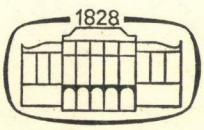
ORVOSTUDOMÁNY

SZERKESZTI: KNOLL JÓZSEF

26.

KÖTET

A MAGYAR TUDOMÁNYOS AKADÉMIA V. ORVOSI TUDOMÁNYOK OSZTÁLYÁNAK KÖZLEMÉNYEI



AKADÉMIAI KIADÓ, 1975

1-2.

SZÁM

ORVOSTUDOMÁNY

A Magyar Tudományos Akadémia V. Orvosi Tudományok Osztályának Közleményei

A SZERKESZTŐ BIZOTTSÁG TAGJAI:

BABICS ANTAL, ERNST JENŐ, GEGESI KISS PÁL, HAYNAL IMRE, KERPEL—FRONIUS ÖDÖN, MISKOLCZY DEZSŐ, ZSEBŐK ZOLTÁN

FŐSZERKESZTŐ

KNOLL JÓZSEF

TECHNIKAI SZERKESZTŐ

KNOLL BERTA

SZERKESZTTŐSÉG: 1085 BUDAPEST, ÜLLŐI ÚT 26.

KIADÓHIVATAL: 1363 BUDAPEST, ALKOTMÁNY UTCA 21.

Az Orvostudomány változó terjedelmű füzetekben jelenik meg. Négy füzet alkot egy kötetet. Évenként általában egy kötet jelenik meg.

*Az Orvostudomány*ban az Osztály rendezvényein elhangzott előadások, az Osztály tagjainak eredeti vagy összefoglaló közleményei, továbbá az MTA saját intézeteinek közleményei jelennek meg. Kéziratok a következő címre küldendők:

Orvostudomány
1085 Budapest VIII., Üllői út 26.

A közlésre el nem fogadott kéziratokat a szerkesztőség lehetőleg visszajuttatja a szerzőhöz, de felelősséget a beküldött kéziratok megőrzéséért vagy továbbításáért nem vállal.

Az Orvostudomány előfizetési ára kötetenként 60 forint. Megrendelhető belföldre az Akadémiai Kiadónál (1361 Budapest Alkotmány u. 21. Pénzforgalmi jezőlszámunk 215—11488.), külföldre a „KULTÚRA" Könyv és Hírlap Külkereskedelmi Vállalatnál (1389 Budapest Postafiók 149. Pénzforgalmi jelzőszám: 218-10990 sz.) vagy annak külföldi képviseleteinél és bizományosainál.

A Magyar Tudományos Akadémia V. Orvosi Tudományok Osztálya a következő idegen nyelvű folyóiratokat adja ki:

1. *Acta Chirurgica*,
2. *Acta Medica*,
3. *Acta Microbiologica*,
4. *Acta Morphologica*,
5. *Acta Paediatrica*,
6. *Acta Physiologica*.

E lapok hivatottak a magyar orvostudományok eredményeinek legjavát a külfölddel megismertetni.

A cikkek orosz, német, angol vagy francia nyelven jelennek meg a szerző kívánsága szerint, összefoglaló pedig további egy, ill. két nyelven. A dolgozatot magyar vagy a megfelelő idegen nyelven a következő címre kell beküldeni:

Acta Chirurgica szerkesztősége, 1082 Budapest VIII., Üllői út 78/b.
Acta Medica szerkesztősége, 1083 Budapest VIII., Szigony u. 43.
Acta Microbiologica szerkesztősége, Országos Közegészségügyi Intézet, 1097 Budapest IX., Gyáli út 4.
Acta Morphologica szerkesztősége, Szövet- és Fejlődéstani Intézet, 1091 Budapest IX., Üllői út 93.
Acta Paediatrica szerkesztősége, 1083 Budapest VIII., Bókay J. u. 53.
Acta Physiologica szerkesztősége, 7642 Pécs, Rákóczi u. 80. Élettani Intézet.

ORVOSTUDOMÁNY

A Magyar Tudományos Akadémia V. Orvosi Tudományok Osztályának Közleményei

A Szerkesztő Bizottság tagjai:

Babics Antal, Ernst Jenő, Gegesi Kiss Pál, Haynal Imre, Kerpel-Fronius Ödön, Miskolczy Dezső, Zsebők Zoltán

Főszerkesztő:

Knoll József

26. kötet

AKADÉMIAI KIADÓ

Budapest, 1975

Orvostudomány

26. kötet

TARTALOMJEGYZÉK

Korényi-Both András, Lapis Károly és Kelemen Gabriella: Vázizomkárosodások patkányban immunglobulinok hatására (Finomszerkezeti vizsgálatok) 1
Makói Zita, Szőke Zsuzsa, Sasvári Lajos, Gegesi Kiss Pál és Popper Péter: A per vias naturales és a császármetszéssel született újszülöttek első felsírásának összehasonlítása. 13
Donáth Tibor, Léránth Csaba és Ungváry György: Adatok a vese velőállományának beidegzéséhez. 21
Petrányi Győző, Iványi Péter és Hollán Zsuzsa: A HL-A valamint vércsoportrendszerek (Rh. AB0) és az immunreaktivitás genetikai kapcsolata. 27
Sz. Szalay Katalin, Bácsy Ernő és Stark Ervin: Mellékvesesejt kálium és nátrium tartalom kísérletes hyper- és hypoaldosteronizmusban. Meghatározás elektronsugárröntgen mikroanalysissel. 43
Benedeczky István és Bolla Kálmán: Ismételt Sanegyt kezelés hatása patkány mellékvese velő ultrastruktúrájára. 55
Takács Lajos, Bencsáth Pál és Szalay László: A renalis natrium ürítés idegi szabályozásának kérdéséről. 61
Knoll József, Makleit Sándor, Friedmann Tamás, Hársing L. Gábor és Hadházy Pál: Az azidomorfin és származékainak hatása a keringésre, légzésre és a köhögésre 89
Knoll József, Zséli János, Rónai András és Vizi E. Szilveszter: Az azidomorfin és származékainak hatása a bélmotilitásra. 97
Knoll József, Fürst Zsuzsanna és Makleit Sándor: A 14-hidroxiazidomorfin farmakológiája. 103
Knoll József, Magyar Kálmán, Makleit Sándor, Zólyomi Gábor, és Zsilla Gabriella: Az azidomorfinok sorsa a szervezetben. 111
Elek Gábor és Lapis Károly: Radiospektroszkópia az orvostudományban. 129
Megemlékezés Kellner Béláról 145
Gegesi Kiss Pál: Az Akadémia szerepe az orvostudomány és az egészségügy fejlődésében. 149
Lapis Károly: MC-29 vírussal csirkében keltett májrákból kialakított transplantálható hepatoma finomszerkezeti vonásai. IV. 157
Gyurkó György és Nemes Zoltán: Szövetragasztó alkalmazása a helyreállító érsebészetben. 185
Solti Ferenc: Újabb adatok az agyi vérkeringés human szabályozásáról pathológiás állapotokban. 197
Medveczky Péter, Csuzi Sándor, Nász István és Antoni Ferenc: Adenovírussal asszociált endonukleáz kimutatása. 213
Makói Zita, Szőke Zsuzsa, Sasvári Lajos, Kelemen József és Regöly-Mérei Andrea: Sírás elemzés Cri du chat syndroma esetében. 223
Somogyi Endre és Sótonyi Péter: A jelzett gátlók alkalmazásának lehetőségei az elektronmikroszkópos citokémiában. 229
Ralovich Béla és Emődy Levente: Adatok a listeria immunitás problémájához. 237
Ralovich Béla, Láng Csaba és Vertényi Adél: Adatok az antipyrogen immunitás specificitásához. 243

Semmelweis Orvostudományi Egyetem I. sz. Kórbonctani Intézet és Eötvös Loránd Tudományegyetem Biokémiai Csoport, Budapest

VÁZIZOMKÁROSODÁSOK PATKÁNYBAN IMMUNGLOBULINOK HATÁSÁRA

(Finomszerkezeti vizsgálatok)

KORÉNYI-BOTH ANDRÁS, az orvostudományok kandidátusa, LAPIS KÁROLY, az MTA levelező tagja és KELEMEN GABRIELLA

Közlésre érkezett: 1974. VII. 1.

Az elmúlt évtizedben és különösképpen napjainkban több vázizomrost-megbetegedésre vonatkozóan ismertté vált, hogy ezek hátterében immunpathologiai tényezők is szerepelnek. Így myasthenia gravis-ban szenvedő betegek 30%-ában sikerült olyan immunglobulinokat kimutatni, melyek a vázizomrostokhoz képesek kötődni. Az anti-izomfactor szövetspecifikus *Strauss* és *Kemp* (1966, 1967), *van der Geld* és *mtsai* (1964), *McFarlin* és *mtsai* (1968), *van de Velde* és *Friedman* (1970). Az úgynevezett kollagén betegségek csoportjába sorolt systemás izombetegségek: polymyositis, dermatomyositis, neuromyositis több esetében keringő anti-izomfactorokat mutattak ki *Rook* és *mtsai* (1967). Érthető, hogy rövidesen elkezdődtek az ilyen irányú experimentális vizsgálatok is. *Tal* és *Liban* (1962) izomdystrophiához hasonló laesiókat produkáltak nyúlban és tengerimalacban homolog és heterolog izomkivonattal. *Tolnai* (1966) myasthenia gravis-ra jellemző izom-laesiók keletkezését figyelte meg egérben homolog és isolog izomkivonat hatására.

Magunk célul tűztük ki olyan kísérleti modell létrehozását, amelynek segítségével betekintést nyerhetünk az immunomyopathiák jellemző finomszerkezeti alteratióiba.

Munkánk során különböző izomkivonatokkal szemben (myofibrillum, myosin, actin) immunsavót termeltünk. Az immunsavó segítségével kísérletet tettünk immuno-myopathia létrehozására, kísérleti körülmények között.

Anyag és módszer

Antigen:

260 db 2 hónapos, átlag 220 g súlyú fehér CFY törzsű nőstény patkányt decapitalással leöltünk. A myosint *Portzehl* és *mtsai* (1950) és *Mommaertes* (1951) módszere szerint, az actint pedig *Rees* és *Young* (1967) módszere szerint állítottuk elő. 40 patkányból nyertünk myofibrillumot *Perry* (1952) módszerével. Az izomfehérjék végső koncentrációja 8—10 mg/ml volt. A fehérje koncentrációt Biuret (*Gornall* és *mtsai* 1949)-reakcióval határoztuk meg.

Immunizálás:

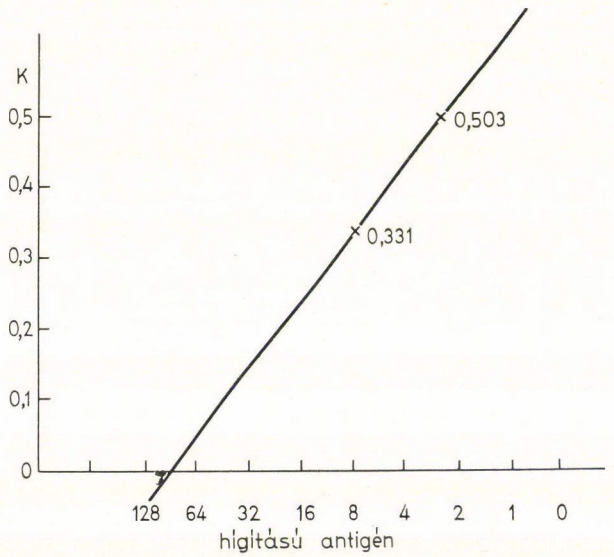
Az izomfehérjékkel 25 db, átlag 2500 g súlyú fiatal nőstény házinyulat immunizáltunk. Az immunizálás több lépésben történt. 7—8 alkalommal — kb. 5 naponként — 10 mg/kg

izomfehérjét juttattunk be az állatoknak, csoportonként i.m. (3 nyúl) és i.p. (4 nyúl). Mindhárom csoportban 2—2 nyúlnak első alkalommal az antigénként használt izomfehérjét inkomplett Freund-adjuvanssal 1:1 arányban keverve adtuk be. A továbbiakban ezek a nyulak is csak tiszta izomfehérjét kaptak. Antigénként minden alkalommal frissen kivont izomfehérjéket használtunk. Az immunizálás folyamán két alkalommal — a 3. és 5. antigen-bejuttatás után 2 nappal — a nyulak fülvénájából vért vettünk, s meghatároztuk az ellenanyag-titert. A titer emelkedő tendenciát mutatott. Az utolsó antigen-bejuttatást követő 5. napon az állatokat intracardialis punctióval elvéreztettük. Az ellenanyag-titer meghatározását praecipitatiós módszerrel végeztük. Az állatok immunizálására használt antigenből 1:1,1:100, 1:1000, 1:2000, 1:4000, 1:6000, 1:10 000, 1:100 000, 1:150 000 hígítási sort készítettünk 3 M.KCl oldat felhasználásával. Kontrollként KCl oldatot állítottunk be. A praecipitatiós csövekbe az antigen hígítási sorból egy-egy ml-t mértünk be és ez alá 0,1 ml immunsavót rétegeztünk. Pozitív reactio esetén az érintkezési felszínen korong alakú praecipitatiós zóna keletkezett. A nyulak ellenanyag-titere meghaladta az 1:6000 titert. 1:50 000 felett egyetlen esetben sem volt pozitív reakció.

Az immunszérumból tiszta IgG fractiót nyertünk (*Pepe* 1966). Az IgG előállítására a Rivanollal történő kicsapás módszerét választottuk (*Sagan* 1968). A kicsapást követően Biuret-reactióval meghatároztuk a fehérje cc.-t. Átlag 15 mg/ml IgG-t praeparáltunk. A tisztítás után ismét elvégeztük a praecipitatiós reakciót, mely pozitívnak bizonyult.

Elvégeztük az *Oudin* (1966) féle kvantitatív geldiffusiós vizsgálatot is, melynek segítségével meghatározható, hogy egy ismert antigen koncentráció milyen savó hígítással kerül aequivalentiába. Eredményként azt kaptuk, hogy a tömény nyúl-savó 0,34 mg antigennel aequivalens milliliterenként az anti-aktin csoportban. Az anti-myosin csoportban a tömény savó 1 mg antigennel aequivalens ml-enként, valamint az anti-myofibrillum csoportban a tömény savó 0,1 mg antigennel aequivalens ml-enként. Az anti-myofibrillum aequivalentia adatait az 1.e ábrán közöljük.

1.e ábra



Fent ismertetett módszerrel nyert patkány-actin, patkány-myosin és patkány-myofibrillum immunfehérjét 220 g átlagos súlyú fiatal nőstény random patkányoknak juttattuk be egyszeri dosisban, 10 mg/100 g mennyiségben. Az ellenanyagot csoportonként subcutan, i.m. és i.v. adagoltuk. A kontroll csoportok egy része Rivanolt, vagy nem immunisalt nyúl savójából nyert gamma-globulint kapott. Kísérleteinknek ebben a szakában összesen 116 patkányt használtunk fel. Ebből patkány-actin immunfehérjét 24, patkány-myosin immunfehérjét 34, patkány-myofibrillum immunfehérjét 24 állat kapott. A különböző kontroll csoportokban 34 állat szerepelt (I. táblázat).

I. táblázat

Vázizomkárosodások patkányban immunglobulinok hatására

Antigen: myosin } 220 db ♀ patkány
actin } 8—10 mg/ml cc
myofibrillum 40 db ♀ patkány

Immunizálás: 7 ♀ nyúl patkányactin immunfehérje
7 ♀ nyúl patkánymyosin immunfehérje
7 ♀ nyúl patkánymyofibrillum immunfehérje 15 mg/ml cc
4 ♀ nyúl kontroll

Kezelés: ♀ patkány

Csoport	Állat-szám	Kezelés	Ölés			
			15 nap	30 nap	60 nap	
I	10	Patkányactin fehérje s. c.	12	6	6	állat
	10	Patkányactin fehérje i. m.				
	4	Patkányactin fehérje i. v.				
	15	Patkánymyosin fehérje s. c.				
II	15	Patkánymyosin fehérje i.m.	17	9	8	
	4	Patkánymyosin fehérje i.v.				
III	10	Patkánymyofib. fehérje s.c.				
	10	Patkánymyofib. fehérje i.v.	12	6	6	
	4	Patkánymyofib. fehérje i.m.				
IV	34	Különböző kontroll csoportok				

Figyelembe véve az immun-globulinok felezési idejét, minden csoport felét a kezelést követő 15. napon öltük le, majd a másik felét arányosan elosztva a 30. napon és a 60. napon.

