

NAUČNO DRUŠTVO NR BOSNE I HERCEGOVINE
ODJELJENJE MEDICINSKIH NAUKA
SOCIETAS SCIENTIARUM BOSNAE ET HERCEGOVINAE
SECTIO SCIENTIARUM MEDICINAE

RADOVI ACTA

I



SARAJEVO
1953

POJAVE NEUROTROPNOG ANTAGONIZMA VITAMINA B₁ I TETANUS-TOKSINA

N. Nikolić

Na osnovi prvobitne ideje, da se kod bolesnih od šizofrenije, i to onih u katatonom stanju, te kod bolesnih od genuine epilepsije izazove »toksični šok« parenteralnim putem sa gotovo subletalnim dozama tetanus-toksina, izvađani su i dolje opisani pokusi. Tada se je naime pretpostavljalo, da bi na taj način mogle nastati takve izmjene u samoj protoplazmi i neuroplazmi motoričkih, nervnih elemenata, — stanica i neurona —, djelovanjem tetanus-toksina, koja bi se manifestirala u izazivanju tetaničkog stanja i promjene u vođenju podražaja motoričkog impulsa. Ta hipotetička promjena u koloidnoj strukturi protoplazme motoričkih stanica i neuroplazme motoričkih neurona poslije »prikopčavanja« uz nju kompleksa tetanus-toksina, mogla bi biti u smislu obrazovanja nekih tvorevina, sličnih imunim tjelesima, a u obliku toksin- antitoksin kompleksa. Ta bi promjena mogla izazvati izvjesnu (povišenu?) koncentraciju koloida, a time i stvoriti neku vrstu barijere za nekontrolirane motoričke impulse kod oboljenja motoričkog i »psihomotoričkog« nervnog sistema, (epileptičara, bolesnih od parkinsonizma, choreae, tickova itd.), kao i reaktivni potres osjetnog nervnog sistema kod katatonih stanja šizofrenije, psychasthenije, hysterije i td.), neko »učvršćenje« koloida motoričkih, respektivno i osjetnih nervnih elemenata.

Tu je hipotezu trebalo dokazati. Upravo u oči rata, u februaru 1941. god. u bolnici Vrapče davane su prvi puta intravenozno jake doze tetanus-toksina nekolicini bolesnika, koji su болоvali od katatonih oblika šizofrenije. Injekcije su bile date samo jedanput, i po izjavi dr. Župića poslije tog »tetano-toksičkog šoka« nastupilo je izvjesno poboljšanje kod tih bolesnika. Međutim rat je u martu 1941. omeo te pokuse, i oni više nisu bili ponovljeni.

Istom je sada bilo moguće proširiti pokuse na osnovu te početne ideje u pretpostavci, da bi tetanus-toksin, kao jedan između dokazanih neurotropnih otrova, (strijnin, curare, otrovi nekih zmijsa, — kobre itd.), mogao biti u izvjesnim uslovima neka vrsta »transportnog vehikla« za druga sredstva, koja imaju blagotvorno i terapeutsko djelovanje na motorički nervni sistem i relativno na

osjetne centralne elemente. U ovom je slučaju uzet vitamin B₁, kojeg bi trebalo transportirati »na plećima« tetanus-toksina i tako prodrijeti u unutrašnjost motoričkog nervnog tkiva, u koliko on, (vitamin B₁) nije sam u stanju da to učini u tolikoj mjeri, zbog svoje slabije prodornosti, neurotropizma ili iz drugih nekih uzroka. Pretpostavljalo se, da bi to moglo imati terapijsko značenje naročito kod radnika, pogođenih profesionalnim oboljenjima (neuritida, neuralgijama, patofiziološkim promjenama uslijed pretjeranog rada i iskorišćavanja motoričkih živaca, oboljenjima očnih, motoričkih živaca, N. facialis, postoperativnim i drugim traumama motoričkog, živčanog tkiva itd.). U isto vrijeme se je pomišljalo na nastavljjanje izvođenja pokusa s tom novom varijacijom prilikom liječenja oboljenja, prvenstveno motoričkog, nervnog sistema: genuinij epilepsija, parkinsonizma, choreae, tickova itd., zatim, putem reaktivnog potresa i oboljenja predominantno osjetnog sistema: šizofrenije, psihoza itd.

U julu i novembru 1952. god. vršeni su preliminarni pokusi na zamorcima, čiji postupak i njihove rezultate ovdje iznosimo.

MATERIJAL:

1. Tetanus-toksin, a) serija 171 i b) serija 172, dobiveni od serološkog odsjeka Centralnog Higijenskog zavoda u Zagrebu (dr. Vuksanović, dr. Stanić) iz kulture soja »Boston 263«.

