰς τέσσαρα κλάσματα: α) Κεφαλῖναι β) Λεκιθῖναι γ) Σφιγγομυελῖναι καὶ δ) Λυσολεκιθῖναι, τὰ ἀποτελέσματα δὲ ἐκ τῆς κατανομῆς τῆς ραδιενεργείας ἐκτίθενται εἰς τὸν πίνακα II. Αἱ ἀναγραφόμεναι τιμαὶ ἀντιστοιχοῦν εἰς τὰ ἐπὶ τοῖς ἑκατὸν ποσοστὰ τοῦ συνόλου τῆς ἐκ τῆς στήλης παραληφθείσης ραδιενεργείας.

Ὡς διεπιστώθη ὑφ' ἡμῶν καὶ ἄλλων ἐρευνητῶν (8, 9), ἡ εἰς φωσφολιποειδῆ περιεκτικότης τῶν κυτταρικῶν στοιχείων τοῦ αἵματος οὐδόλως ἐπηρεάζεται ἐκ συνθηκῶν, αἵτινες μεταβάλλουν τὴν εἰς φωσφολιποειδῆ περιεκτικότητα τοῦ πλάσματος. Διὰ τοῦτο δὲν ἐθεωρήθη σκόπιμον νὰ ὑπολογισθοῦν αἱ ἐνσωματώσεις εἰς τιμὰς ειδικῆς ραδιενεργείας, ἤτοι $\mu\text{C}/\gamma$ φωσφόρου.

Ὡς ἐμφαίνεται ἐκ τοῦ πίνακος II καὶ προκειμένου περὶ τῆς περιπτώσεως α.α 1, χρονία μυελογενῆς λευχαιμία, αἱ κατανομαὶ τῆς ραδιενεργείας εἰς τὰ φωσφολιποειδῆ τῶν λευκῶν, τόσον *in vitro* ὅσον καὶ *in vivo*, παρουσιάζουν σημαντικὰς ὁμοιότητας, τουλάχιστον ὅσον ἀφορᾷ τὰ δύο κύρια κλάσματα, ἤτοι 27,4% καὶ 23,7% διὰ τὸ κλάσμα τῶν κεφαλινῶν, 66,4% καὶ 60,5% διὰ τὸ κλάσμα τῶν λεκιθινῶν.

Τὰ ἀνωτέρω ἀποτελέσματα ἀφοροῦν ἐνσωματώσεις P^{32} εἰς τὰ φωσφολιποειδῆ τῶν λευκῶν αἰμοσφαιρίων ἀφ' ἐνὸς μετὰ ἐξάωρον *in vitro* ἐπώσιν καὶ ἀφ' ἑτέρου κατανομῆν τῆς ραδιενεργείας *in vivo* εἰς τὰ φωσφολιποειδῆ αἵματος τοῦ ἰδίου ἀσθενοῦς 6.30' ὥρας ἀπὸ τῆς ἐνδοφλεβίου χορηγήσεως 2mC P^{32} .

Εἰς τὸν αὐτὸν ἀσθενῆ ἐγένετο νέα λήψις αἵματος 20 ἡμέρας ἀπὸ τῆς χορηγήσεως τοῦ P^{32} , ἡ δὲ ἐπὶ 6ωρον *in vitro* ἐπώσις ἐγένετο ὑπὸ τὰς αὐτὰς συνθήκας (ιδὲ πίνακα II α/α 2).

Ἄξιον ἰδιαίτερας προσοχῆς εἶναι τὸ γεγονός ὅτι μετὰ 20ῆμερον ἀπὸ τῆς θεραπευτικῆς χορηγήσεως τοῦ P^{32} ἡ κατανομῆ αὐτοῦ μεταβάλλεται οὐσιωδῶς. Οὕτω ἀντιστρέφεται χαρακτηριστικῶς ἡ μεταξὺ κεφαλινῶν καὶ λεκιθινῶν κατανομῆ τῆς ραδιενεργείας τόσον εἰς τὰ λευκὰ αἰμοσφαίρια ὅσον καὶ εἰς τὸ πλάσμα κατὰ τὰς *in vivo* παρατηρήσεις.

ΠΙΝΑΚ I

In vitro ένσωμάτωσις του P³² εις τὰ φωσφολιποειδή του αίματος πρό και μετά λήψιν τῆς τροφῆς.