Fénymikroszkópos vizsgálat céljára a patkányokból a vázizomzat különböző helyeiről származó szövetrészleteket és az állatok szívét, máját, veséjét, lépét, thymusát, egy-egy nyirokcsomóját, sternalis csontvelejét tettük el. Elektronmikroszkópos vizsgálat céljára a patkányok hátsó végtagizom-darabkáit dolgoztuk fel. Az izomdarab nagyobb részét formalin rögzítést követően paraffinba ágyaztuk, a metszeteket megfestettük Haematoxylin-eosinnal, és alkalmaztuk a van Gieson-elastica, Azan-trichom és Heidenhain-féle vas haematoxylin festést is. Az izomdarab kisebb részét *Palade* (1952) szerint OsO_4-ba rögzítettük, Araldita ágyaztuk. A metszeteket LKB és Reichert ultramikrotommal készítettük. A kontrasztozást uranylacetattal és *Karnovsky* (1961) szerint végeztük. A felvételeket JEM-7-A és Tesla BS-613 elektronmikroszkóppal végeztük.

Megfigyelések

(Pathofiziológiai adatok)

Egyik kísérleti csoportunkban (12 állat) 3×4-es csoportosításban végeztünk tesztelést az ellenanyag beadása utáni 10. napon (II. táblázat). Klinikai módszerrel szerettünk volna tájékozódni az állatok pathophysiologiai állapotáról. A kísérlet alapját az a tény képezte, hogy myasthenia gravis-ban szenvedő betegek fokozottan érzékenyek a membranstabilizáló izomrelaxansokkal szemben és csökkent érzékenységet mutatnak a membran-depolarizáló vegyü-

letek iránt. Kísérletünkhöz depolarizáló izomrelaxanst, succinylcholint használtunk fel (Succinyl-Asta, Asta Werke A. G. Chem. Fabrik Brackwede, Germany). A szert 0,00025 mg/100 g mennyiségben intraperitonealisan adagoltuk, s mértük azt az időt, amely alatt az állat légzésbénulásban elpusztul.

II. táblázat

Kontroll csoport	Antimyosin csoport	Antiactin csoport	Antimyofibrillum csoport
4,6′	6,2′	8,7′	9,0′
5,0′	7,8′	9,4′	8,7′
4,8′	9,3′	8,6′	8,8′

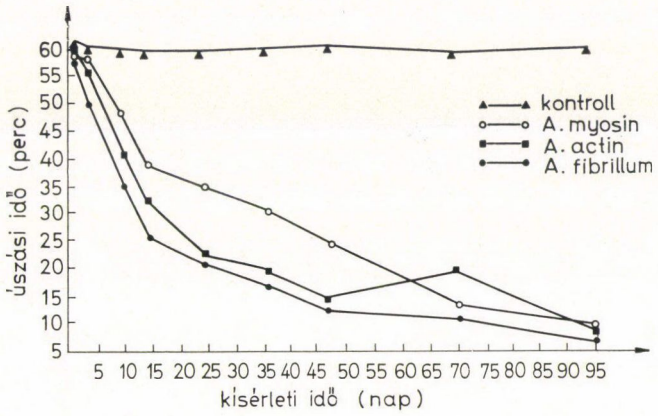
Patkány esetében a légzőizmok bénulnak legkésőbb. Egészséges állatok esetében a légzésbénulás átlagosan 4,8 perc múlva következett be. Az ellenanyaggal kezelt állatoknál ez az idő 8,5 percre tolódott ki. A patkány-actin, patkány-myosin, patkány-myofibrillum immunfehérjével kezelt állatcsoportok között időbeli eltolódásban számottevő különbséget nem találtunk. Mindhárom csoport egyedei közel hasonló szórást mutattak.

Külön csoportban 20 db patkányt anti-actinnal, 20 db patkányt anti-myosinnal, 20 db patkányt anti-myofibrillummal kezeltünk. Kontroll csoportonként 20 állatot állítottunk be. Valamennyi kísérleti csoporthoz tartozó állatot a kísérlet 1., 5., 10., 13., 23., 35., 47., 71. és 95. napján *Frenkl* és *Csalay* (1962) módszere szerint kimerülésig úsztattuk. Az úszási terheléssel azt a kérdést kívántuk tanulmányozni, hogy a különböző kezelések okoznak-e, és milyen változást, a kísérleti állatok úszási teljesítményében, azaz az izomzat teljesítőképességében. A várt morphologiai változások együtt járnak-e, és melyik időpontban az élettani teljesítőképesség csökkenésével. Az úsztatást minden esetben azonos körülmények között végeztük 29 C°-os vízben, 24 C°-os szobahőmérsékleten, 70 cm vízmélység mellett, 150 cm × 55 cm-es betonmedencében. Az állatok 5 g/állat ólomsúly terheléssel úsztak.

Ilyen körülmények között a kontroll csoport teljesítménye valamennyi időpontban átlag 60 perc körül volt (szélső értékek 44 és 69 perc). A kezelt állatok úszási ideje az 5. napon már megrövidült, a kísérleti idő 23. napjára felére csökkent. A 95. napon a kontroll értéknek, ill. saját 1. napon mért értékének csupán 10—15%-át tudták teljesíteni a patkányok (1.f ábra).

Megjegyezzük, hogy az anti-myofibrillummal kezelt csoport mutatta a legnagyobb teljesítménycsökkenést. Az eredmények bizonyítják, hogy már a kezelés korai stádiumában csökken az izomzat teljesítőképessége, a később-

1.f ábra



biekben az úszási teljesítmény az izomtevékenység súlyos zavarát tükrözi. Ezen eredményeink alátámasztják a succinylcholinnal szerzett tapasztalatainkat.

Morfológiai adatok

Fénymikroszkópos vizsgálatkor az izomzat mindhárom csoportban 70%-ban épnek bizonyult. Az alteralt izomzattal rendelkező állatok szöveti képe a különböző kezelésben részesített csoportokban megegyezik. Ugyanazokat az elváltozásokat figyelhettük meg a háromféle immunfehérjével kezelt állatokban.

A legáltalánosabb elváltozás, melyet megfigyeltünk, a következő volt. A kezelés után 15 nappal vett anyagunkban a subsarcolemmalis magvak felszaporodtak, a magvak a szokottnál duzzadtabbak, halvány basophil festődésűek, gyöngyfüzérszerűen rendezettek. Számos rostban az embrionális rostokra jellemzőnek tartott kép alakult ki (1a ábra). A magvak a rost tengelyében centrálisan helyezkednek el, vagy nagyobb csoportokban kitöltik az egész rost keresztmetszetét. Főként keresztmetszeti képeken látszik jól, hogy a rostok ugyanazon izomrostkötegen belül közel azonos caliberrel rendelkeznek. Megfigyelhetők azonban olyan izomrostkötegek, melyekben az egyes izomrostok változó vastagságúak. A normális vastagságú izomrostok között a szokottnál jóval keskenyebb átmérőjűek helyezkednek el. Ezen izomrostok haematoxylin-eosinnal, Azannal, vagy Heidenhain-féle vas-haematoxylinnal festve, egyaránt egyneműen festődnek (1b ábra). A myofibrillaris rajzolat elmosódott, a harántcsíkolat eltűnt. A kezelés után 30 és 60 nappal vett anyagban az endomysium helyenként rostdússá vált, a rostos állomány felszaporodott. Az izomrostok állománya összecsapzódott, szemcsés szerkezetű (1d ábra). Néhány véredény

körül az endo- és perimysiumban köpenyszerűen lymphocyták, és egy-egy plasmasejt helyezkedik el. Elvétve egy-egy véredény fala megvastagodott, a lamina elastica interna fogazott lefutású, az intima duzzadt, párnaszerűen bedomborodik a lumenbe. A rostdús alapállományban néhol Zenker-típusú hyalin necrosis képét mutató izomrost figyelhető meg. Az idegrostok részéről kóros eltérést nem találtunk (1c ábra). Az anyag és módszer részben felsorolt egyéb szervek fénymikroszkópos vizsgálatakor azokban kóros elváltozást nem találtunk.

Elektronmikroszkópos megfigyeléseink

A károsodott izomrostokban a megfigyelt finomszerkezeti alteratiók mindhárom kísérleti csoportban létrejöttek. Az egyes csoportok között csupán a károsodás súlyossága tekintetében figyelhetők meg különbségek. Az elváltozások jellegét tekintve, azok megegyeznek. Legkevésbé érintettek az actin-ellenanyaggal kezelt állatok, legsúlyosabban pedig a myofibrillum-ellenanyaggal kezelt állatok. A megfigyelt finomszerkezeti alteratiók a következőkben foglalhatók össze:

A kezelést követő 15. napon vett anyagmintákban a sarcolemma néhány rost kivételével mindenütt jól megtartott, basal-membrannal fedett, a szokott fogazott lefutás helyenként elsimult (2a ábra). A magállomány jól megőrzött (2a—b ábra). A magvacskák a szokottnál nagyobbak, foltos jellegűek (2b ábra). A membran mindenütt jól megtartott. A contractilis állomány az izomrostok egy részében szabályos finomszerkezeti képét elvesztette. Ezek a rostok már előzetesen is, félvékony metszetekben fénymikroszkóppal vizsgálva egyneműnek tűntek. A sarcometrikus tagoltság eltűnt, a myofilamentumok fibrillaris rendezettsége megszűnt (3a ábra). A filamentalis állomány feltöredezett, rendezetlen gomolyagokat képez. Feltűnő azonban, hogy ezeken a területeken is mind a primer, mind a secunder filamentumok maradványai jól felismerhetők (3b ábra). Azokban az izomrostokban, ahol a contractilis állomány kevésbé károsodott, a fibrillaris kötegezettség, a sarcometrikus tagoltság még felismerhető. A sarcomerek centralisan bedomborodnak az interfibrillaris térbe, így a Z-képleteknek megfelelően rajtuk behúzódások keletkeznek (4. ábra). Ismét más rostokban, ahol az egyéb organellumok részéről figyelhetők meg károsodások, a contractilis állomány jól megőrzött finomszerkezettel rendelkezik. A károsodás egyéb jeleit is mutató izomrostokban — a sarcoplasmatikus reticulum rendszer — számos méret- és nagyságbeli különbséget mutató vesiculából épül fel (5a ábra). A vesiculák nagyobb csoportokba tömörülnek, így megszűnt a rendszer sarcometrikus tagoltsága (5b ábra).

A mitochondrialis állományban megfigyelhető elváltozások igen változatosak és sokrétűek. Főként a mag körüli térben figyelhetünk meg olyan

mitochondriumokat, melyek megnagyobbodtak — átmérőjük eléri az 1,5—2 μ nagyságot is — lekerekedettek, ovális vagy polygonalis alakúak (6. ábra). Az interfibrillarisan elhelyezkedő mitochondriumok egy része szintén megnagyobbodott, elektrondensitasa megnövekedett, egy-egy mitochondrium akár több sarcomer hosszúságot is elérhet (7a ábra). A crista-állomány sok helyen elmosódott. Ez utóbbi formáknál az intramitochondrialis teret dense matrix tölti ki. Az egyik jellegzetes mitochondrialis károsodás a ballonszerű duzzanat. Itt a crista-állomány feltöredezett, a mitochondrialis matrix megkevesbedett (7b ábra). Több mitochondrium kisebb csoportba tömörülve foglal helyet a sarcoplasmában. A károsodott mitochondriumok egy része lipidcsepp szomszédságában helyezkedik el, vagy azzal structuralis egységet alkot (8a ábra). Néhány mitochondriumban a lipidcsepp mint intramitochondrialis inclusio jelenik meg (8b ábra). A súlyos károsodás jeleit mutató izomrostokban a glycogen állomány felszaporodottnak tűnik.

A 30. napi anyagmintákban a fent leírt megfigyeléseken túl találunk olyan izomrostokat, melyek állományában 8—10 μ átmérőjű üregek foglalnak helyet. Az üregek falát szimpla membran alkotja, másutt a környezettől élesen nem különül el. Az üregekben dense, szerkezet nélküli anyagmasszák, mitochondrium töredékek, vesicula maradványok, myelin-figurák foglalnak helyet. Az üregeket határoló membrannal paralel rendeződve vesicula sorok, rövid lefutású tubulusok foglalnak helyet (9a, b ábra).

A 15. napi anyagban a neuromuscularis junctio részéről kóros eltérést nem találtunk. A 30. napi anyagmintákban a neuromuscularis junctio terminalis axonja erősen torzult, számos 280—350 Å átmérőjű vesiculát tartalmaz. A synaptikus rés kiszélesedett, benne basal-membránszerű anyag halmozódott fel. A postsynaptikus apparatus számos, rövidebb-hosszabb, bizarr alakú sarcolemma-redőből áll (10a, b, c, d ábra).

A 60. napi anyagban az egyes izomrostokban előrehaladt pusztulás finomszerkezeti jegyei figyelhetők meg, más izomrostokban pedig viszonylag jobban megőrzött a finomszerkezet (11. ábra). A rostok közötti állomány kollagén rostokban dús, a súlyosabb károsodást mutató izomrostok körül organellumtörmelékeket tartalmaz, helyenként fibroblast sejtek, sejtnyúlványok foglalnak benne helyet. A véredényekben a vörös vértestek mellett lymphocytákat, plasmasejteket találunk a rostok környezetében (12. ábra). A capillarisok endothel sejtjei helyenként duzzadtak, a lumen résnyire szűkült. A kontrollként beállított csoportok izomszövetének finomszerkezete egyaránt jól megőrzött volt.

Megbeszélés

Miescher és *Müller-Eberhard* (1969) immunpathologiai kézikönyvének adatai szerint a myasthenia gravisnak megfelelő kísérleti modellt eddig nem sikerült létrehozni. Ez az adat azért említésre méltó, mivel az autoimmun megbetegedések között a myasthenia gravis volt az első, melynek immunpathológiai hátterét az elektronmikroszkópos immunoferritin technika segítségével *Douglas* és *mtsai* (1965), *Gottlieb* és *mtsai* (1966), *Weir* (1967) bizonyították. Kimutatták, hogy az A-csík közepén és a Z-képlet közelében jön létre ellenanyag-kötődés. *Strauss* és *mtsai* (1961, 1966), *Nastuk* és *mtsai* (1966) fluorescens módszer segítségével myasthenia gravisban szenvedő betegekből nyert serum-globulin kötődést figyeltek meg ezeken a pontokon. *Mendell* és *mtsai* (1973) 9 myasthenia gravisban szenvedő betegből nyert vázizomellenes antitest kötődését figyelték meg vázizomroston. Elektronmikroszkóp segítségével végzett vizsgálataik alapján azt találták, hogy az antitest a sarcoplasmaticus reticulumon lokalizálódott az I-csík körül. A myofilamentumokon nem jelent meg az ellenanyag. *Goldstein* és *Whittingham* (1966) kísérleti úton létrehozott thymus gyulladás segítségével próbálta modellezni az emberi myasthenia gravist. Károsodásokat azonban csak EMG segítségével tudtak prezentálni. Mások — *Arnason* és *Samaha* (1967) — nem tudták reprodukálni *Goldstein* és *Whittingham* kísérletét. *Kawanami* és *Mori* (1972) viszont syngen, allogen és xenogen thymus extractummal immunizáltak egereket. EMG segítségével az állatokban az emberi myasthenia gravisban megfigyelt elváltozásokhoz hasonló jellegű károsodásokat találtak.

Grob és *mtsai* (1965) patkányok musculus tibialis anteriorjában immunfluorescens kötődést írtak le myasthenia gravisban szenvedő betegek serumának intraarterialis vagy intramuscularis befecskendezése után. Ezt in vitro is megfigyelték, myasthenia gravisban szenvedő betegek kivett izmában, ugyanakkor acto-myosin-ellenes antiserum kísérleteikben nem kaptak ilyen reakciót. *Strauss* és *mtsai* (1961) immunfluorescens vizsgálataikhoz kétféle serum-globulint használtak fel: részint myasthenia gravisban szenvedő betegekből nyert serum-globulint a betegség progrediáló fázisában, részint normális emberi serum-globulint. A myasthenia gravisban szenvedő betegekből nyert globulin kezelésével emberi normális és myastheniás vázizomzatban, valamint patkány vázizomzatában fénymikroszkóp segítségével a harántcsíkolat szembetűnő károsodását figyelték meg. A normális serummal való kezelés után a harántcsíkolat nem változott meg.