2. Toksin je titriran

a) u julu 1952. (Ferdo Juzbašić, laborant) tako, da je 1 cm³ tetanus-toksina razrijeđenog 1:10000 (1 ccm tetanus-toksina:10000 cm³ Aqu. dest.) usmrtio zamorca teškog 250 g za 3 dana;

b) u novembru 1952. 1 cm³ tetanus-toksina razrijeđenog 1:15000 usmrtio zamorca teškog 260 g za 3 dana.

3. Vitamin B₁ (Aneurin »Pliva«)

a) 1 ccm 25 mg vitamina B₁

b) 1 ccm 50 mg. (Preparat je dobiven u ampulama).

IZVOĐENJE POKUSA:

Jačina toksičnosti tetanus-toksina (serija 171 i serija 172) dobivenih iz kulture B. tetanus (soj Tetanus-Boston 263) utvrđena je biološkim putem na zamorcima tako, da D. L. M. tetanus-toksina serije 171 na zamorcu iznosi 1 ccm tetanus-toksina razrijeđenog 1:10000, a D. L. M. tetanus-toksina serije 172 iznosi 1 ccm tetanus-toksina razrijeđenog 1:15000.

Zamorac je nakon jedne jedine injekcije od 1 ccm tetanus-toksina serije 171 za 2 1/2 dana uginuo pod klasičnim znacima tetanusa, a onaj od 1 ccm tetanus-toksina serije 172 za 3 dana. Pojave i oboljenja tih »kontrolnih« zamoraca uspoređivani su sa onima pokusnih zamoraca, tretiranih s vitaminom B₁ i tetanus toksinom.

Dva su para zamoraca u julskom i novembarskom pokusu dobivala tetanus-toksin i vitamin B₁ nemiješane u jednoj šprici (pokus I.), t. j. posebno tetanus-toksin i posebno vitamin B₁.

Pokus u julu 1952 br. I.

Pokusna životinja	Datum injiciranja	Tetanus-toksin razrijeđen 1:5000, 1 ccm	Aneurin 1 ccm 25 mg V B ₁	Pojava tetanusa
Zamorac br. 1922	14. VII.	0,4	1/2 ccm	
	15. VII.	0,3	1/2 „	tt
	17. VII.	—	—	ttt
	18. VII.	0,3	1/2 „	ttt
Svega		1 ccm (sol. 1:5000 2 D. L. M.)	1 1/2 ccm (37,1/2 mg)	
Zamorac br. 637	14. VII.	0,5	1/2 ccm	
	15. VII.	0,3	1/2 „	tt
	17. VII.	—	—	tt
	18. VII.	0,3	1/2 „	ttt
Svega		1,10 ccm (1:5000, više od 2 D. L. M.)	1 1/2 ccm (37,1/2 mg)	

Pokus u julu, br. II.

Drugom je paru zamoraca (u julu) na isti način nešto pojačan tetanus-toksin i dvostruka količina aneurina u isto vrijeme s pauzom od 1 dan (16. VII.) kao gore.

Pokusna životinja	Datum injiciranja	Tetanus-toksin razrijeđen 1:5000, D. I. M. 1 ccm	Aneurin 1 ccm 25 mg B ₁	Pojava tetanusa
Zamorac br. 1705	14. VII.	0,5	1 ccm	
	15. VII.	0,3	1 „	ttt
	17. VII.	0,3	1 „	ttt
	18. VII.	0,2	1 „	ttt
Svega		1,30 ccm (sol. 1:5000, više od 2 i pol D. I. M.)	4 ccm (= 100 mg)	
Zamorac br. 1901	14. VII.	0,4	1 ccm	
	15. VII.	0,3	1 „	tt
	17. VII.	0,4	1 „	tt
	18. VII.	0,3	1 „	tt
Svega		1,4 ccm (sol. 1:5000, oko 2 i pol D. I. M.)	4 ccm (= 100 mg)	

Pokus u novembru br. III.

U novembru je vršen pokus na paru zamoraca, kojima su bile ubrizgane jače količine tetanus-toksina i vitamina B₁. (Kontrolni zamorac br. 253) uginuo je za 48 sati nakon injekcije 1 ccm tetanus-toksina razrijeđenog 1:5000, a zamorac (br. 1954) za 48 sati nakon injekcije 1 ccm tetanus-toksina razrijeđenog 1:10000; dok je treći kontrolni zamorac (br. 290) uginuo za 4 dana nakon injekcije tetanus-toksina razrijeđenog 1:15000).