Πυκνότης P ³² μ C/10 κ. έκ.	Ένσωμάτωσις εις δλιζὰ φωσφολιποειδή μ c/10 κ. έκ. % προσεθείσης		Κατανομή ένσωματώσεως % συνόλου *	
	α	β	Έρυθρά	Λευκά
Φυσιολογικόν	69	69	34	65,10
	α	β		
	0,078	0,077	29,9	67
	0,11	0,11		
Φυσιολογικόν	69	69	31	63
	α	β		
	0,15	0,16	34,4	63
	0,22	0,22		
				1
				2,5

* Έπελογίσθη βάσει τῆς ειδικῆς ραδιενεργείας, ἤτοι μC/γ φωσφόρου

α = Νῆστις

β = Μετά λήψιν λιπαρῶν στείων

ΠΙΝΑΞ ΙΙ

Κατανομή της ραδιενεργείας εις τὰ διαχωρισθέντα κλάσματα τῶν φασφολιποειδῶν λευκῶν αἰμοσφαιρίων
καὶ πλάσματος λευγαμιζῶν ἀσθενῶν

α/α	Στοιχεῖα Ἡλικία Γένος Διάγνωση	Τύπος καὶ ἀριθμὸς λευκῶν αἰμοσφαιρίων	In vivo δόσις P ³² εἰς mC	In vitro δόσις P ³² εἰς μC/κ.δ.	% απορρόφηση	Ἐκαστοσινία κατανομή τῆς ραδιενεργείας							
						Λευκά				Πλάσμα			
						α	β	γ	δ	α	β	γ	δ
1	♀/34 Χρον. μινελ. λευγαμία	Π = 72, Λ = 5 Β = 1, Μινελ. κ. = 19 Μινελοβλ. = 3 21.800/κ. χιλ.	2	0,045		27,4 23,7	66,4 60,5	2,7 15,8	3,5 7	92 92,8	6,8 6,2	0,7 0,5	0,5 0,5
2	Νο 1 μετὰ 20ήμερον		2	0,045	0,25	55,2 36,8	36 37,4	8,7 10	0 15,7	10,5 21,8	66,6 38,3	21 18,2	2 21,7
3	♂/25 Χρον. μινελ. λευγαμία	Π = 56, Λ = 1 Μινελ. β. = 3 Μινελ. κ. = 20 Μον. κντ. = 6 Προμινελ. κντ. = 2 P 12 60.000/κ. χιλ.		12,5	1,5	26,8	61,1	7,8	4,3	61,7	27,7	4,5	6,1

α = Κεφάλινα. β = Λεξιθίνα. γ = Σφιγγομυελίνα. δ = Λυσολεξιθίνα. * Υπελογίσθη βάσει τῆς ραδιενεργείας τοῦ αἵματος τῶν 30'.

Ἀντιθέτως ἡ κατανομή τῆς ραδιενεργείας μετὰ ἐξάωρον *in vitro* ἐπώσιν τοῦ αὐτοῦ αἵματος τῇ προσθήκῃ P^{32} ἔδωσε τὰ ἐξῆς ἀποτελέσματα.

Τὸ ποσοστὸν τῆς ραδιενεργείας τῶν κεφαλιῶν ἀπὸ 55,2% (*in vivo*) ἡλαττώθη εἰς 36,8% καὶ παρετηρήθη βαθμιαία σύνθεσις λεκιθινῶν ὡς ἐμφαίνεται ἐκ τοῦ ηὔξημένου ποσοστοῦ κλάσματος τῶν λυσολεκιθινῶν, ὅπερ ἀνῆλθεν εἰς 15,6%.

Ἡ εἰκὼν τῆς κατανομῆς τῆς ραδιενεργείας εἰς τὰ φωσφολιποειδῆ τοῦ πλάσματος συνηγορεῖ ὑπὲρ τῆς ταχύτερας διαμετακινήσεως κεφαλιῶν.

Κατὰ τὴν *in vitro* ἐπώσιν τὸ ποσοστὸν τῆς ραδιενεργείας εἰς τὸ κλάσμα τῶν κεφαλιῶν ηὔξήθη ἀπὸ 10,5% εἰς 21,8%.