Dermatomyositisben, Sjögren-syndromában a myasthenia gravishoz hasonló auto-antitesteket lehetett kimutatni (*Rook* és *mtsai* 1967). Szerzők véleménye szerint a kimutatott ellenanyag humoralis természetű, ezt bizonyítja az is, hogy a sensitivitas passzív módon átvihető. *Dawkins* (1965) tengeri malacoknak heterolog, nyúlizom-kivonatot adva generalisalt myositist hozott

létre, mely a human polymyositisszel sok rokon vonást mutatott. *Kakulas* (1966) kísérletei a humoralis factor — mint kóroki tényező — mellett a cellularis factor szerepét is bizonyítják az ún. immuno-myopathiák kialakulásában. A szerző újszülött patkány-izomkultúrákat kezelt nyirokcsomósejtekkel. Ezeket a sejteket olyan felnőtt patkányokból nyerte, melyeket előzőleg homogenizált izom injectiókkal kezelt. Kísérleteiben 40 kultúrából 38 2—6 napon belül elpusztult, míg a kontroll csoportból csak 7 pusztult el, ugyanezen idő alatt.

Kísérleteink alapján úgy gondoljuk, hogy a fenti adatokkal eredményeink igen jól összhangba hozhatók. A contractilis elemek pusztulása azokon a pontokon indul meg, ahol a különböző vizsgáló módszerekkel számos szerzőnek sikerült lokalizálni az immunpathologiai reakció helyét (*Douglas* és *mtsai* 1966, *Gottlieb* és *mtsai* 1966, *Strauss* és *mtsai* 1961, 1966, *Nastuk* 1966). Ezen pontok vulnerabilitását postmortalis, ischaemiás kísérleteink során magunk is bizonyítottuk (*Korényi-Both* 1971, *Korényi-Both* és *mtsai* 1972). A finomszerkezeti kép — hasonlóan egyéb elváltozásokhoz és megbetegedésekhez — itt sem mondható egyedül immuno-myopathiára jellemzőnek, azaz specifikusnak, azonban ezek az általunk leírt elváltozások, a necrosisig fokozódó súlyos károsodásoknak felelnek meg, s az immun-globulin kezelés hatására jöttek létre. A legsúlyosabb elváltozásokat az anti-patkány-myofibrillum csoportban észleltük. Ebben a tényben egyik bizonyítékát látjuk annak, hogy bár az egyes struktúrelemek is létrehozzák az elváltozásokat, de a károsodás súlyosságának mértékét komplex tényezők határozzák meg. Az általunk megfigyelt mitochondrialis lokalizációjú lipid felszaporodás bizonyítja a harántcsíkolt izomszövet energetikai háztartásának súlyos zavarát, mely túllépi a reversibilis, dystrophiás jellegű alteratio határát. Megemlítjük, hogy ezt az elváltozást egyéb kísérleteinkben és emberi izombiopsiás anyagunkban csak elvétve figyeltük meg (*Korényi-Both* 1971). Ennek ellenére nem tartjuk specifikus jellegűnek.

Megfigyeltük és leírtuk autophag vacuolák kialakulását. Hasonló képet figyelhettünk meg kísérleti modelljeinkben postmortalis elváltozásként és ischaemia hatására (*Korényi-Both* 1971, *Korényi-Both* és *mtsai* 1972) és az emberi izommegbetegedésekben egyaránt. Az autophag vacuolák kialakulását számos szerző a legkülönbözőbb szervekben megfigyelte (*Ashford* és *Porter* 1962, *Novikoff* és *Essner* 1962, *De Duve* 1963, *Miller* és *Palade* 1964, *Korényi-Both* és *Virágh* 1966, *Törő* és *Virágh* 1966, *Lapis* 1967, *Virágh* és *Korényi-Both* 1967). Az elváltozások nemcsak regresszív folyamatok kíséretében alakulnak ki, hanem progresszív változások részjelenségei is lehetnek. Differenciálódott szövetek esetén a kialakuló autophag vacuolák a szöveti átépülésben játszhatnak szerepet.

Anyagunkban megfigyeltük a neuromuscularis junctio elongatióját, torzulását. A leírt finomszerkezeti képet igen gyakran megtaláltuk emberi izombiopsiás anyagunkban is (*Korényi-Both* és *mtsai*, közlés alatt) és mások is hasonló elváltozásokról tesznek említést. Így *Coers* és *Desmedt* (1959), *Bicker-*

staff és *mtsai* (1960), *Mc Dermot* (1960). Bár számos adat szól amellett, hogy emberi immuno-myopathia esetében — pontosabban myasthenia gravisban — a neuromuscularis junctio egy elsődleges malformatiójával kell számolni, mégis kialakulása kísérleti modellünkben azt látszik bizonyítani, hogy ilyen elváltozások másodlagosan, illetőleg következményesen is kialakulhatnak a károsító ágensek hatására.

Úgy véljük, hogy a kísérlet során kialakított modell alkalmas az emberi myopathiák egyes részletkérdéseinek, az autoimmun tényezők strukturális károsító hatásának tanulmányozására. Ilyen modell pozitív szerepet játszhat a pathomechanizmus felderítésében is. Az experimentalis pathologiából ismert *Masugi* (1934) nephritis kialakulása például nem történik ugyan azonosan az emberi glomerulonephritisekével, mégis ráirányította a figyelmet az antitestek szövetkárosító hatására és lehetővé tette e károsító hatás mértékének megismerését. Reméljük, hogy modellünk további tanulmányozása újabb adatokat szolgáltat az antitestek izomszövetben játszott szerepének megismeréséhez.

Köszönetet mondok a Magyar Testnevelési Főiskola Orvostudományi Tanszéke tanszékvezetőjének, dr. Frenkl Róbert tanár úrnak, az úsztatásos kísérleteinkhez nyújtott segítségéért.

Összefoglalás

Szerzők kísérleti modellt hoztak létre különböző izomelemekkel (myofibrillum, myosin és actin) szemben termelt immunsavóval. Leírták az így létrehozott immuno-myopathia finomszerkezeti jellemzőit.

Megállapították, hogy a károsodások az izomrostok minden organellumára kiterjednek, s a kísérleti idő függvényében súlyosbodó jellegűek voltak.

A neuromuscularis junctio leírt alteratiója bizonyítja, hogy a finomszerkezeti károsodás a junctio területén secunder módon is kialakulhat.

Úgy vélik, hogy az immuno-myopathiák egyes részjelenségei kísérleti modellekben pathomorphologiai módszerekkel is tanulmányozhatók.

IRODALOM

Arnason, B., Samaha, F. J.: Studies in progress on the stimulation of myasthenia gravis like states in experimental animals by immunologic means. Paper read at NIH meeting on experimental models of myasthenia gravis, Bethesda (1967).
Ashford, T. P., Porter, K. R.: J. Cell. biol. **12,** 198 (1962).
Bárány, M., Biró, N. A., Molnár, I. and *Straub, F. B.:* Acta Physiol. Acad. Sci. Hung. **5,** 369 (1954).
Bickerstaff, E. R., Evans, J. V., Woolf, A. L.: Brain **83,** 638 (1960).
Coers, C., Desmedt, J. E.: Acta neurol. belg. **59,** 539 (1959).
Dawkins, R. L.: J. Path. Bact. **90,** 619 (1965).

De Duve, C.: General properties of lysosomes. The lysosome concept. In: de Reuck, A.V.S., Cameron, M. P., Ciba Foundation symposium on lysosomes, Churchill, London (1963).
Douglas, S. D., Gottlieb, A. J., Strauss, A. J. L., Spicer, S. S.: Fed. Proc. **24,** 370 (Abstr. 1335), (1965).
Frenkl, R., Csalay, L.: Kísérletes Orvostud. **14,** 473 (1962).
Gornall, A., Bardawill, C. J., David, N. M.: J. Biol. Chem. **177,** 751 (1949).
Goldstein, G., Whittingham, S.: Lancet **2,** 315 (1966).
Gottlieb, A. J., Douglas, S. D., Strauss, A. I. L., Spicer, S.: Ann. Acad. Sci. N. Y. **135,** 638 (1966).
Grob, D., Namba, T., Sato, T., Klein, D. R.: Fed. Proc. **24,** 693 (1965).
Kakulas, B. A.: Nature **210,** 1115 (1966).
Karnovsky, M. J.: J. Biophys. Biochem. Cytol. **11,** 729 (1961).
Kawanami, S., Mori, R.: Clin. exp. Immunol. **12,** 447 (1972).
Korényi-Both, A.: Studies on the damages of skeletal muscle in experimental models and human biopsy material (Fine structural studies) (in Hungarian) Candidates Dissertation Vol. 1, 2, 3, Budapest (1971).
Korényi-Both, A., Löblovics, I., Korényi, Réka: Morph. Ig. Orv. Szle. **12,** 108 (1972).
Korényi-Both, A., Szobor, A., Lapis, K., Szathmáry, I., Kerpel-Fronius, S.: Europ. Neurol. **10,** 215 (1973).
Korényi-Both, A., Szobor, A., Lapis, K., Szathmáry, I.: Europ. Neurol. **10,** 311 (1973).
Korényi-Both, A., Virágh, Sz.: Acta Biol. Acad. Sci. Hung. **17,** 402 (1966).
Lapis, K.: Ultrastructural studies on the effect of anti-tumor chemotherapeutics (in Hungarian). Dissertation for the degree of Academic Doctor of Medicine, Budapest (1967).
Masugi, M.: Beitr. path. Anat. **92,** 429 (1934).
Mc Dermot, V.: Brain **83,** 24 (1960).
McFarlin, E. D., Johnson, J. S., Seymour, W. F. K.: J. Immunol. **101,** 104 (1968).
Mendell, J. R., Whitaker, J. N., Engel, W. K.: J. Immunol. **111,** 847 (1973).
Miescher, P. A., Muller-Eberhard, H. I.: Textbook of immunpathology. Grune and Stratton, N. Y., London, 1969.
Miller, F., Palade, G. E., J. Cell Biol. **23,** 519 (1964).
Mommaerts, W. F. H. M.: J. Biol. Chem. **188,** 559 (1951).
Nastuk, W. L., Kessler, H. I., Grynbaum, A., Smith, M., Herman, C. Jr.: Arch. Neurol. **15,** 1 (1966).
Novikoff, A. B., Essner, E.: J. Cell. Biol. **15,** 140 (1962).
Oudin, J.: Proc. Roy. Soc. B. **166,** 207 (1966).
Palade, G. E.: J. exp. Med. **95,** 285 (1952).
Pepe, F. A.: J. Cell Biol. **28,** 505 (1966).
Perry, S. V.: Biochem. J. **51,** 495 (1952).
Portzehl, H., Schramm, G., Weber, H. H.: Z. Naturforsch. **5B,** 61 (1950).
Rook, H., Wilkinson, D. S.: Ebling, F. J. G.: Dermatology. 3th ed. 570 (1967).
Sagan, Z.: Clin. chim. Acta **21,** 225 (1968).
Strauss, A. J. L., Deitch, A., Hsu, K.: Fed. Proc. **20,** 38 (1961).
Strauss, A. J. L., Kemp, P. G.: Lancet **1,** 772 (1966).
Strauss, A. J. L., Kemp. P. G. jr.: J. Immunol. **99,** 945 (1967).
Strauss, A. J. L., Smith, C. W., Cage, G. W., van der Geld, H. W. R., Mc Farlin, E. D., Barlow, M.: Ann. Acad. Sci. N. Y. **135,** 557 (1966).
Tal, C., Liban, E.: Brit. J. exp. Path. **43,** 525 (1962).
Tolnai, G.: Nature **212,** 1429 (1966).
Törő, I., Virágh, Sz.: Z. Zellforsch. **69,** 403 (1966).
van der Geld, H., Feltkamp, T. E., Oosterhuis, H. J.: Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) **115,** 782 (1964).
van de Velde, R. L., Friedman, N. B.: Amer. J. Path. **59/2,** 347 (1970).
Virágh, Sz., Korényi-Both, A.: Acta biol. Acad. Sci. Hung. **18,** 161 (1967).
Weir, D. M.: Immunoferritin technique for the identification of antigene by electron microscopy in experimental immunology. Blackwell Sci. Publ., Oxford and Edinborough. 527 (1967).

Semmelweis Orvostudományi Egyetem I. sz. Gyermekklinika, Budapest

A PER VIAS NATURALES ÉS A CSÁSZÁRMETSZÉSSEL SZÜLETETT ÚJSZÜLÖTTEK ELSŐ FELSÍRÁSÁNAK ÖSSZEHASONLÍTÁSA

MAKÓI ZITA, SZŐKE ZSUZSA, SASVÁRI LAJOS, GEGESI KISS PÁL akadémikus és POPPER PÉTER

Közlésre érkezett: 1974. X. 9.

Az egészséges újszülöttben a megszületés pillanatában az első lélegzetvétellel, az első felsírással, majd a korábbi keringés megváltozásával kezdődnek meg az extrauterin élethez való adaptatiós folyamatok. Az *Apgar* séma használatának elterjedése előtt általánosan az első felsírás észlelésével jelezték az extrauterin megfelelő életműködések megindulását. Számos szülészeti osztályon még ma is ez a szokás. A gyermekorvost is a bőrszín, a mozgások, az arckifejezés által nyújtott jelek mellett a sírás jellege segíti olyan összbenyomás kialakításához, hogy egészséges-e az újszülött. Az újszülött sírásának a rendestől eltérő volta finom jele lehet általános állapot-változással járó fiziológiás vagy pathológiás folyamatoknak. Az első felsírás milyensége tehát diagnosztikai szempontból is lényeges jele az extrauterin adaptációs folyamatok megindulásának.

E tanulmányban a következő kérdésekre próbálunk választ kapni:

1. Kimutatható-e objektív vizsgáló eljárással jellegzetes eltérés a per vias naturales és a császármetszéssel született újszülöttek első felsírása között?

2. Ha igen, lehet-e ezt a klinikumban olyan tünetként értékelni, amely jelzi, hogy a kétfajta születésmód bizonyos mértékig eltérő módon befolyásolja a kezdeti adaptatiót.

Új vizsgálatok bevezetésére azért is szükség volt, mert az idevonatkozó irodalomban nem egybehangzóak a szerzők véleményei. Egyes szerzők azt a gondolatot vetették fel, hogy császármetszés esetén a hatásmechanizmus különbözőségén kívül a vajúdás hiányával, az anyai anaesthesiával, analgesiával kell számolni *Mollay E.*, *Towell* (1966)). Ebből a gondolatból kiindulva *Cosmi* és mtsa (1968) 34 elektív császármetszés vizsgálata kapcsán megállapították, hogy az anyai anaesthesia a placentán átjutó gyógyszerek következtében, valamint a placentaris perfusio változása révén a foetalis idegrendszer depresszióját okozhatja. Az is előfordulhat, hogy az anyai hypoxia miatt másodlagosan foetalis acidosis fejlődik ki. Az anyának adott gyógyszerek egyrészt a placentán átjutva direkt fejthetik ki hatásukat a foetusra, vagy indirekt úton az anyai homeostasis megváltoztatásával. A placentaris barriert hasonlónak tartják az agy-vér barrierhez. Míg az analgeticumok, anaestheticumok általában mindkét barrieren keresztülmennek, addig az izomrelaxansok

nehezen jutnak át. Pl. a Succinil nem mutatható ki jelentős mennyiségben a köldökvénában. Ilyen gyógyszert kapott anyák újszülöttjei lehetnek deprimáltak, de nem paralitikusok. Az anyának adott Atropin foetalis tachycardiát eredményezhet. Továbbiakban *Joelsson* és mtsai (1967) állatkísérletek segítségével megállapították, hogy a Fluothan a szokásos anaesthesiánál használt koncentrációban nem okozott szignifikáns változást sem a foetus cardiovascularis functióiban, sem sav-bázis állapotában még hosszabb periódus után sem. Azonban az anaesthesia mélységét emelve nemcsak anyai hypotensiót észleltek, hanem mind az anyában, mind a foetusban acidosis fejlődött ki.