Pokusna životinja	Datum injiciranja	Tetanus-toksin razrijeđen 1:10.000, 1 ccm D. L. M.	Aneurin 1 ccm (0 mg B ₁)	Pojava tetanusa
Zamorac br. 183	7. XI.			
	9. XI.			ttt
	12. XI.	1 ccm		ttt
	14. XI.	—	1/2	tttt
	20. XI.	1/2 ccm		tttt
	22. XI.			tttt
Zamorac br. 40	7. XI.			ttt
	9. XI.			tttt
	12. XI.		1 ccm	tttt
	14. XI.	1 ccm	1/2 „	tttt
	20. XI.		1 „	tttt
	21. XI.			tttt

Pokus br. IV. u julu.

Paru zamoraca davan je u julu gotovo u dvostrukim, drastičnim, letalnim dozama tetanus-toksin razrijeđen 1:5000 i pomiješan u jednom špricu s vitaminom B₁.

Pokusna životinja	Datum injiciranja	Tetanus 1:5000 — aneurin (1 ccm = 25 mg B ₁)	Pojava tetanusa
Zamorac br. 2		0,4 ccm t. toksina + 1 ccm aneurina	
	14. VII.	0,3 ccm t. toksina + 1 ccm aneurina	
	15. VII.	0,5 ccm t. toksina + 1 ccm aneurina	bez znakova oboljenja
	17. VII.	1 ccm t. toksina + 1 ccm aneurina	
	18. VII.	1 ccm t. toksina + 1 ccm aneurina	
	Svega	2,2 ccm t. toksina (sol. 1:5000, više od 4 D. L. M. — 4 ccm aneurina = 100 mg)	

Pokusna životinja	Datum injiciranja	Tetanus 1:5000 - aneurin (1 ccm = 25 mg B ₁)	Pojava tetanusa
Zamorac br. 33	14. VII.	0,5 ccm t. toksina + 1 ccm aneurina	Slabi znakovi na desnoj nozi (poslije 24 h)
	15. VII.	0,3 ccm t. toksina + 1 ccm aneurina	
	17. VII.	0,4 ccm t. toksina + 1 ccm aneurina	t
	18. VII.	0,5 ccm t. toksina + 1 ccm aneurina	tt
		0,5 ccm t. toksina + 1 ccm aneurina	
	Svega	1,70 ccm (sol. 1:5000 t. toksina oko 3 i pol D. L. M. + 4 ccm aneurina 100 mg B ₁ vitamina)	

Pokus br. V. u novembru.

Pokus u novembru 1952 (pomiješan tetanus-toksin i aneurin).

Pokusna životinja	Datum injiciranja	Tetanus-toksin razrije- đen 1:10.000 — aneurin (1 ccm = 50 mg)	Pojava tetanusa
Zamorac br. 954	7. XI.	1 ccm t. toksina + 1 ccm aneurina	
	9. XI.	1 ccm t. toksina + 1 ccm aneurina	t
	10. XI.	+ 1 ccm aneurina	t
	12. XI.	pomiješan stajao pret hodno 20 min. pri sobnoj temp.	t
	14. XI.		
	16. XI.	1 ccm t. toksina + 1 ccm aneurina	tttt
	22. XI.	(odmah injiciran)	tttt
Zamorac br. 253	7. XI.	1 ccm t. toksina + 1 ccm aneurina	
	9. XI.	1 ccm t. toksina + 1 ccm aneurina	t
	10. XI.	+ 1 ccm aneurina	t
	12. XI.	prethodno stajao 20 min. pri sobnoj temperaturi	t
	14. XI.		ttt
	16. XI.	1 ccm t. toksina + 1 ccm aneurina	tttt
	21. XI.	(odmah injiciran)	uginuo od paratifusa

D I S K U S I J A

a) Kontrolni zamorci, određeni za titraciju tetanus-toksina, ugibali su od 1 ccm tetanus-toksina a) serije 172 razrijeđenog 1:10000 u vremenu od 2 i po dana, a b) serije 172 ugibali su od 1 ccm tetanus-toksina razrijeđenog 1:15000 za 3 dana s tipičnim znacima tetanusa. Tako je ustanovljena dosis letalis minima za obje serije tetanus-toksina, producirane u julu i novembru 1952 g. u Centralnom higijenskom zavodu u Zagrebu.

b) Prvom je paru pokusnih zamoraca dan tetanus-toksin u julu 1952, i to jednom prvog dana 0,4 ccm tetanus-toksina u razređenju 1:5000; dakle otprilike 1 D. L. M. ili, možda, i veća, drugog dana 0,3 ccm istog razređenja, trećeg dana pauza, i četvrtog dana još 0,3 ccm tetanus-toksina, svega 1 ccm (od razređenja 1:5000), ustvari više od dvije D. L. M. tetanus-toksina te serije.