Δέον νὰ σημειωθῇ ὅτι ἡ κατανομή τῆς ραδιενεργείας εἰς τὸ ὀλικὸν αἶμα ἐτέροῦ λευχαιμικοῦ ἀσθενοῦς (ιδεὲ πίνακα III α/α 3) κατὰ τὴν *in vitro* ἐπώσιν παρουσίασεν ἀνάλογον εἰκόνα πρὸς τὴν ὑπ' α/α 1.

Τὸ προέχον εἰς τὰ λευκὰ αἵμοσφαιρία κλάσμα ἦτο τὸ τῶν λεκιθινῶν (61,1%), εἰς δὲ τὸ πλάσμα τὸ τῶν κεφαλιῶν (61,7%).

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Μεταξὺ τῆς *in vivo* καὶ *in vitro* ἐνσωματώσεως τοῦ P^{32} ὑπὸ τῶν φωσφολιποειδῶν τῶν λευκῶν αἵμοσφαιρίων, λευχαιμικῶν ἀσθενῶν, ὑφίσταται ἀναλογία κατανομῆς εἰς τὸ ὑπὸ τῶν κεφαλιῶν καὶ λεκιθινῶν ἐνσωματούμενον ποσοστὸν P^{32} . Ἡ σχέσις αὕτη διεπιστώθη ὑφισταμένη διὰ τὴν χρονικὴν περίοδον ἐξάωρου *in vitro* ἐπώσεως καὶ *in vivo*, 6.30 ὥρας μετὰ τὴν ἐνδοφλέβιον χορήγησιν P^{32} . Τὸ χρονικὸν τοῦτο διάστημα συμπίπτει μὲ τὸ ὑπὸ τῶν Entenman (10) καὶ τῶν συνεργατῶν του καθορισθὲν διὰ τὴν συμπλήρωσιν τοῦ μεταβολικοῦ κύκλου τῶν φωσφολιποειδῶν.

Κατὰ τὴν μελέτην τῆς *in vivo* ἐνσωματώσεως τῆς ραδιενεργείας, 20 ἡμέρας μετὰ τὴν χορήγησιν P^{32} , ἡ παρατηρηθεῖσα κατανομή εἰς τὰ ἀναφερθέντα κλάσματα τῶν φωσφολιποειδῶν ὑπῆρξε διάφορος τῆς *in vitro*. Εἶναι συνεπῶς προφανὲς ὅτι τὰ τὰ ἀπομονωθέντα ἐκ τῶν λευκῶν αἵμοσφαιρίων φωσφολιποειδῆ P^{32} , 6.30 ὥρας μετὰ τὴν λήψιν P^{32} , προέρχονται ἐκ συνθέσεως ἐπιτελουμένης ἐντὸς αὐτῶν τούτων τῶν λευκῶν αἵμοσφαιρίων. Ὁ ρυθμὸς τῆς συνθέσεως ἐνὸς ἐκάστου κλάσματος εἶναι ὁ αὐτὸς ὡς καὶ κατὰ τὴν *in vitro* μελέτην.

Ὡς ἀνεμένετο τὸ ὀλικὸν ποσὸν τῆς ἐνσωματωθείσης ραδιενεργείας εἰς τὰ φωσφολιποειδῆ τῶν λευκῶν αἵμοσφαιρίων ἦτο χαμηλότερον κατὰ τὰς *in vivo* παρατηρήσεις. Τοῦτο ὀφείλεται εἰς τὴν ἡλαττωμένην πρὸς τὰ αἵμοσφαιρία προσφορὰν P^{32} , ἔνεκα τῆς εὐρείας κατανομῆς τούτου εἰς διάφορα ἄλλα συστήματα τοῦ ζῶντος ὀργανισμοῦ.

Ἡ διάφορος κατανομή τῆς ραδιενεργείας εἰς τὰ κλάσματα τῶν φωσφολιποειδῶν

τοῦ πλάσματος κατὰ τὸν *in vivo*, ἐν ἀντιθέσει πρὸς τὸν *in vitro* πειραματισμόν, εἶναι ἀποτέλεσμα τῆς διττῆς προελεύσεως τούτων *in vivo*.