Az irodalomban lelhető adatok közül figyelemre méltó az is, hogy *Segal* (1963) sírás alatti *vital capacitást* mért vaginalisan és elektív császármetszéssel született egészséges újszülötteknél. A császármetszéssel születettekben szignifikánsan csökkent értékeket találtak. *Chiswick* és mtsai (1974) is hasonló eredményt kaptak.

Vizsgálták és császármetszéssel született újszülöttekben különbségeket írtak le *a teljes vér térfogat* mennyiségében *Landau* és mtsai (1950). *Holland* és mtsa (1956) megállapították, hogy a megszületés után mért *systolés vérnyomás* szignifikánsan alacsonyabb a sectio caesareával születettekben. Megfigyelték továbbá, hogy az 5 perces Apgar érték alacsonyabb a császármetszéssel világrajött újszülötteknél, mint a vaginalis úton születettekben (*Benson* és mtsai (1965).

Az említett vital capacitasbeli különbségek talán éppen az optimálisabb keringési és idegrendszeri állapotra utalnak.

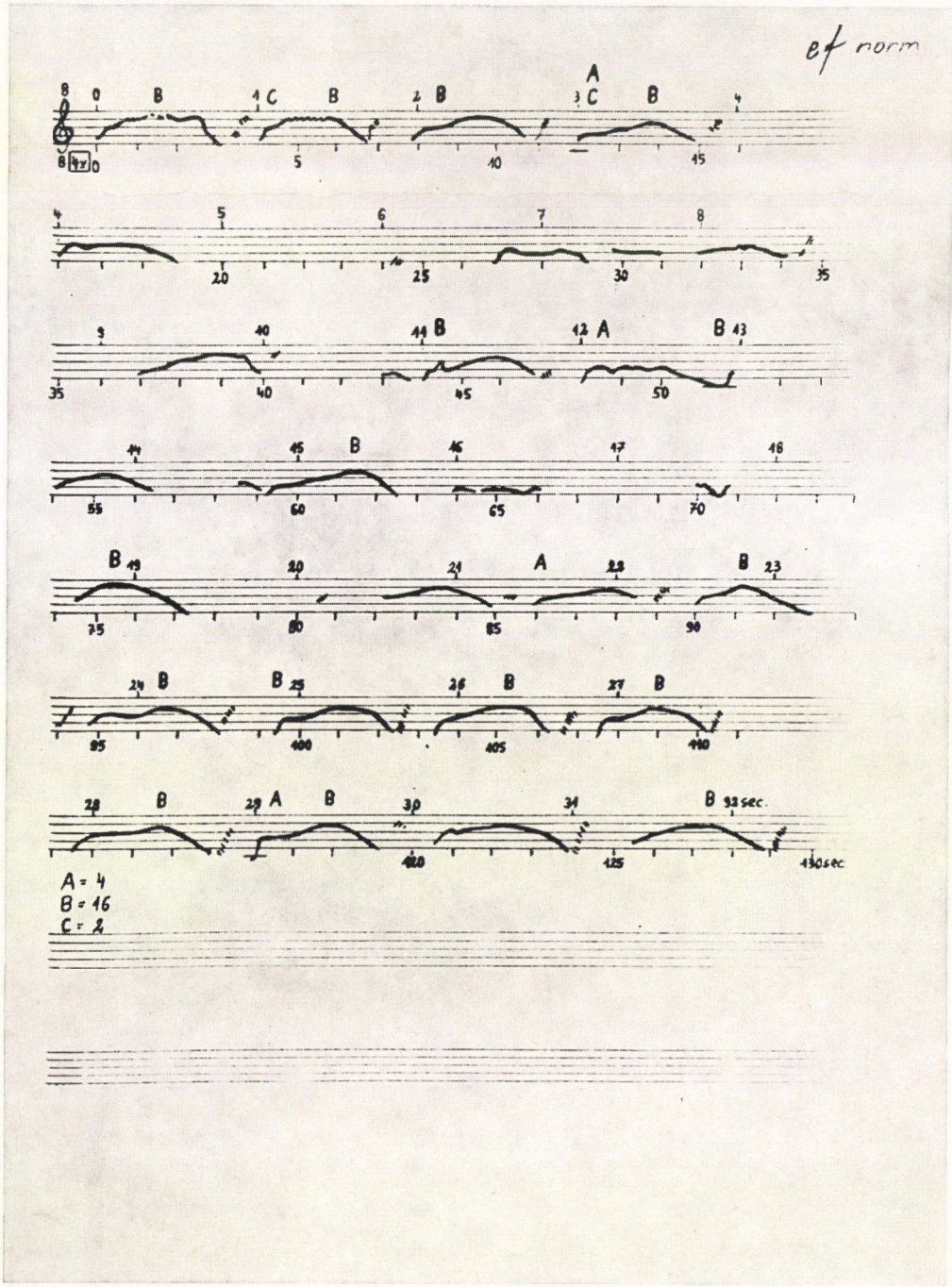
Fenti irodalmi adatok azt mutatják, hogy sectio caesarea esetén inkább a foetus, illetve újszülött az anaesthesia hatásával kapcsolatos sav-bázis viszonyait, a szívműködés, a vérkeringés változásait vizsgálták, kevésbé a két születésmód által okozott egyéb különbözőségeket.

Mi az alábbi vizsgálatokkal éppen ezen további különbözőségekről igyekeztünk adatokat kapni.

Módszer

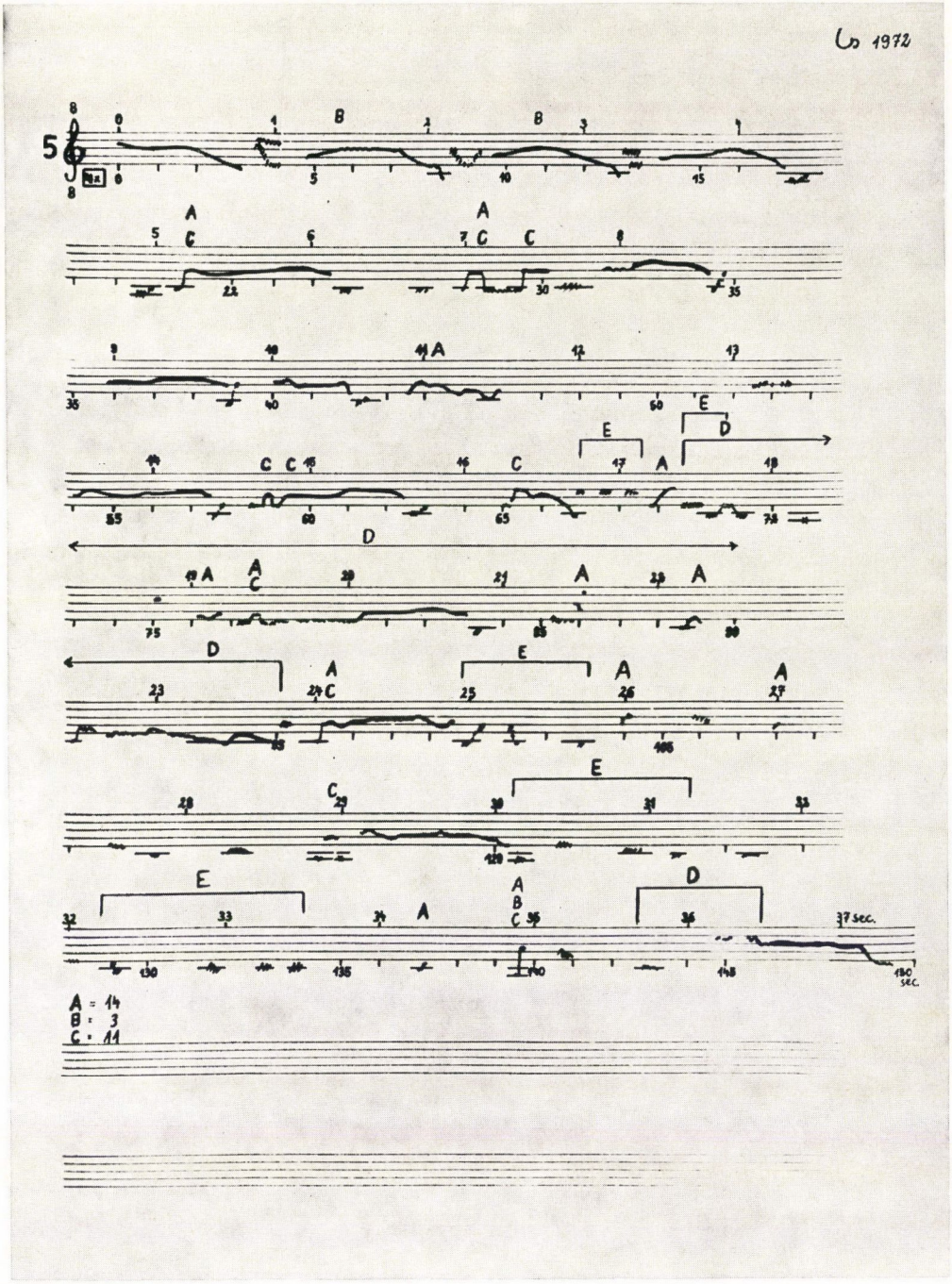
A II. sz. Női Klinikán 1972-ben született újszülöttek közül 10 per vias naturales, valamint 10 sectio caesareával világrajöttnél tanulmányoztuk az első felsírást.* Mindkét csoportban az újszülöttek zavartalan terhességből származtak, gestatiós idejük 38—42. hét között volt, születési súlyuk 2800 g feletti. Az 1 és 5 perces Apgar érték a normálistól nem mutatott eltérést. A per vias naturales született újszülöttek szövődménymentes szülésből jöttek a világra, a sectio caesarea minden esetben elektív volt (térarányatalanság, fájás-

* Köszönjük a II. sz. Szülészeti és Nőgyógyászati Klinika vezetőjének (dr. Zoltán Imre professzornak) és a Klinika munkatársainak a vizsgálatainkhoz nyújtott segítséget.



1. ábra: Egészséges újszülött első felsírása

Jelmagyarázat:
8 a violinkulcs felett az ábrázolt hangmagasságnál *1* oktávval magasabb hangadást jelent.
8 a violinkulcs alatt az ábrázolt hangmagasságnál *1* oktávval mélyebb hangadást jelent.
4 4-szeres hanglassítást (nagyítást, nyújtást) jelent.
A kottavonalak alatti mérce a lassított hangadás idejét jelenti másodpercekben.



2. ábra: Császármetszéssel született újszülött első felsírása
Jelmagyarázat: ua., mint 1. ábránál

gyengeség, fekvési rendellenesség). Az utóbbi születésmód esetén a szüléseket 6 esetben előzte meg vajudás. A köldökzsinór leszorítása mindkét csoportban a pulsatio megszűnése után történt. Sectio caesarea esetében műtéti előkészítésként az anyának 10 mg dihydro-benzperidolt (Droperidol), 0,5 mg Atropint adtak i. m. Az anaesthesia bevezetésére 0,5 g Sombrevint, 1 mg/kg Succinilcholint használtak. A narcosis intubálás után $NO_2 + O_2$ (2 : 1) keverékkel történt kontrollált lélegeztetés mellett. A Penthrane adása a magzat kiemelése után kezdődött. A műtéti beavatkozás ideje alatt Ringer-oldatot vagy 5%-os dextrose infusiót kaptak az anyák.

A sírás felvételeket UHER riporter magnetofonnal 19/sec sebességgel, *Scotch* magnetofon szalagra készítettük. A mikrofon a csecsemő szájától kb. 5 cm-re volt. A megszületés utáni első felsírást, majd az ezt követő folyamatos sírást regisztráltuk. Egy felvétel időtartama 2—3 percig tartott. A legjobban sikerült 30 másodperces részből történt a további feldolgozás.

A síráshangok elemzését hangmikroszkópiás eljárással végeztük. Az ábrázolásnál az ötvonalas skála rendszerű hanglejegyzést alkalmaztuk. Ez a módszer lehetőséget nyújt a sírásfolyamat részletbe menő qualitatív és quantitatív vizsgálatára. A vizuális képek pedig az érzékelt hangmagasságot jelenítik meg. Mivel a gyermeksírás hangzó folyamatai több hangmagasságot átölelő csúszó hangokból állnak, adequat vizuális formájukat hangvonalakkal (hanggörbékkel) ábrázoltuk.

Eredmények

1. A normális úton született és a császármetszéssel született csecsemők első felsírásai egyedi strukturális (formai) jegyeket hordoznak. Minden újszülött más-más hangvonalú, hangerejű és időtartamú hangokat ismételget, illetve variálgat. Ezek a hanglökések individuálisan jellegzetes strukturális alapegységeknek tekinthetők.

2. Az individuális jegyek mellett mindkét csoportbeli újszülöttek felsírásában közös strukturális és formai jegyek is vannak. Ezeket a közös vonásokat az alábbiakban foglalhatjuk össze (lásd 1. és 2. ábra):

a) Mindegyik sírás hanglökések, azaz ismétlődő elemi hangkibocsátások és az ezeket elválasztó (vagy összekötő) kis „szerves" szünetek, hangadásmegszakítások folyamata.

b) A hanglökéseket, azaz a tulajdonképpeni síráshangokat általában hangzó (hallható) levegőbeszívások előzik meg. E légvételek időtartama a síráshangokéhoz képest rövid.

c) A sírások szakaszos szerkezetűek. Az egyes sírásszakaszokat hosszabb szünet választja el egymástól. E szüneteknek nincs olyan összekötő jellegű szerepe, mint az egyes hanglökések közötti kis szüneteknek, mely utóbbiak a sírás-szakasz szerves részét alkotják.

d) Az egyes hanglökések hangzás vonala (intonátiós kontúrja) általában csúszó alakú, azaz glissando. Ez azt jelenti, hogy a hangmagasság folyamatosan, vagyis ugrások és kötött hangközök nélkül változik.

e) A hanglökések magasságvonala (hanggörbéje) általában a következő típusokat mutatja: csúszva ereszkedő, csúszva emelkedő, ívelt és hullámzóan ívelt.

f) A hangfekvés (hangmagasságszint) valamennyi első felsírásban azonos, a kétvonalas oktáv körül mozog.

g) A hangtáv, ami az egész sírás legmélyebb hangjától a legmagasabb hangjáig való kiterjedést jelöli, az egyedre jellemzően 8—20 hangtávolság (egy—két és fél oktáv) között változik.

h) A hanglöketek időtartamának átlaga valamennyi első felsírásban egyaránt 0,3 és 0,8 sec között váltakozik.

I. táblázat

A normális úton és a császármetszéssel született csecsemők első felsírásának összehasonlítása

	Normális úton születettek	Császármetszéssel születettek
A Hanglökés	emelkedő forma kevés (10%)	emelkedő forma sok (80%)
B Hangterjedelem	gyakori a nagyobb hangmagasság-különbség (oktáv, nona)	ritka a nagyobb hangmagasság-különbség
C Átfúvásos hangcsuklások mennyisége	0,5 percenként átlag 5,5 szélső értékek: 1—11	0,5 percenként átlag 9,7 szélső értékek: 6—15
D Ismétlésformák	egyetlen típusú hanglöket variált ismétlődése	az ismétlődések azzal, hogy tremolózó azonos hangmagasságú hangok szakítják meg, törést szenvednek, s így szakaszossá válnak
E Légvétel	a hanglöketek és a légvételek rendszeresen követik egymást	a hanglöketek és légvételek rendszertelenül váltják egymást, a tremoló szakaszok előtt a légvételek ismételtek és szaggatottak
F Sírásmennyiség	0,5 percenként átlag 31 hanglökés	0,5 percenként átlag 25,5 hanglökés

3. *A normális úton született és a császármetszéssel született csecsemők felsírása speciális strukturális és formai jegyek alapján különbözik egymástól.* A különbséget az határozza meg, hogy egyrészt bizonyos sírásjegyek mennyiségi eltérést mutatnak, másrészt bizonyos sírásjegyek kizárólag vagy csak a normális úton, vagy csak a császármetszéssel született csecsemőknél fordulnak elő jellemzően. Megállapításainkat táblázatba foglaltuk össze. A nyomtatott nagybetűvel jelzett jelenségnek megfelelően a sírástipust a két összehasonlított hangábrán (1. és 2. ábra) is megjelöltük.