Drugi je zamorac tog prvog pokusnog para dobio više od dvije D. L. M. tetanus-toksina istog razređenja.

Oba zamorca dobijala su u isto vrijeme po 1/2 ccm aneurina (u 1 ccm 25 mg B₁, dakle 1 1/2 ccm, što iznosi 37,5 mg).

Injekcije su davane sa posebnim špricama i na posebno mjesto. To je potrebno naročito istaknuti zbog pokusa na trećem paru, gdje su injekcije davane skupa i s drugim kvalitativnim efektom.

Prvi par zamoraca pokazivao je trećeg dana umjerene znakove tetanusa, koji su se nešto pojačali četvrtog i petog dana, a zatim postepeno slabili. Zamorci su bili živahni i bez znakova teških lezija, već 23. VII. bili su gotovo oporavljeni, 24. VII. bili su ubijeni.

c) Drugi je par zamoraca dobijao nešto veće doze tetanus-toksina istog razređenja i dvostruke doze aneurina, i to isto posebno. Znakovi tetanusa bili su slabiji.

d) Na isti način pravljjen je pokus u novembru 1952., ali s tetanus-toksinom veće toksičnosti i s jačim vitaminom B₁. Pokusni su zamorci i pokraj pojave tetanusa bili živahni i ostali su živi. Pojave su tetanusa iz dana u dan sve više izčezavale i konačno izčezle nakon 18—20 dana (tabela 4).

e) Treći je par zamoraca dobio drastične doze tetanus-toksina, ali zajedno s aneurinom. Iste doze kao i drugi par 1 ccm aneurina, 50 mg B₁ (pomiješanog u jednoj šprici). Jedan zamorac dobio je 2,20 ccm tetanus-toksina, više od 4 D. L. M., a drugi 1,70 ccm tetanus-toksina, oko 3 1/2 D. L. M. Svaki je od tih zamoraca dobio po 4 ccm aneurina.

Kod zamorca, koji je dobio 2,20 ccm tetanus-toksina, nije bilo znakova tetanusa, a kod drugog zamorca bilo je četvrtog dana jedva primjetnih znakova tetanusa.

Tetanus-toksin davan je u razređenju od 1:5000 zbog vjerojatnosti oslabljenja njegove toksičnosti, te je stoga 1 ccm tetanus-toksina u razređenju 1:10000, dat kontrolnom zamorcu, uzet kao ekvivalentan = 1 ccm tetanus-toksina u razređenju 1:5000, dat pokusnom zamorcu.

f) Sličan pokus vršen je u novembru, ali tetanus-toksinom jače toksičnosti i jačim vitaminima B₁. Rezultati su isti. Pokusni zamo-
rac br. 253 nije uginuo od tetanusa, nego od paratifusa.

ZAKLJUČAK

1. Pojave su kvalitativnog neurotropnog antagonizma vitamina B₁ i tetanus-toksina ustanovljena in vivo ovim pokusima.

2. Fenomen neutralizacije neurotropne toksičnosti tetanus-toksina pomiješanog s vitaminom B₁ ostaje nejasan. Zasad bi se mogle iskonstruirati dvije hipoteze: da vitamin B₁ veže tetanus-toksin u slaboaktivni kompleks, detoksicira tetanus-toksin (-frakciju) in vitro (pokus br. IV u julu i pokus br. V. a u novembru — apsorpcija in vitro) ili da se neutralizacija javlja u samom tkivu (pokus br. I, II i III) prikopčavanjem za stanice oba ta neurotropna faktora, budući da zajedno iz istog mjesta prodiru u nervno tkivo, ili ga tetanus-toksin prenosi za sobom u tkivo.

3. Faktor varijabilnosti nije utvrđen zbog pomanjkanja većeg broja pokusnih životinja potrebnih za takav pokus.

4. Ovi preliminarni pokusi mogli bi dati poticaj za vršenje pokusa:

- a) sa ostalim neurotrofnim otrovima i sredstvima;
- b) za preciznije ispitivanje jačine preparata B₁ i određivanja preciznije internacionalne jedinice vitamina B₁;
- c) za ispitivanje prisustva vitamina B₁ u nekoj tvari (hrani);
- d) za slične pokuse sa ostalim vitaminima i hormonima.