Τὸ μεγαλύτερον ποσοστὸν τῶν φωσφολιποειδῶν τοῦ πλάσματος προέρχεται ἐκ τῆς συνθετικῆς λειτουργίας τοῦ ἥπατος, μικρότερον δὲ ἀνήκει εἰς τὴν συνθετικὴν λειτουργίαν τῶν κυτταρικῶν στοιχείων τοῦ αἵματος. Κατὰ τὴν *in vitro* μελέτην τὰ φωσφολιποειδῆ P^{32} τοῦ πλάσματος εἶναι σχεδὸν ἀποκλειστικῶς κυτταρικῆς προελεύσεως, διότι ὡς ἔδειξε σχετικὸν πείραμα, πλάσμα ἐλεύθερον κυτταρικῶν στοιχείων ἐνσωματώνει ἀσήμαντον ραδιενέργειαν εἰς τὰ περιεχόμενα εἰς αὐτὸ φωσφολιποειδῆ.

Ἰδιαιτέρας σημασίας ὑπῆρξεν ἡ παρατηρηθεῖσα αὐξήσις τῆς *in vitro* ἐνσωματώσεως P^{32} εἰς τὰ φωσφολιποειδῆ τοῦ πλάσματος αἵματος, ληφθέντος κατὰ τὴν περίοδον πέψεως λιπαρᾶς τροφῆς. Τὰ ἀποτελέσματα ταῦτα ὑπῆρξαν ἰδιαιτέρως ἐνδιαφέροντα. Ἡ εἰς φωσφόρον περιεκτικότης τῶν φωσφολιποειδῶν τῶν ἐρυθρῶν καὶ λευκῶν αἰμοσφαιρίων ὡς καὶ τοῦ πλάσματος, οὐδόλως μετεβλήθη πρὸ καὶ μετὰ τὴν λήψιν τροφῆς Ὡς ἐκ τούτου ἡ ἠϋξημένη ἐνσωμάτωσις δὲν δύναται ν' ἀποδοθῆ εἰς ἀνάλογον αὐξήσιν τοῦ ὑποστρώματος.

Γεγονὸς εἶναι ὅτι κατὰ τὴν περίοδον πέψεως ὑφίσταται ἠϋξημένη μεταβολικὴ δραστηριότης τῶν φωσφολιποειδῶν τοῦ αἵματος, ἥτις καθίσταται ἐμφανῆς καὶ μετὰ ἀπὸ μελέτην *in vitro* διὰ τῆς χρήσεως ραδιενεργῶς σεσημασμένων προδρόμων τῶν φωσφολιποειδῶν.

S U M M A R Y

The *in vitro* and *in vivo* incorporation of P^{32} into blood and especially W.B.C. phospholipids was studied. Experiments were performed on bloods of leucemic patients before and after treatment with P^{32} .

After a 6 hours *in vitro* and 6.30 hours *in vivo* metabolism of P^{32} radioactivity was found into both plasma and cells phospholipids.

White blood cells phospholipids incorporated about 65% red blood cells 34% and plasma 1% of total lipid specific activity ($\mu\text{C}/\mu\text{g}$ of Phosphorus).

Plasma phospholipids radioactivity was increased when blood was taken after the injection of fat diet and incubated *in vitro*, although no difference was observed in the phosphorus content before and two hours after injection of fat diet.

Total phospholipids of white blood cells and plasma were separated into cephalines, lecithins, sphingomyelins and lysophospholipids, by silicic acid chromatography. Lecithins and cephalins radioactivity of white blood cells, during the 6 hours *in vivo* and *in vitro* study shows characteristic similarities.

ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. MALAMOS B., MIRAS C., LEVIS G., J. MANTZOS, 'Υπό δημοσίευσιν εις Journal Lipid Metabolism.
2. ΜΟΙΡΑΣ Κ. ΛΕΒΗΣ Γ., Πρακτικά 'Ακαδημίας 'Αθηνῶν, τόμ. 36 (1961) σ. 15.
3. ΜΟΙΡΑΣ Κ., ΜΑΝΤΖΟΣ Ι., Πρακτικά 'Ακαδημίας 'Αθηνῶν, τόμ. 31 (1961) σ. 26 κέξ.
4. LEVENSON S. M., ADAMS M. A., ROSEN H., and LASKEY TAYLOR F. H. J. Clin. Invest., 32: 497, (1953).
5. ROWE C. E., Biochem. J. 73: 483, (1959).
6. FOLCH J., LEES M., and SLOANE STANLEY G. H.: J. Biol. Chem., 226: 497, (1957).
7. PHILLIPS G. B., Biochim. Biophys. Acta, 29: 594, (1958).
8. WENDT H., Biochem. Z., 250: 212, (1932).
9. VANLQUIST B., Biochem. J., 25: 1628, (1931).
10. ENTENMAN C., CHAIKOFF I. L., and ZILVERSMIT D. B., J. Biol. Chem., 166: 15, (1946).
11. BLOOR W. R., J. Biol. Chem., 19: 1, (1914).