A táblázatba foglalt vizsgálati eredmények azt mutatják, hogy *a normális úton születettek* első felsírásában a hanglökések zavartalanul ismétlődnek, a hanglökések és a légvételek rendszeresen követik egymást, szignifikánsan kevesebb az emelkedő formájú hanglöket (10%). Gyakori a nagyobb hangmagasság-különbség; az átfutásos hangcsuklások mennyisége kifejezetten kevesebb. Az ismétlés formákat egyetlen típusú hanglöketek variált ismétlődése reprezentálja.

Ezzel szemben *a császármetszéssel születettek* első felsírásában a hanglökésekben sok az emelkedő forma (80%), ritka a nagyobb hangmagasság-különbség, az átfúvásos hangcsuklások mennyisége kifejezetten ritka. E különbségeken túl az ismétlődéseket tremolózó hangok szakítják meg, amelyek előtt a légvételek ismételtek és szaggatottak lesznek, s így a hanglöketek és a légvételek rendszertelenül váltják egymást.

Vizsgálati eredményeink *klinikai értékelésekor* az alábbiak figyelembevétele szükséges. Az extrauterin életre való átállás az újszülött részéről az adaptatiós folyamatok sorozatának megindulását követeli. Ezek közül a légzés, — az ezzel szorosan összefüggő első felsírás —, és a keringés a legfontosabbak. Ezeknek a születés pillanatában vagy az utána következő másodpercekben, percekben meg kell kezdődniök. Az adaptatiós jelenségeket, így ezen belül az első felsírást is a terhesség és a szülés módja befolyásolja. Azért kell ezt kiemelni, mert a két szülésmód folyamán bizonyos mechanizmusokban jelentős különbségeket írtak le. Per vias naturales születés esetén még a teljes megszületés előtt, amíg a mellkasfalra a szülőcsatorna falának nyomásváltozásai hatnak, a felső légutakban levő váladék kipréselődik a szájon, az orron keresztül. Valószínű, hogy ez a váladék kipréselő hatás előnyös az újszülött szempontjából: a szabad légutak megkönnyítik az első lélegzetvételt, a tüdő expansióját. Ezt az adaptatio szempontjából kedvező helyzetet jelzi a per vias naturales megszületettek első felsírásának és folyamatos sírásának nagyobb hangterjedelme, különösképpen pedig az átfutásos hangcsuklások mennyiségének szignifikánsan alacsonyabb száma. A sectio caesareával világrajöttekben ez a hatás elmarad.

Jól ismertek azon körülmények, melyek abból adódnak, hogy a két megszületés forma alatt az újszülött fejére érvényesülő nyomásban különbségek vannak, ezzel együtt másként váltakoznak a megszületés alatt és után az intracranialis nyomásviszonyok, illetve az intracranialis keringés. Szakmai körökben ma is vitatott kérdés a különböző születésmódoknak az adaptatióra gyakorolt hatása. A kérdés tisztázása során bár nem perdöntő az első felsírás jellege, mégis vizsgálataink adatai arra engednek következtetni, hogy a per vias naturales született újszülött helyzete az extrauterin adaptatio szempontjából bizonyos vonatkozásokban kedvezőbb. Másrészt vizsgálati eredményeink talán segítenek olyan esetekben is, amikor a sectio caesareával született újszülött az első gyermekgyógyászati vizsgálat alkalmával enyhe, vagy esetleg

egyáltalán nem látható eltérést mutat. Ilyenkor az első felsírás, majd a folyamatos sírás pontos vizsgálata finom mutatója lehet a rendestől eltérő adaptatiós körülményeknek.

Kérdésfeltevésünkre vizsgálataink alapján azt az összefoglaló választ adhatjuk, hogy *a per vias naturales-, ill. sectio caesareával születettek első felsírása között lényeges eltérések mutathatók ki.* Ezek a klinikumban a különböző adaptatiós körülmények legkoraibb tüneteiként értékelhetők.

IRODALOM

Cosmi, E. V. és *Gertie F. Marx:* Am. J. Obst. and Gynec. **102,** 378 (1968)
Cosmi, E. V. és *Gertie F. Marx:* Anaesthesiology, **30,** 238 (1969)
Chiswick, M. L., Westcott, S. és *Milner, R. D. G.:* Crying vital capacity: a measure of neonatal lung function. — Előadás az European Society for Pediatric Research 1974. VII. 9—12.
Benson, R. C., Clark, W. M., Weiss, W., Schubek, F., Berendes, H. és *Deutschberger, J.:* Am. J. Obst. and Gynec. **91,** 645 (1965)
Holland, W. W. és *Young, J. M.:* Brit. M. J. **2,** 1331 (1956)
Joelsson, J., Hyman, A. J., Daniel, A., James, L. S. és *Adamsons, K.:* Obst. Gynec. **29,** 436 (1967)
Karlberg, P., Cherry, R. B., Escardo, F. E. és *Koch, G.:* Acta Paediat. Scand. **51,** 121 (1962)
Landau, D. B., Goodrich, H. B., Francka, W. F. és *Burns, F. R.:* J. Pediatrics, **36,** 421 (1950)
Towell Molly E.: Pediat. Clin. N. Amer. **13,** 575 (1966)
Segal, S.: Proceedings of Interdisciplinary Conferencie on Neonatal Respiratory Adaptation. Princeton, New Yersey, 1963.
Zoltán, I.: A szülészeti műtétek javallatainak megváltozása. Sectio caesarea indicatiója. A szülészet és nőgyógyászat haladása, Medicina, Budapest. 1972.

Semmelweis Orvostudományi Egyetem I. sz. Anatómiai, Szövet- és Fejlődéstani Intézet és Országos Munkaegészségügyi Intézet Experimentalis Pathologiai Osztály, Budapest

ADATOK A VESE VELŐÁLLOMÁNYÁNAK BEIDEGZÉSÉHEZ

DONÁTH TIBOR, az orvostudományok kandidátusa, LÉRÁNTH CSABA és UNGVÁRY GYÖRGY az orvostudományok kandidátusa

Közlésre érkezett: 1974. X. 9.

Modern neurohisztokémiai eljárások és elektronmikroszkópos vizsgálómódszerek egyértelműen tisztázták, hogy az arteria renalis ágai az arteriola afferens arteriola efferens, vasa recta, valamint a nagyobb vénák egyaránt rendelkeznek monoaminerg (*Nilsson* 1965, *McKenna és Angelakos* 1968, *Donáth és mtsai* 1968, *Léránth és mtsai* 1969, *Norvell* 1969, *Dolezel és mtsai* 1970, *Fourman* 1970, *Ljungquist és Wagenmark* 1970, *Norvell és mtsai* 1970, *Müller és Barajas* 1972 a, b), valamint acetilcholineszteráz pozitív (*Ballantyne* 1959, *Mc Kenna és Angelakos* 1968, *Gosling* 1969, *Norvell* 1969, *Norvell és mtsai* 1970, *Müller és Barajas* 1972 a, b) beidegzéssel. Részletes információink vannak a juxtaglomerularis apparatus (JGA) innervatiojáról is (*Gömöri és Oltványi* 1951, *Barajas* 1964, *Léránth és mtsai* 1969).

Minden kétséget kizáró hisztokémiai és elektronmikroszkópos bizonyítékot szolgáltat a proximális és distalis tubulusok beidegzéséről *Müller és Barajas* (1972 a, b). Tudomásunk szerint azonban nem rendelkezünk elektronmikroszkópos adattal a Henle-kacs vékony segmentje vagy az ezt körülvevő érfonat innervatiojáról. Jelen munkánk során a külső és belső velő zóna határán elhelyezkedő intrarenalis structurák beidegzéséhez kívánunk néhány adatot szolgáltatni.

Anyag és módszer

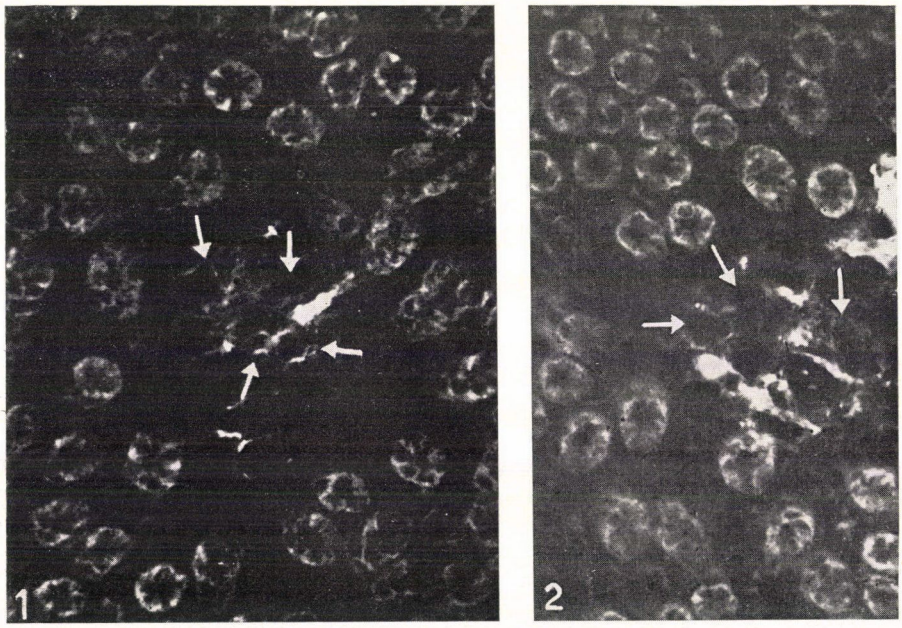
Vizsgálatainkhoz macskák veséjéből a külső és belső velőzóna határán kimetszett darabokat dolgoztunk fel. Az anyagok egy részét *Falck és Hillarp* (1962) módszerével vizsgáltuk. Az anyagok másik csoportját paraformaldehid-glutáraldehid oldattal perfusiós vagy immerziós előfixálás, ill. 1%-os ozmiumtetroxiddal történő utófixálás után Durcupan ACM-be ágyaztuk, majd Reichert OM U2 ultramikrotómmal metszettük, uranylacetáttal és ólomcitráttal kontrasztoztuk és TESLA BS 413-as elektronmikroszkóppal vizsgáltuk.

Eredmények

A *Falck – Hillarp* (1962) szerint feldolgozott anyagban a Henle-kacs vékony segmentjeinek átmetszeteit körülölelő finom, igen vékony specifikus fluorescenciájú rostokat figyeltünk meg a külső és belső velőzóna határán (1., 2. ábra). Elektronmikroszkóppal a Henle-kacsok vékony segmentjei és a velük szomszédos capillarisok között, mindkettőtől jelentős távolságra, számos Schwann-sejt hüvelyben (3. ábra) vagy abból részben kibújt axon-terminalist figyeltünk meg. A Schwann-sejtben elhelyezkedő axonok és a capillarisok vagy a Henle-kacs vékony segmentjei között kisebb-nagyobb kiterjedésű collagen-fibrillumokkal kitöltött térség van.

A Schwann-sejtből kibújt axonok egyik része szorosan hozzáfekszik a fenestrált endothellel bélelt capillarisok basalis laminájához (4. ábra), másik része a capillaristól nagyobb távolságra van, harmadik csoportja fenestrálatlan endothellel bélelt vasa rectához simul.

Mind a Schwann-sejt borítású, mind a Schwann-sejt mentes axonokban mitochondriumok, 450—550 Å nagyságú üres vagy dense core, illetve kb. 900 Å nagyságú dense core vesiculák vannak. A capillarisok falához fekvő axonokban gyakran figyelhető meg a vesiculáknak a basalis lamina felé irányuló polarizáltsága (5. ábra).



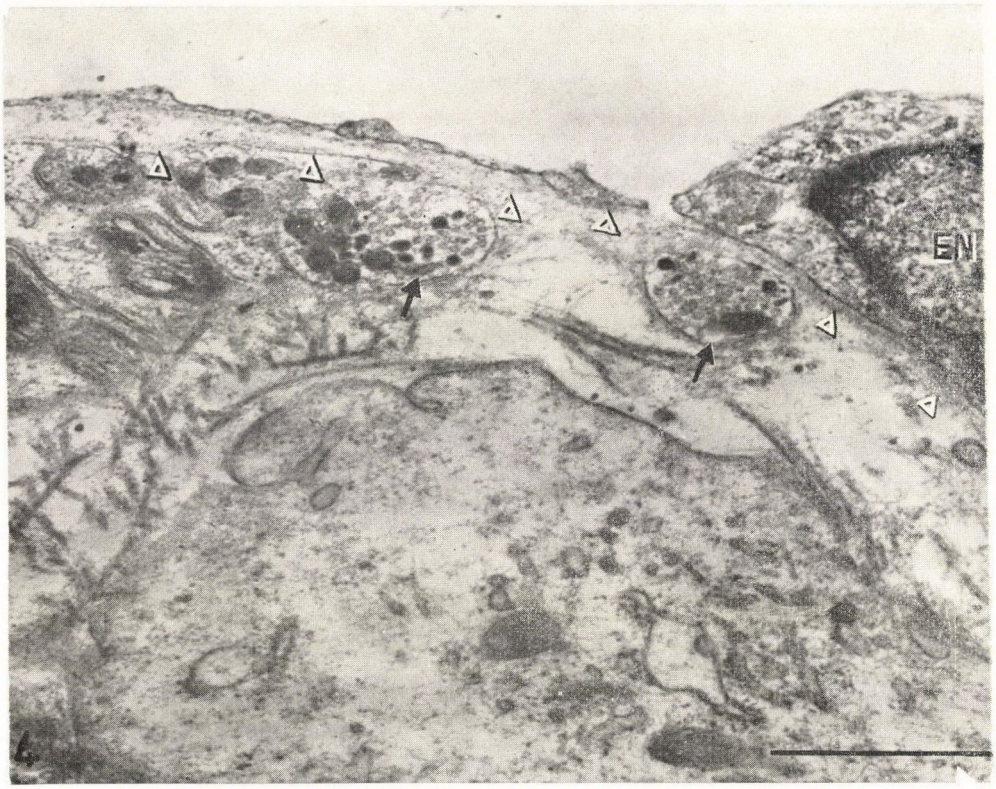
1—2. ábra: Henle-kacsok vékony segmentjeinek átmetszeteit körülölelő finom, specifikus fluorescenciájú rostok (→). Macska vese. Külső és belső velőzóna határ. 200×.

3. ábra: Fenestrált endothéllel (E) bélelt capillaris közelében Schwann-sejt (Sch) borítású vagy abból részben kibújt axonok (→). Macska vese. Külső és belső velőzóna határ. Skála: 1 μm.

Megbeszélés

Mind a catecholaminok kimutatására alkalmas *Falck—Hillarp* (1962)-féle technikával, mind elektronmikroszkóppal sikerült idegelemeket találni a külső és belső velőzóna határán. Az idegelemek fénymikroszkóppal vizsgálva azt az impressziót keltették, hogy a Henle-kacs vékony-segmentjeit innerválják. Elektronmikroszkóppal követve az axonokat azonban, azokat a Schwann-sejtből kibújva vagy a vasa recták vagy a fenestrált endothellel rendelkező capillarisok basalis laminájához simulva találtuk meg. A Henle-kacsok vékony-segmentjével hasonló szoros kontaktust elektronmikroszkóppal eddig nem sikerült megfigyelni.