5. Postoji mogućnost praktičnog iskorišćavanja ovog pokusa za liječenje bolesti u vezi s poremećajima motiliteta, naročito genui-
nog oblika epilepsije, parkinsonizma, choreae, tick-ova itd. i nekih drugih nervnih i psihijatrijskih oboljenja, u neurologiji, neuritisa (Ishias), profesionalnih neuralgija kod radnika, motoričke iscrplje-
nosti, umora i sl. u kombinaciji sa ostalim vitaminima, osobito vi-
itaminom C, postoji mogućnost liječenja masovnih pojava B₁ — hi-
povitaminoznih i drugih hipotonija, učvršćenja autonomnog efekto-
ričnog nervnog sistema, parasimpatikusa, ispitivanja tolerancije
(konstitucija i dispozicija) količine vitamina B₁ u organizmu itd.,
kao i liječenje oboljenja osobito malignih forma tetanusa intraveno-
znim i intramuskularnim velikim dozama vitamina B₁ u kombinaciji
s antitoksičnim serumom tetanusa.

SUMMARY

1) Experiments were carried out on guinea-pigs to determine the relations and behaviour of two neurotropic substances viz. the tetanus-toxin and vitamin B₁. On two occasions three to four lethal doses of tetanus-toxin and vitamin B₁ were injected to one group of guinea-pigs separately and to another mixed in one syringe.

2) These experiments confirmed *in vivo* the phenomenon of neurotropic antagonism between vitamin B₁ and the tetanus toxin.

3) These preliminary experiments may bring about:

a) other similar experiments with other neurotropic poisons, other vitamins and hormones;

b) a more precise examination of the strength of the preparation B₁ as well as of its presence in food;

c) a therapy of the diseases of the motoric nervous system and especially the genuine forms of epilepsy, Parkinsonism, chorea, ticks, neuritis, as well as the strengthening of the autonomous nervous system and in psychiatry as o shock with reactive action on psycho-sensorial centres; moreover, the therapy of tetanus by means of large doses of vitamin B₁ administered parenterally in combination with the antitoxic tetanus serum.

R É S U M É

1) Des experimente ont été faits sur des cobayes afin de déterminer les relations mutuelles et le comportement de deux substances neurotropes, à savoir de la toxine de tétanos et de la vitamine B₁. A deux reprises trois à quatre doses léthales de la toxine et de la vitamine B₁ on été administrées à un groupe de cobayes séparment et à un autre groupe mêlées dans une même syringe.

2) Ces expériments ont confirmé *in vivo* le phénomène de l'antagonisme neurotropique de la vitamine B₁ et de la toxine de tétanos.

3) Ces experiments peuvent conduire:

a) à autres experiments semblables avec d'autres poisons neutropes, d'autres vitamines ou hormones,

b) à une examination plus précise de la force de la préparation B₁ et de sa présence dans la nourriture,

c) au traitement des troubles de motilité et surtout des formes essentielles d'épilepsie, du parkinsonisme, de la chorée, des ticks, des névrites ainsi qu' à la fortification du système nerveux autonome et en psychiatrie en tant que choc à action réactive sur les centres psychosensoriales, finalement au traitement du tétanos par de grandes doses de vitamine B₁ administrées parentéralement combinées avec le sérum antitoxique du tétanos.

ZUSAMMENFASSUNG

1) Es wurden Experimente am Meerschweinchen ausgeführt zwecks Feststellung der Beziehungen und des Zusammenhanges zweier neurotropischen Substanzen, nämlich des Tetanus-Toxins und des Vitamins B₁. Bei zwei Gelegenheiten wurden 3 bis 4 lethale Dosen Tetanus-Toxins und Vitamin B₁ injiziert, einer Gruppe von Meerschweinchen getrennt und einer anderen gemischt in einer Syringe.

2) Diese Experimente bestätigten in vivo das Phenomen des neurotrophen Antagonismus zwischen dem Vitamin B₁ und dem Tetanus-Toxin.

3) Diese präliminaren Experimente können führen:

a) zu anderen ähnlichen Experimenten mit anderen neurotrophen Giften, Vitaminen und Hormonen;

b) einer präziseren Prüfung der Stärke des Preparates B₁, sowohl auch dessen Anwesenheit in der Nahrung;

c) einer Behandlung der Erkrankungen (Störungen) der Motilität und besonders der genuinen Formen von Epilepsie, Parkinsonismus, Chorea, Ticks, Neuritis, als auch der Stärkung des autonomen Nervensystems und in der Pshychiatrie, als ein Schock mit reaktiver Wirkung auf psycho-sensorische Zentren; weiterhin, die Therapie von Tetanus durch grosse Dosen des Vitamins B₁, verabreicht parenteral, kombiniert mit dem antitoxischen Tetanusserum.