*

‘Ο ‘Ακαδημαϊκός κ. Γεώργ. ‘Ιωακείμογλου κατά την ανακοίνωσιν τῆς ἀνωτέρω μελέτης εἶπε περὶ αὐτῆς τὰ ἑξῆς.

‘Ερευνᾶται συγκριτικῶς εἰς τὴν παροῦσαν μελέτην ἡ ἐνσωμάτωσις τοῦ ραδιενεργοῦ φωσφόρου εἰς τὰ φωσφολιπίδια τοῦ ὀλικοῦ αἵματος *in vivo* καὶ *in vitro*. Αἱ παρατηρήσεις ἐγένοντο ἐπὶ δειγμάτων αἵματος ληφθέντων ἐξ ἀσθενῶν πασχόντων ἐκ χρονίας μυελογενοῦς λευχαιμίας πρὸ καὶ μετὰ θεραπείαν διὰ ραδιενεργοῦ φωσφόρου.

‘Η ἐνσωμάτωσις τῆς ραδιενεργείας εἰς τὰ φωσφολιπίδια τῶν αἰμοσφαιρίων καὶ τοῦ πλάσματος ἔμετρεῖτο 6 ὥρας μετὰ τὴν *in vitro* ἐπώασιν δειγμάτων αἵματος μετὰ ραδιενεργοῦ φωσφόρου. Ἀνάλογοι παρατηρήσεις ἐγένοντο ταυτοχρόνως ἐπὶ τοῦ αὐτοῦ ἀσθενοῦς ὅστις ἐλάμβανε ραδιενεργὸν φωσφόρον διὰ θεραπευτικὸν σκοπὸς.

‘Η κατανομή τῆς ἐνσωματωμένης ραδιενεργείας εἰς τὰ φωσφολιπίδια τῶν λευκῶν αἰμοσφαιρίων καὶ τοῦ πλάσματος εὐρίσκεται εἰς σταθερὰν σχέσιν, τόσον κατὰ τὴν *in vivo*, ὅσον καὶ κατὰ τὴν *in vitro* μελέτην. Τοῦτο ἰσχύει διὰ διάστημα 6.30 ὥρῶν ἀπὸ τῆς ἐνδοφλεβίου χορηγήσεως τοῦ ραδιενεργοῦ φωσφόρου καὶ διὰ ἐξάωρον ἐπώασιν *in vitro*.

‘Εκ τῆς ἐνσωματωμένης ραδιενεργείας τὸ μεγαλύτερον ποσοστὸν, ἤτοι 65%, ἀνιχνεύθη εἰς τὰ λευκὰ αἰμοσφαίρια, ἐνῶ εἰς τὰ ἐρυθρὰ αἰμοσφαίρια ἀνευρέθησαν τὸ 34%. Τὸ πλάσμα περιεῖχεν 1% τῆς ραδιενεργείας, ὑπολογιζομένης εἰς μC (μικροκιουρή) ἀνὰ χιλιοστὸν τοῦ γραμμαρίου φωσφόρου.

Ευρέθη ότι η λήψις τροφῆς πλουσίας εἰς λιπαρὰ σιτία αὐξάνει τὴν ἐνσωματωμένην εἰς τὰ φωσφολιπίδια ραδιενέργειαν, ἐνῶ τὸ ὀλικὸν ποσὸν τοῦ φωσφόρου δὲν ἐπηρεάζεται. Τοῦτο προκύπτει ἐκ τοῦ γενομένου συγκριτικῶν μετρήσεων 2 ὥρας πρὸ καὶ 2 ὥρας μετὰ τὴν λήψιν λιπαροῦ γέυματος.