A capillarisok basalis laminájához fekvő axon-terminalisok egyik részében kis dense core vesiculák vannak; ezek valószínűleg megfelelnek a *Falck—Hillarp* (1962) technikával demonstrált noradrenerg ideg-terminalisoknak. Az axonok másik csoportja kis üres vesiculákat tartalmazott; elképzelhető

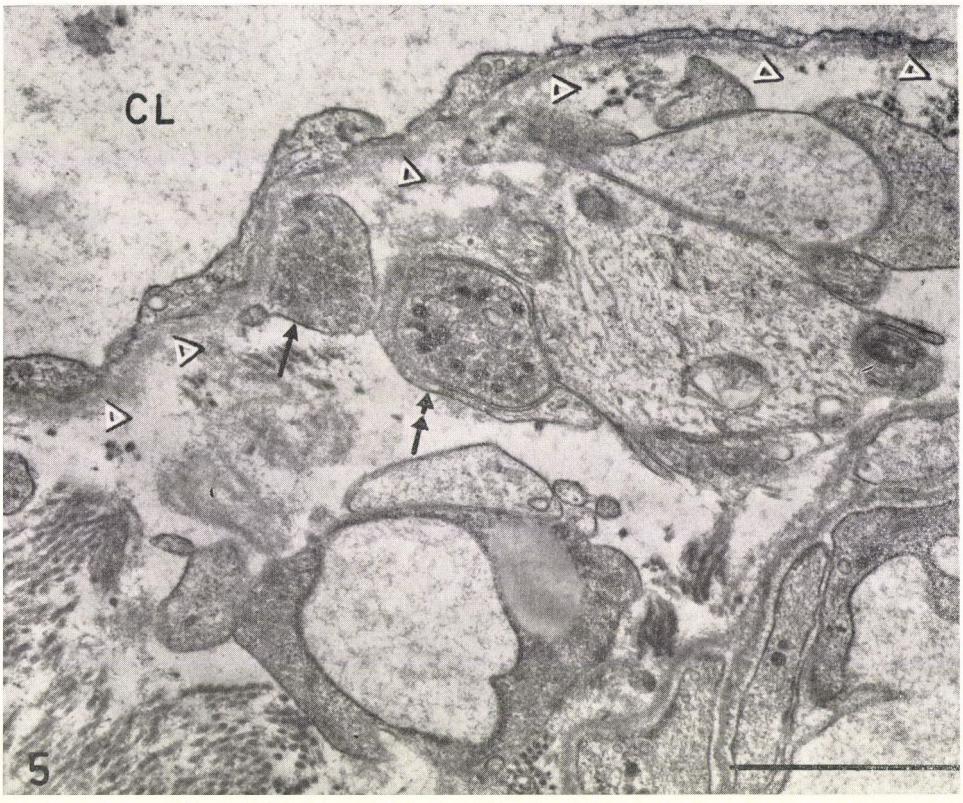


4. ábra: Fenestrált endothéllel bélelt capillaris basalis laminájához (△△) hozzáfekvő axon terminálisok (→), melyekben dense core és üres vesiculák vannak. EN: endothel-sejt nucleus. Macska vese. Külső és belső velőzóna határ. Skála: 1 μm.

tehát, hogy ezek nem noradrenerg transzmisszióval dolgoznak, de az alkalmazott fixálási módszerünk miatt ezt nem állíthatjuk.

A velőállomány vérereinek beidegzése jól összhangba hozható azokkal a fiziológiai megfigyelésekkel, amelyek szerint a vesekéreg autoregulációjával szemben a velő-vérkeringés autoregulációja kevésbé tökéletes; nevezetesen jól magyarázható az a reflektórikus vasoconstrictio, amely carotis elzárás alatt a vesevelőben a post-glomerularis érszakaszra is kiterjed *Hársing és mtsai* (1972). Ugyancsak jól értelmezhetők azok az eredmények is, hogy splanchnicotomiát követően a medullaris véráramlás fokozódhat az egyidejű polyuria és natriurezis mellett *Bencsáth és mtsai* (1972).

Sokkal kevésbé érthető a medullaris beidegzésnek az a jellemző sajátossága, hogy az axon-terminalisok a peritubularis capillarisok basalis laminájához szinte hozzátapadnak. Elméletileg elképzelhető, hogy a transzmitter a basalis



5. ábra: Fenestrált endothéllel bélelt capillaris basalis membránjához (△△) hozzáfekvő Schwann-hüvely mentes üres — a basalis lamina felé polarizálódott — vesiculákat tartalmazó axon terminális (→). A Schwann-sejtben üres és dense core vesiculákat tartalmazó axon terminális (→→). CL: capillaris lumen. Macska vese. Külső és belső velőzóna határ. Skála: 1 μm.

lamina permeabilitásának változásában, a capillaris-shuntök nyitásában vagy zárásában és így a medullaris vérkeringés lokalis redistributiojában, vagy a véráramba jutva távolabbi hatások kialakításában játszik szerepet.

Összefoglalás

Szerzők macskák veséjének külső és belső velőzónájának határáns le helyezkedő idegrostokat *Falck—Hillarp* (1962) katechouɐə-nokra specifkui-eljárásával és elektronmikroszkóppal vizsgálták. A Helamikcs vékony-segmentjei körül finom, specifikus flourescenciájú terminalisokat figyeltek meg. Elektronmikroszkópos vizsgálattal megállapították, hogy az axon-terminalisok a Schwann-sejtekből helyenként teljesen kibújnak és vagy a vasa recták falához vagy a peritubularis capillarisok basalis laminájához simulnak. Az

axonok egyik csoportjában 450—550 Å nagyságú üres, másik csoportban hasonló nagyságú dense-core vesiculák, a harmadik csoportban üres vesiculák mellett kb 900 Å nagyságú dense-core vesiculák vannak. A tubulus-rendszer vastag segmentjével ellentétben, a vékony segment beidegzését nem sikerült demonstrálniok.

IRODALOM

Ballantyne, B.: Univ. Leeds Med. J. **8,** 50 (1959)
Barajas, L.: Lab. Invest. **13,** 916 (1964)
Bencsáth, P., Szalay, L. és *Takács, L.:* MTA. Oszt. Közl. **23,** 279 (1972)
Dolezel, S., Owman, C., Owman, T., Gerová, M. és *Konecny, M.:* Physiol. Bohemoslov. **19,** 317 (1970)
Donáth, T., Léránth, Cs. és *Ungváry, Gy.:* I. Magyar Anatomus Kongr. **26** (1968)
Falck, B., Hillarp, N. A., Thieme, G. és *Torp, A.:* J. Histochem. Cytochem. **10,** 348 (1962)
Fourman, J.: Experientia **26,** 293 (1970)
Gosling, J. A. és *Dixon, J. S.:* Anat. Rec. **165,** 503 (1969)
Gömöri, A. és *Oltványi, Z.:* Kísérl. Orvostud. **1,** 1 (1951)
Hársing, L., Hársing, L. Jr. és *Bartha, J.:* MTA. V. Oszt. Közl. **23,** 295 (1972)
Léránth, Cs., Ungváry, Gy. és *Donáth, T.:* Acta Morph. Acad. Sci. hung. **17,** 131 (1969)
Ljungqvist, A. és *Wagermark, J.:* Nephron **7,** 218 (1970)
Mc Kenna, O. C. és *Angelakos, E. T.:* Circ. Res. **22,** 345 (1968)
Munkácsi, I.: Acta Anat. **73,** 56 (1969)
Müller, J. és *Barajas, L.:* J. Ultrastruct. Res. **41,** 533 (1972a)
Müller, J. és *Barajas, L.:* J. Ultrastruct. Res. **42** (1972b)
Nilsson, O.: Lab. Invest. **14,** 1392 (1965)
Norvell, J. E.: Anat. Rec. **163,** 236 (1969)
Norvell, J. E., Weitsen, H. A. és *Sheppek, C. G.:* Transplantation **9,** 168 (1970)

Országos Haematológiai és Vértranszfúziós Intézet, Budapest

A HL-A, VALAMINT VÉRCSOPORTRENDSZEREK (Rh, ABO) ÉS AZ IMMUNREAKTIVITÁS GENETIKAI KAPCSOLATA

PETRÁNYI GYŐZŐ, IVÁNYI PAVEL és HOLLÁN ZSUZSA az MTA levelező tagja

Közlésre érkezett: 1974. X. 10.

Az elmúlt években egyre szélesebb körben végzett kísérletes vizsgálatok eredményei egyértelműen igazolták, hogy a különböző antigénekkel szemben keletkező specifikus immunválasz genetikai kontroll alatt áll (*Benacerraf* és mtsai 1971, *Benacerraf* és *McDevitt* 1971, *McDevitt* 1971). Szintetikus polypeptidekkel (*Bluestein* és mtsai 1971, *Günther* és mtsai 1972, *Merryman* és *Maurer* 1972, *Shearer* és mtsai 1972) serum fehérjék kis dózisával (*Liebermann* és mtsai 1972, *McDevitt* 1971) hapten-carrier komplexekkel (*DelGuericio* és *Zola* 1972, *Rihova-Skavova* és *Riha* 1972) bakteriális antigénekkel (*Amsbaugh* és mtsai 1972, *Biozzi* és mtsai 1971) vörösvértest és transzplantatiós antigénekkel (*Fuji* és mtsai 1972, *Stimpfling* és *Durham* 1972) az egerekben, patkányokban és tengerimalacokban indukált immunválaszt, feltehetően autosomalis domináns önálló génműködés szabályozza (*Benacerraf* és mtsai 1971, *Benacerraf* és *McDevitt* 1971, *McDevitt* és mtsai 1972). E géneket a szóban forgó antigénektől függően egerekben Ir-1, Ir-3 (*Benacerraf* és mtsai 1971, *Benacerraf* és *McDevitt* 1971, *McDevitt* 1971) tengerimalacokban PLL, GA, GT, GL, BSA stb. elnevezésekkel illették (*Benacerraf* és mtsai 1971, *Benacerraf* és *McDevitt* 1971, *Günther* és mtsai 1971, *McDevitt* 1971). A beltenyésztett egér, patkány és tengerimalac törzsek keresztezésével, visszakeresztezésével végzett génlokalizációs vizsgálatok döntő többségében az egyes antigénekkel szembeni immunreakcióért felelős géneket elsősorban a hisztokompatibilitási locushoz kapcsoltan találták (*Benacerraf* és mtsai 1971, *Benacerraf* és *McDevitt* 1971, *Bluestein* és mtsai 1971, *McDevitt* 1971, *Merryman* és mtsai 1972). Az egerek Ir-1 locusa már közel pontosan lokalizálható a H-2 „szupergén" komplex „K" vége és az Ss-Slp locus közötti szakaszon (*McDevitt* és mtsai 1972).

Az eddigi vizsgálatok alapján feltételezhető, hogy a különböző antigénekkel szembeni immunválaszt több gén határozza meg, bár egy gén több rokon antigénnel és hapten konjugátummal szembeni humoralis, vagy sejtközvetített immunreakciót is befolyásolhat, ugyanakkor egy antigénnel szembeni immunreakció is lehet multigenetikus faktorok eredménye.

A génműködés valószínűleg az antigénfelismerés képességét kódolja a T-lymphocyták szintjén *McDevitt* (1971), bár ismeretesek olyan genetikusan meghatározott funkciózavarok (pl. az immunocyták clonalis osztódásának

meglassúbbodása), melyek a legkülönbözőbb csoportba tartozó antigénekkel szembeni immunválaszokat egyaránt és egyöntetűen befolyásolni képesek. Az ilyen „gyenge" vagy „alacsony" immunreakcióval rendelkező egyedekben kísérletes daganatok könnyebben indukálhatók (*Biozzi* és mtsai 1971, *Biozzi* és mtsai 1972, *Lieberman* és mtsai 1972, *Liocopulos* és mtsai 1972). Ez utóbbit, vagyis a daganat fogékonyságot meghatározó géneket is egyes esetekben a hisztokompatibilitási locussal kapcsoltnak találták (pl. Rgv-1 gént, mely a Gross leukaemia-vírus iránti fogékonyságot határozza meg).

A kísérleti adatokon nyugvó, az immunreaktivitással kapcsolatos összefüggések felfedezése hasonló emberi adatok keresése iránti érdeklődést keltett fel.

Így az utóbbi években intenzíven kutatták az emberi HL-A locus allelejeinek különböző lympho- és myeloproliferativ, valamint kóros immunfunkciókkal járó autoimmun betegségekkel feltételezett korrelációját (*Conkell* és mtsai 1971, *Jeannet* és *Maguin* 1971, *Lilly* 1971, *Thorsby* és *Lie* 1971, *Thorsby* és mtsai 1972, *vanRood* és *vanLeuwen* 1971, *Walford* és mtsai 1971).

Az eddigi vizsgálatok eredményei egyes esetekben szignifikáns összefüggéseket tártak fel; pl. a Hodkin-kóros betegekben a W5, az acut myeloid leukaemiában a HL-A 12 antigének gyakrabban fordultak elő (*Conkell* és mtsai 1971, *Sybesma* és mtsai 1972, *Thorsby* és mtsai 1972, *vanRood* és *vanLeuwen* 1971). Az esetek egy részében a talált összefüggések még további megerősítésre szorulnak, pl. acut lymphoid leukaemiában a HL-A haplotypus, vagy Hodkin kórban a HL-A antigén gyakoribb előfordulása (*Morris* és *Forbes* 1972, *Thorsby* és *Lie* 1971, *Walford* és mtsai 1971). Feltűnő az összes malignus haematológiai megbetegedések egybevetése esetén, hogy a HL-A 11 antigén azokban a szokottnál jóval ritkábban fordul elő (*Jeannet* és *Maguin* 1971). Egyes autoimmun jellegű betegségekben (myasthenia gravis, lupus erythematosus, rheumatoid arthritis dermatitis herpetiformis, stb.) különösen a HL-A 1 és 8 antigének gyakoribb előfordulását találták (*Katz* és mtsai 1972, *Pirkskanen* és mtsai 1972, *Seignalet* és mtsai 1972, *Stenszky* és mtsai megj. alatt).

A fentiekben említett betegségekben feltehető az immunrendszer csökkent, illetve kóros működése. Így ezek, a ma még le nem zárható vizsgálatok csak indirect utalhatnak a HL-A rendszer és az immunreaktivitás feltételezett kapcsolatára. Az immunreaktivitás genetikai hátterének tisztázására vonatkozó közvetlen vizsgálatok kezdeti eredményei szerint az egyes immunológiai paraméterek a HL-A antigénekkel igen polymorph kapcsolatot mutatnak (*Brain* 1972, *Buckley* és mtsai 1973, *Sybesma* 1972).

Tekintettel arra, hogy a kérdés vizsgálata rendkívül fontos mind elméleti, mind klinikai szempontból, „Nemzetközi HL-A workshop"-ot szerveztünk, melynek keretében 133 egészséges egyénben a HL-A és vércsoport antigének, és különböző immunológiai vizsgálat kategorizált eredményei között kerestük a kapcsolatot. 463, részben $Rh_0(D)$ pozitív vörösvértestekkel, részben Staphy-

lococcus, valamint Pertussis antigénekkel immunizált egyén közül kiválasztott legalacsonyabb, illetve legmagasabb immunválasszal rendelkező 133 egyénen, 14 bakteriális antigénnel szembeni, természetes úton kialakuló ellenanyagszintet, IgA, IgG, IgM összkomplement és C1 serumszintet, továbbá phytohaemagglutininnel (PHA) lymphocyta stimulációt, indifferens xenogen (egér) fibroblast target sejteken kifejtett lymphocytotoxicitást, tuberculoproteinnel indukált macrophag migrációgátlást vizsgáltunk. Az immunológiai vizsgálatok során nyert eredményeket „alacsony", „közepes" és „magas" kategóriákba soroltuk. Számítógépes statisztikai analízis segítségével kerestük a HL-A, és különböző vércsoport antigének, valamint a „hypo- —, illetve „hyper" immunreaktivitás kapcsolatát, továbbá a különböző kategóriákba sorolt immunológiai értékek egymáshoz való viszonyát.

Módszerek

Immunizálás: A vizsgálatokat 133 egészséges belgyógyászatilag kivizsgált 20—50 év közötti önkéntes, 80%-ban férfi véradón végeztük el, akiket 260 Budapesten és 203-at Győrött anti-D savó, Staphylococcus, illetve Pertussis vaccina-termelés céljából immunizált donorok csoportjaiból választottuk ki.

A 4—5 év óta hetenként 3x, 2—5 ml mosott $Rh_0(D)$ pozitív (AB0 csoportazonos) vörösvérsejttel intravénásan immunizált egyének közül 76-ot választottunk ki. Az immunizáltak kb. 30%-a általában rossz ellenanyagtermelőnek bizonyult. A legérzékenyebb serológiai módszert — az enzimkezelt (papainizált) vörösvérsejt agglutinációt alkalmazva — a refrakter egyéneket (39 eset) „areactiv", és az 1: 300 titert meghaladó antitest termeléssel válaszolókat (37 eset) „hyperreactív" csoportba soroltuk.

A donorok másik csoportját Staphylococcus, vagy Pertussis (Polystaph: 2×10^9 bact/ml + alfa toxoid, Pertussis: 2×10^8 particulum/ml, HUMÁN vaccinával (0,2—0,5 ml) 6—8 alkalommal, 5—7 napos közökkel immunizáltuk intracutan. A normál értékeknél (anti-staphylococcus 3,2—9,6 anti-pertussis 1 : 320—1 : 1280 titer) alacsonyabb titerű egyedeket „hyporeactív" (24 eset), és az annál magasabb titerű egyéneket „hyperreactív" (23 eset) kategóriába soroltuk.