Τὰ ὀλικά φωσφολιπίδια τῶν λευκῶν αἰμοσφαιρίων καὶ τοῦ πλάσματος διεχορίσθησαν ἐπὶ στήλης πυρρικοῦ ὀξέος εἰς κεφαλίνια, λεκιθίνια, σφιγγομυελίνια καὶ λυσοφωσφολιπίδια.

Διὰ τὰ καθορισθέντα χρονικὰ διαστήματα τῶν 6 ὥρῶν ἡ κατανεμηθεῖσα ραδιενέργεια μεταξὺ τοῦ κλάσματος τῶν λεκιθινῶν καὶ τοῦ κλάσματος τῶν κεφαλινῶν εὐρίσκειτο ὑπὸ σταθερὰν σχέσιν *in vivo* καὶ *in vitro*.

ΒΙΟΧΗΜΕΙΑ.—Μαθηματικαὶ σχέσεις μεταξὺ βιοσυνθέσεως τῆς θυροξίνης καὶ ἀνταγωνιστῶν αὐτῆς, ὑπὸ Κ. Μοῖρα καὶ Κ. Κονταξῆ*. Ἀνεκοινώθη ὑπὸ τοῦ κ. Γεωργ. Ἰωακείμογλου.

Ἡ ἐξήγησις τοῦ μηχανισμοῦ διὰ τοῦ ὁποίου φάρμακόν τι ἀνταγωνίζεται τὴν λειτουργίαν βιολογικοῦ συστήματος ὑπῆρξεν ἔδαφος πολλῶν συζητήσεων ἐν τῇ φαρμακοδυναμικῇ.

Τὴν σημασίαν τοῦ μαθηματικοῦ τούτου προβλήματος διείδον πρῶτοι οἱ Michaelis καὶ Menten (1) οἵτινες καὶ προέτειναν τὴν κατάλληλον πρὸς τοῦτο μαθηματικὴν ἐξίσωσιν, ἣτις μὲ διαφόρους τροποποιήσεις ὑφίσταται καὶ μέχρι σήμερον (2, 3).

Ἐθεωρήσαμεν σκοπίμων, ὅπως ἐφαρμόσωμεν τὴν διὰ τῶν μεθόδων τούτων διερεύνησιν τοῦ ἀνταγωνισμοῦ τῆς βιοσυνθέσεως τῆς θυροξίνης ὑπὸ τῶν παραγῶγων τῆς θειουρίας πρὸς τὸν σκοπὸν νὰ κατατάξωμεν τὸν ἀνταγωνισμὸν τοῦτον.

Ἡ εἰσαγωγή τῶν ραδιενεργῶν ἰσοτόπων καὶ συγκεκριμένως τοῦ ραδιενεργοῦ ἰωδίου εἰς τὴν διαγνώστικὴν, ἔδωκε τὴν δυνατότητα συγκεντρώσεως ἐπαρκῶν παρατηρήσεων καὶ ἀσφαλῶν κριτηρίων ἀφορώντων τὴν βιοσύνθεσιν τῆς θυροξίνης. Ἐπὶ τῶν κριτηρίων τούτων στηριζόμενοι διηρευνήσαμεν τὰς εἰς τὴν παροῦσαν μελέτην θεωρητικὰς ἐξισώσεις ἀνταγωνισμοῦ. Εὐρέθημεν προσέτι εἰς τὴν ἀνάγκην νὰ εἰσαγάγωμεν τὸν ὑπὸ τοῦ Agiens (4 - 6) προταθέντα παράγοντα τῆς εἰδικῆς δραστηκότητος ὡς ἐκφράζοντα τὴν ὑφισταμένην σχέσιν μεταξὺ μονάδος ἐπιτυγχανομένου συμπλέγματος (φάρμακον - βιολογικὸν σύστημα)¹ καὶ προκαλουμένης ἐνεργείας.

* C. MIRAS and C. CONTAXIS, *Mathematical relations between biosynthesis of thyroxine and its antagonists.*

¹ Οἱ CLARK καὶ RAVENTOS (7) προέτειναν ἐπίσης, ὅπως ἡ πυκνότης μιᾶς ἀνταγωνιζομένης οὐσίας, ἣτις μεταβάλλει καθ' ὠρισμένον ποσοστὸν τὸ ἀναγκαῖον ποσὸν ἄλλης δραστηκῆς οὐσίας τὸ ἀπαι-