Vörösvérsejt és HL-A antigén meghatározás: Az 0AB, MN, Rh (D, E, C) vércsoport antigéneket a standard methodikákkal határoztuk meg. A 133 egyén HL-A típusát a „Budapest* HL-A workshop"-on közösen és egyidőben 10 nemzetközi munkacsoport határozta meg. 22 HL-A antigénre tipizáltunk *(1. táblázat)*, és az egyes egyének phenotypusát közösen határoztuk meg. A tipizálást a standard NIH-technikával (Terasaki, 1972) végeztük.

A vizsgált 133 egyén vércsoport, és HL-A antigén megoszlása és gén-

* Belgrád, Berlin, Moszkva, Párizs, Pozsony, Prága, Szófia, Zágráb, Wroclaw és Magyarország (Budapest, Debrecen, Szeged)

1. táblázt

Antigén és gén frequencia a magyar (kontroll) populációban (N = 790) és a „Workshop" csoportban (N = 128)

Első locus:		Kontroll csoport		„Workshop" csoport	
		Ag. freq.	G. freq.	Ag. freq.	G. freq.
HL-A	1	0,273	0,147	0,281	0,152
	2	0,508	0,299	0,500	0,293
	3	0,239	0,127	0,172	0,090
	9	0,227	0,121	0,227	0,121*
(W	23)	—	—	(0,219)	(0,116)
(W	24)	—	—	(0,008)	(0,004)
HL-A	10	0,176	0,092	0,164	0,086*
(W	25)	—	—	(0,109)	(0,056)
(W	26)	—	—	(0,055)	(0,028)
HL-A	11	0,135	0,070	0,145	0,077
W	28	0,076	0,040	0,086	0,044
	29	—	—	0,078	0,040
	30	—	—	0,102	0,052
	31	—	—	—	—
	32	0,064	0,033	0,070	0,036
	x	—	0,072	—	0,010
Második locus:					
HL-A	5	0,170	0,089	0,125	0,065
	7	0,179	0,094	0,188	0,099
	8	0,192	0,101	0,117	0,060
	12	0,213	0,113	0,250	0,134
	13	0,096	0,049	0,078	0,040
W	5	0,163	0,085	0,297	0,162
	10	0,162	0,085	0,078	0,040
	14	0,070	0,036	0,039	0,020
	15	0,084	0,043	0,086	0,044
	16	—	—	0,047	0,024
	17	0,099	0,051	0,039	0,020
	18	—	—	0,164	0,086
	21	—	—	0,055	0,023
	22	0,039	0,020	0,016	0,008
	27	0,098	0,050	0,086	0,044
Da	30	—	—	0,055	0,028
	y	—	0,185	—	0,102

* A „Workshop" csoportban a HL-A9 magában foglalja W-23 és W 24 antigéneket, továbbá a HL-A 10 pedig a W 25 és W 26 antigéneket.

frekvenciája általában a magyar populáció azonos adataival megegyezett *(1. táblázat)*. Egy-egy antigén vonatkozásában azonban szignifikáns eltérés mutatkozott a szelekció miatt pl. az ABO, valamint $Rh_0(D)$ negatív vércsoport és W5 antigén. Viszont az MN vércsoport megoszlása, mely a szelekciónál nem került figyelembe, jól reprezentálta az átlag magyar populációt *(3. táblázat)*.

Természetes ellenanyagszint meghatározás: A 133 egyénen olyan 14 bacteriális (Ty O, Ty Vi, Ty 2, Paty, Flexner 1, 2, 3, 6, Sonnei, Py O, Coli O 26,O 55, O 86, O 111) antigénekkel szembeni, és az anti A, valamint anti B ellenanyagszintet vizsgáltuk, melyekkel a magyar lakosság általában 80—100%-a természetes, vagy mesterséges úton immunizálódott (Backhausz és mtsai 1967,

2. táblázat

A különböző immunparaméterek átlagértékei és kategóriái

	Kontroll soport	„Workshop" csoport			
	$X_0 - S.D.$	$X_0 \pm S.D.$	„alacsony"	„közepes"	„magas"
anti-D	—	—	0	—	1 : 300<
anti-Staph. titer	—	—	0—3,2	—	3,2<
anti-Pert.	—	—	0—1 : 640	—	1 : 640<
anti-A titer	5,92±1,06	5,77±1,32	<4,25	4,50—7,00	7,25<
anti-B titer	5,93±1,59	5,44±1,55	<3,50	3,75—7,25	7,25<
S. Ty-0 titer	4,81±1,69	2,02±2,03	<4,25		4,25<
S. Ty-2 titer	5,06±1,62	3,25±1,01	<2,00	2,25—4,50	4,50<
S. Ty-Vi titer	3,87±1,95	3,32±1,41	<1,75	2,00—5,00	5,00<
S. Paty titer	4,03±1,39	0,81±1,61	<2,50		2,75<
S. Flexner 1 titer	5,34±1,40	3,33±1,50	<1,50	1,75—4,75	5,00<
S. Flexner 2 titer	4,84±1,39	3,37±0,70	<2,50	2,75—4,00	4,25<
S. Flexner 3 titer	4,97±1,42	3,63±1,58	<1,75	2,00—5,25	5,50<
S. Flexner 6 titer	6,19±1,47	2,87±1,72	0	1,50—4,50	4,75<
S. Sonnei titer	5,45±1,58	2,87±1,54	0	1,50—3,25	3,50<
Pyocy. aerug. titer	4,99±1,71	2,43±1,78	0	1,50—4,25	4,50<
E. Coli 026 titer	4,49±1,75	3,85±1,22	<2,50	2,75—5,00	5,25<
E. Coli 055 titer	3,37±1,63	2,34±1,59	0	1,50—4,00	4,25<
E. Coli 086 titer	5,78±1,82	1,75±1,84	<3,50		3,75<
E. Coli 0111 titer	3,74±1,36	2,53±1,67	0	1,50—4,25	4,50<
Staphyloc. titer	0,56±0,28	1,33±1,03	<0,28	0,29—2,36	2,37<
IgA mg/ml	2,33±1,16	2,54±1,09	<1,43	1,44—3,63	3,64—11,20
IgG mg/ml	10,99±3,25	11,37±4,44	<8,92	8,93—17,81	17,82<
IgM mg/ml	0,84±0,39	1,31±0,79	<0,50	0,51—2,10	2,11<
Össz-complement	72,00±15,00	73,30±12,3	<56,00	56,00—87,00	87,00<
C 1 CH_{50}/ml	941±146	978±231	<790	790—1090	1090<
PHA stimuláció c. p. m.	±	6707±2859	<3848	3849—9566	9566<
PHA érzékenység PHA dózis ml-ben	—	—	<0,03	0,01—0,003	0,001<
Migr. gátlás Migr. index	—	—		1,00—0,83	0,83<
Cutan-test, hyperaemia mm ∅	—	5,00±3,40		<9,00	9,00<
Lymphocytotoxicitás %	—	—	<4,5	4,50—15,00	15,00<
Nem	—	—	nő		férfi
Kor	—	—	<45		45<

3.táblázat

Antigén frequencia a magyar (kontroll) populációban és a „Workshop" csoportban

Vér csop. rendszer	Antigén	Kontroll csoport:		„Worskhop" csoport:	
		Ag. freq.	N	Ag. freq.	N
ABO	O	31,51		12,03	
	A	41,92	50,000	52,38	133
	B	18,23		18,79	
	AB	8,34		15,78	
MN	M	32,60		31,75	
	N	18,40	20,000	11,91	126
	MN	49,00		56,35	
Rh	$Rh_0(D)+$	83,68	5,000	40,60	
	$Rh_0(D)-$	16,32			133

Veres J. és *Lajos J*, 1972). Egyedül csak a Coli O 111 fertőzöttség 55%-os az átlagpopulációban (Backhausz és mtsai 1967, *Veres J.* és *Lajos J.*, 1972). A bacteriális antitesteket *Takátsy* mikrómódszerével (50), *Backhausz* és mtsai (40) által módosított vizsgálat szerint vizsgáltuk. A bacteriális antitesteket passív haemagglutinációval, az isohaemagglutininek titerét direct agglutinációval, a staphylococcus alpha antitoxin (ASTA) titert haemolysis gátlással határoztuk meg.

A 100 előzetesen vizsgált „kontroll" budapesti véradó, és a „workshop"-on vizsgált 133 egyén átlag titer értékeit a *2. táblázatban* tüntettük fel. Feltűnő, hogy egyes antigének esetében TyO, Ty2, Paty, Flexner 1, 6, Sonnei, Pyoc Coli 066) az átlag titer értékek a „workshop" populációban jelentősebben alacsonyabbak voltak, mint a kontroll csoportban.

Immunoglobulin meghatározások: Az IgG, IgM és IgA serumszinteket a *Mancini* és mtsai módszerével (30) határoztuk meg.

Complement vizsgálatok: A serum összkomplement és a Cl tényező vizsgálata csak a bakteriális antigénnel immunizáltak csoportjánál történt. Bár az összkomplementszint csak globálisan mutatja a complement rendszer haemolyticus aktivitását, de az újabb vizsgálatok szerint (Margkescu, 1968) párhuzamosan változik a complement szekvenciában kulcsszerepet betöltő C3 tényező (beta 1C globulin) serumkoncentrációjával. A Cl titrálást a *Hegedüs* és *Greiner* 1938) által kidolgozott, és *Bier* és mtsai (1945) által tökéletesített R reagens módszerrel végeztük. Technikai okokból ezt a módszert alkalmaztuk az „effectiv molekula" titrálás (intermedier technika) helyett, miután a korábbi vizsgálatok arra mutattak, hogy a két módszer közel azonos eredményt ad (*Schöngut* és mtsai 1970). Mind az összkomplementet, mind a Cl titert 50%-os haemolyticus egységekben (CH_{50}/ml) adtuk meg, melyeket grafikus úton a Krogh egyenlet alapján határoztunk meg.

A lymphocyták PHA stimulációs vizsgálata: A lymphocyta tenyésztésben

a sejteket defibrinált vérből, gelatin segítségével ülepítettük. Az 1 ml-es kultúrák 1×10^6 lymphocytát tartalmaztak 20% AB serummal supplementált Parker 199 mediumban. A blastos transzformatios vizsgálatot *Schellekens* és *Eijsvoogel* (1968) módszere alapján végeztük.

A lymphocyta stimulációhoz PHA-M-et (Difco) használtunk. Minden egyén lymphocyta tenyészeteihez ugyanazon PHA seriából különböző mennyiségeket adtunk (0,03, 0,01, 0,003, 0,001 ml/tenyészet).

A PHA stimuláció értékét a tenyésztés 3. napján 12 órás 0,5 μCi ^{3}H-thymidin (Amersham, spec. act. 10 mCi/mMol) incorporáció után mértük, és cpm értékekben adtuk meg.

Kétféle jellemzőt vizsgáltunk:

a) A PHA stimuláció erőssége: melyet az összes PHA dózis hatására kapott cpm. értékek átlaga alapján 3 csoportba kategorizáltunk (2. táblázat és a matematikai rész).

b) A PHA érzékenység: az egyes PHA dózisokra kapott impulzus értékeket grafikusan ábrázoltuk. A kapott görbéket négy kategóriába osztottuk: a typusos maximumot mutató görbék lehettek a magas, közepes vagy alacsony PHA dózisoknál, és a maximum nélküli ún. „lapos" görbék, melyeket minden dózisra közel azonos cpm. értékek jellemeztek. Az alacsony PHA dózisra maximálisan reagáló lymphocytákat „PHA hypersensitív", míg a nagy PHA dózisra reagálókat „PHA hyposensitív" elnevezéssel illettük.

A lymphocyták cytotoxicus aktivitásának mérése:

A lymphocyták spontán cytotoxicus aktivitását xenogen target sejtekensemimicro ^{51}Cr release módszerrel vizsgáltuk, mely módszer hasonló más methodikán alapul (*Menard* és mtsai, 1972., *Rosenberg* és mtsai 1972.). A lymphocytákat gelatin ülepítéssel, Delegan oszlopon való granulocyta mentesítéssel és Ficoll-Uromiro gradiens centrifugálással tisztítottuk. Target sejtként ^{51}Cr-al jelzett (100 μCi $Na_2CrO_4/10^6$ sejt, 45 perces inkubálás 37 °C-on) DBA/2 egér fibroblast kultúrát használtunk. A mikroplate lyukaiba (Falcon Plastic, type 3040) 5×10^3 target sejtet, 5×10^5 lymphocytával tenyésztettünk együtt 5% CO_2-ot tartalmazó páratelt atmoszférában 37 °C-on, 12 órán át, rázógépen (Bellco) történt lassú (7/perc) mozgatás mellett. A cytotoxicitást a felszabadított aktivitás mérése alapján az alábbi képlet szerint adtuk meg:

$$\frac{\text{cpm ly jelenlétében} - \text{cpm lymphocyták nélkül}}{\text{a target sejtekben incorporált teljes cpm}} \times 100$$

A cytotoxicitási értéket 3 kategóriába soroltuk: 0% — 4,5, 4,5—15% közötti, és 15% feletti cytotoxikus aktivitások.

Minden esetben megvizsgáltuk a cytotoxicus aktivitást 0,003 ml PHA-M jelenlétében is.

Kapilláris migráció módszere: A fenti módszerrel separált tiszta lympho-

cyta suspensioval 5×10^6 lymphocytát 24 órán át tenyésztettünk 5% CO_2 atmospherában 37 °C-on 1 ml Parker 199 mediumban, mely 10 μg/ml PPD-t tartalmazott (Purified Tuberculin, Statens Serum Institute, Tub. Dept. DK-2300, Copenhagen). E felülúszókat használtuk médiumként, több egyén kevert véréből gelatin ülepítés után Degalan oszlop segítségével tisztított humán adherens sejtek kapilláris migráció gátlásának vizsgálatára. A módszer lényegében *Falk* és *Zabriski* (1971) módszerén alapult.

A migrációs területeket planimetriásan mértük, és a gátlást migrációs index segítségével fejeztük ki. Pozitív-gátlásnak a 0,83 alatti index értékeket vettük, mely már szignifikánsan eltért a kontroll értékektől.

A migráció-gátlás vizsgálatát technikai okok miatt csak az $Rh_0(D)$ pozitív vörösvérsejtekkel immunizált egyének egy részénél (40 eset) vizsgáltuk.

Cutan-test: A bacteriális antigénnel immunizált egyének esetében az immunizálásra felhasznált baktériumból készített allergen test (Allergen test A, F, HUMÁN) 0.1 ml oldatát intracután adtuk. A reakciót 48 óra múlva olvastuk le, és azt a bőrpír átlagos átmérőjével jelöltük. Normál, nem immunizált egyének esetében a Pertussis cután test 1,2 mm Ø, a Staphylococcus cután test pedig 12,9 mm Ø reakciót idézett elő. A pertussissal immunizáltaknál a reakció átlagos átmérője 4,1 mm volt, míg a Staphylococcus immunizálás esetében 5,4 mm. Minden esetben pozitívnek vettük a 9 mm-nél nagyobb átmérőjű reakciókat.

Matematikai értékelés:

1. Kategóriák meghatározása: A workshopon megvizsgált 133 egyén és a kontroll csoport különböző vizsgálatú eredményeinek középértékét meghatároztuk. A középértékek szórása által határolt értékek alatt lévő vizsgálati eredményeket az „alacsony", a feletti értékeket a „magas" kategóriába soroltuk. A „normál" kategóriát a szórási értékeken belül adatok képezték *(2. táblázat)*.

A természetes ellenanyagok között volt három (TyO, Paty, Coli 086), melyek esetében csak két kategóriát (alacsony, magas) lehetett megkülönböztetni. Ennek megfelelően a szórás felső határa feletti adatokat a magas, az alattiakat az alacsony kategóriába soroltuk.

2. Computer program: A 133 vizsgált egyén kategorizált immunológiai adatait a HL-A, és vörösvérsejt antigénekkel való kapcsolatuk tekintetében analizáltuk, továbbá az összes immunológiai adatokat egymással is összevetettük. Az összehasonlításra került csoportok összefüggését az X^2 számítás, 2×2 kontingencia táblázat segítségével statisztikailag analizáltuk. A szignifikancia szintet mindig az adott X^2 értékhez számoltuk az általunk külön e célra kidolgozott eljárással. A génfrekvencia számításokat az ismert módon végeztük el.

Az adatok számítógépes feldolgozását a Kossuth Lajos Tudomány-

egyetem (Debrecen) Számoló Központjának ODRA 1204 typusú computerén végeztük el.

A programot ALGOL-60 nemzetközi algoritmikus nyelven írtuk. A szignifikáns korrelációkat a computer által kiírt kontingencia táblázatok adataival minden esetben ellenőriztük, és csak a biológiailag értelmezhető adatokat jeleztük a „háromszög" feldolgozásában *(1, 2. ábra)*.

Eredmények:

Az immunreaktivitás összefüggése a HL-A, és vércsoport-antigének genetikai rendszerével

Az $Rh_0(D)$ pozitív vörösvérsejtekkel, továbbá a Staphylo és Pertussis bakteriális antigénekkel immunizált egyénekben az „alacsony" és „magas" ellenanyagtermelés készsége egyetlen HL-A antigén jelenlétével, vagy hiányával sem függött egyértelműen össze. Az immunizált egyének egyéb immunológia paraméterei sem mutattak egyértelmű összefüggést valamely HL-A antigénnel. Mozaikszerűen egyes korrelációk ugyan kifejezésre jutnak, ezek közül azonban csak az alábbiak jellemzőek *(1. ábra)*.

A HL-A 3 és 7 alloantigének negatív correlációban állanak a „spontán" lymphocytotoxicus aktivitással. Ennek értelmében ezen HL-A antigének jelenlétében a lymphocyták nem, vagy csak igen kismértékű lymphocytotoxicus aktivitást gyakoroltak a xenogen target sejtekre és fordítva, ezen antigének hiányában a nevezett lymphocyta aktivitás igen kifejezett volt. Egy másik jellemző összefüggés szerint a HL-A 10 antigén, és a közepes mértékű PHA lymphocyta stimuláció járnak együtt. A HL-A 2 antigén szintén kapcsolatot mutat egy-két közepes erősségű immunológiai paraméterrel (Flexner 2, Coli O 111 antitest titer, Complement 1 szint). Az ábrán látható többi korreláció a relatív kevés esetszám miatt (alacsony antigénfrekvencia) a statisztikai véletlen közrejátszása is lehet.

Teljesen váratlan adatként találtuk azt, az igen jellemző összefüggést, hogy egyes Rh antigének jelenléte (C, D, E) különböző baktériális antigénekkel szembeni természetes ellenanyagtermelés magas, vagy közepes, és ezen antigének hiánya pedig alacsony titerértékeivel járt együtt. Ezen Rh antigének pozitív korrelációt mutatnak továbbá a magas PHA dózisra maximalis reakciókészséget mutató, „hyporeaktív" lymphocyta populációval. Ugyanakkor negatív korreláció ismerhető fel a D, C antigének, és a spontán lymphocytotoxicus aktivitás között. Mindezen adatok arra utalnak, hogy talán a D és C pozitív egyének magasabb titerű baktériális antitest szintézissel, és PHA hyposensitív lymphocyta populációval rendelkeznek, mely kevéssé képes a spontán lymphocytotoxicus aktivitást kifejteni. Ugyanez az $Rh_0(D)$ negatív egyéneknél ellenkező értelemben nyilvánult meg.

Egyéb, az OAB és az MN vércsoport rendszerhez tartozó vörösvértest

antigének, és a különböző immunológiai adatok között jellemzőnek mondható összefüggést nem találtunk.

Nem meglepő, de mégis feltűnő erős korrelációk mutatkoztak nemhez kötötten *(1. ábra)*. Ezen korrelációk többsége megegyezett a *D* és C -vel a fentiekben leírt összefüggésekkel, melyeknek értelmében a férfiaknál — általában — alacsony természetes ellenanyag titerek és immunoglobulin szintek fordultak elő és nem lehetett kimutatni a PHA hyposensitív lymphocyta populációt.

Az életkor vizsgálatánál közepes korrelációt észleltünk több természetes ellenanyagszint magasabb titere, és a 45 év feletti kor között *(1. ábra)*.

A különböző immunológiai adatok egymással fennálló összefüggései

A *2. ábrán* az egyes immunológiai vizsgálatok adatainak egymással való összefüggése látszik, melyek közül az alábbiak jelentősek.

A computer analízis legerősebb, és legegyértelműbb összefüggése az Rh_0(D) pozitív vörösvérsejtekkel immunizált Rh_0(D) negatív egyének anti-Rh_0(D) immunválasza, és az egyes természetes ellenanyagszintek között mutatkozott. A D-pozitív vörösvérsejtekkel szemben magas anti-D titerrel válaszoló egyének egyes antibakteriális ellenanyagtiterei igen alacsony értéket képviseltek. A nem reagáló egyéneknél ezzel szemben, egyes esetekben, magas titerű antibakteriális ellenanyagtermelést lehetett találni. Az anti-Pertussis és anti-Staphylococcus alacsony és magas immunválaszkészség hasonló korrelációt nem mutatott.

Az isohaemagglutinin titerek közül csak az anti-B-szint mutatott egyes antibakteriális antitesttermeléssel korrelációt, mely általában a közepes titerű anti-B-szint, és az alacsony antibaktériális titerek között jutott érvényre.

A természetes ellenanyagszintek igen szoros, és számos erősen szignifikáns összefüggésben állottak egymással. Mind a pozitív, mind a negatív korrelációk azt jelezték, hogy a szóbanforgó baktériumokkal szemben termelődő antitestek egy-egy csoportjának tagjai egyöntetűen alacsony, közepes, vagy magas titerértékekben mutatkoznak. Az egyöntetűség megfigyelhető volt a TyO, TyVi, Paratyphus, Sonnei, Pyocyaneus, Coli 086 továbbá a Flexner 1, 2, 3, 6, Pyocyaneus, Coli 055 antitest titerek között. Egyes antitest szintek viszont sem egymással, sem másokkal nem álltak kapcsolatban: Staphylococcus, Coli 026, 0111. Figyelemre méltó azonban, hogy a Coli antitestek csoportjában az egyes antitestek szintje között nincs összefüggés.

A humorális immunválasz további, általunk vizsgált paraméterei közül csak az IgA és complement szintek látszottak kapcsolatban állani egymással.

A lymphocyta működés megítélésére alkalmas módszerek kategorizált értékei nem korreláltak az immunizálásra bekövetkező alacsony, vagy magas imimmunválasszal. A magas PHA dózisokra maximalis stimulációval válaszoló

lymphocyta populáció azonban egyértelműen negatív korrelációban állt a természetes ellenanyagok alacsony titerértékeivel. A PHA hyposensitív lymphocytaműködés tehát úgy látszik közepes és magas természetes ellenanyagszintézissel jár együtt. Ennek a jellemző összefüggésnek csak a Paratyphus Vi, és a Typhus O ellenanyagszintek mondanak ellent, ahol a negatív korreláció éppen a magas titerértékekkel kapcsolatban mutatkozott, továbbá a Staphylococcus titer, ahol ugyanez a közepes titerekkel állt fenn.

A többi vizsgált immunológiai paraméter közül az IgA magas és közepes értékei mutattak még összefüggést az alacsony, és közepes lymphocyta funkcióval PHA stimulációkor.

Végül érdemes rámutatni arra is, hogy az immunológiailag egészséges felnőttek vizsgálata során meglehetősen nagy számban fordultak elő igen szélsőséges értékek, továbbá, hogy az ún. normál, vagy közepes értékeket képviselő immunológiai vizsgálati eredmények — a természetes ellenanyagok egyes csoportjai kivételével — egy esetben sem korreláltak egymással.

Megbeszélés:

133 egészséges egyén immunizálással, vagy a természetes fertőzöttség következtében indukálódott különböző baktériális antigénekkel szembeni gyenge és erős immunválasza, valamint az alacsony és a magas kategóriákba sorolt különböző immunológiai adatai egyöntetű, jellemző összefüggést sem egy, sem több HL-A antigénnel nem mutattak. Az egyébként mozaikszerűen előforduló negatív és pozitív korrelációk közül egyedül a HL-A 3 és 7, a HL-A 2, valamint HL-A 10 antigének és egyes lymphocyta funkciók és antitest szintek kapcsolata emelhető ki. A HL-A 3 és 7, valamint a spontán lymphocytotoxicus aktivitás negatív összefüggése látszik a legerősebbnek, mely adat esetleg egy HL-A locushoz kapcsolt Ir-gén működésére utalhat.

Feltűnő, hogy az eddig végzett vizsgálatok alapján az immunreaktivitással látszólag kapcsolatban álló antigének HL-A2, 5, 12, (1,8 haplotypus) jelentősége vizsgálatainkkal nem nyert megerősítést. A legtöbb idevonatkozó adat természetesen főleg indirekt bizonyítékokon nyugszik, hiszen általában egyes kóros immunparaméterekkel együtt járó betegségek összefüggését mutatták ki az egyes HL-A antigénekkel (Conkell és mtsai, 1971, Sybesma és mtsai, 1972, Thorsby és mtsai, 1972, vanRood és vanLeuwen, 1971). Bár a legutóbbi időkben egyes betegségekben a kóros immunfunkciók és az egyes HL-A antigének között is kimutattak közvetlen összefüggéseket (*Sybesma*, 1972).

A HL-A antigének és az immunreaktivitás szegényes kapcsolata adatainkban természetesen a relatív kevés esetszám eredménye is lehet, mivel a korrelációk sok esetben nem érhették el a szignifikancia szintet ($P = 0{,}05$). Hasonló jellegű statisztikai vizsgálatok a heterogén emberi populáción igen nagyszámú esetet követelnek meg, s így lehet, hogy a kérdés megválaszolására

anyagunk nem is volt elegendő. Továbbá elképzelhető, hogy csak család vizsgálatok alapján lehet a kérdést jobban megközelíteni, ahogy azt *Buckley* és mtsai tették (1973). Számolni kell azonban azzal is, hogy az immunreaktivitás genetikai háttere olyan komplex és polymorph, hogy az a mai vizsgáló módszereinkkel, emberi anyagon nem közelíthető meg. Erre utalnak az előbbiekben említett családvizsgálatok is, melyek szerint az egyes immunparaméterek családon belüli szegregációját a legkülönbözőbb HL-A antigénekhez kötöttnek találták (*Buckley* és mtsai, 1973). A polymorphismus egyik indirekt bizonyítéka lehet az is, hogy az immunológiailag normálnak ítélt vizsgálati anyagunkban a legváltozatosabb negatív és pozitív előjelű immunreakciókat lehetett megfigyelni, Továbbá az immunizálások során is megfigyelték, hogy egy antigénnel szembeni rossz ellenanyagtermeléssel reagáló egyén, más antigénekkel szemben a legváltozatosabb szintű, igen magas antitest-termeléssel is képes válaszolni (*Dombi* és *Tóth*, személyes közlés). Egyes immunológiai adatokból a klinikumban tehát nem lehet más immun adatokra, vagy az általános immunstatusra következtetni.

Az immunreaktivitás genetikai háttere nemcsak a HL-A supergén rendszerhez, hanem az egyes állatfajokban megfigyelthez hasonlóan más autósomalis, illetve nemhez kötött genetikus rendszerekkel is kapcsolatban állhat (*Williams* és *Benacerraf*, 1972). Emberben ezideig az IgM szintézis esetében bizonyították csak annak az X-kromoszómával fennálló genetikai kapcsolatát (*Grundbacher*, 1972). Jelen vizsgálatainkban az immunológiai adatok zöme magas értéket mutat nőknél, a férfiaknál viszont alacsonyat. Ez az állatkísérletes adatokból jól ismert sexualis dimophismus nemcsak az X-kromoszómához kötött Ir gén, hanem hormonális, és egyéb konstitucionális különbségeket is meghatározó gének közvetlen, vagy közvetett hatásának is lehet a következménye (*Eidinger* és *Garret*, 1972., *Iványi* és mtsai, 1972).

Vizsgálataink során a legérdekesebbnek mutatkozott bizonyos baktériális antigénekkel szembeni antitest szintézis, és az egyes lymphocyta funkciós adatok D és C Rh vércsoport antigénekkel megmutatkozó összefüggése. Az eredmények szerint a D és C pozitív egyének közepes és magas titerű baktériális ellenanyagtermelésre képesek, valamint az ún. PHA hyposensitív lymphocyta funkcióval rendelkeznek, ugyanakkor a D és C negatív egyéneknél ennek ellenkezőjével állunk szemben azzal a különbséggel, hogy ez esetben PHA hyposensitív lymphocyta spontán cytotoxicus aktivitása kifejezett. Ez az igen érdekes összefüggés a nemi arány eltolódásából is adódhat, hiszen az Rh immunizáltak csoportja csak férfiakból állt. Így elképzelhető lenne, hogy a D és C antigének jelenlétével kapcsolatos összefüggés végeredményben a hyporeaktív férfiak túlsúlya következtében juthatott kifejezésre. A kérdés további tisztázására computerrel újabb analízist végeztünk, melynek alapján a nemi különbségektől, és az Rh antigénektől függő összefüggéseket jobban szétválasztva tudtuk vizsgálni. További analíziseket végeztünk teljesen hasonló

elvek szerint 100 főből álló kontroll csoporton is.* Ezen kiegészítő vizsgálatok eredménye a fentiekben vázolt összefüggést az Rh rendszer és az immunreaktivi vitási készség között, megerősítette. Elképzelhető az is, hogy a sexuális dimorphismusnak tulajdonítható immunreaktivitási készség különbségei superponálódnak az Rh rendszerhez kapcsolódó és az immun reakciós készséggel összefüggő génhatásokhoz. Talán ezzel lehet összefüggésben az, hogy az $Rh_0(D)$ pozitív vörösvérsejtekkel immunizált Rh negatív egyének 30%-a nem képes az anti-D immunválaszra.

E kérdéshez kapcsolódóan mutatkozott meg a matematikai analízisek szerint az a legerősebb korreláció, hogy az anti-D válasz és az egyes bakteriális antitest-titerek egymáshoz viszonyítva ellentétesen viselkedtek, szinte egymást kizáróan. Ennek az összefüggésnek magyarázatára jelenlegi adataink alapján csak teljesen theoretikus alapokon lehetne vállalkozni, igen sokféle hatás képezheti e megfigyelések alapját (kereszt-reaktivitás, tolerancia, antigén kompeticio, génhatások stb.).

Az emberi immunreaktivitás gén, vagy gének HL-A és Rh rendszerrel való genetikai kapcsolata jelen munkánk alapján még csak felvethető, illetve feltételezhető, melynek megerősítése még nagyon sok és körültekintő, széles alapokon végzett vizsgálatot igényel.

A közlemény a „HL-A és immunreaktivitás" workshop (műhelymunka) kutatási eredményeit összefoglaló beszámoló. A „workshop" az MTA és a CSTA egyezményes és közös kutatási témájának keretében az Országos Haematológiai és Vértranszfúziós Intézet (Budapest) és az Institute of Experimental Biology and Genetics (Prága) közös rendezésében került megszervezésre az „Intertransplant" együttműködés programjaként 1972 októberében.

Munkatársak:

Alföldi P.
Benczur M.
Dávid J.
Dombi E.
Do Trung Phan
Dujic A.
Friss A.
Füst G.
Gárdos Gy.
Gergely J.
Gyódi E.
Hors J.
Horváth E.
Imre G.
Kerhin Y.
Kisbán G.
Lajos J.
Matej H.
Menzel G.
Minev M.
Mickova M.
Nyulassy S.
Ónody K.
Puskás É.
Rochlitz Sz.
Stenszky V.
Surján M.
Tóth T.
Varga M.
Vecsey Z.
Veres J.
Zareckaja L.

* Az adatokat Veres Judit bocsátotta rendelkezésre.

Köszönetnyilvánítás

Ezúton köszönjük meg a „workshop"-on kifejtett áldozatos és igen magas szintű szakmai tevékenységüket: Baráth Istvánné, Bojárszky Katalin, Jovanovich Nóra, Oláh Éva, Rausch Katalin, Szentgyörgyi Tamás és Trummer Gabriella munkatársaknak.

IRODALOM

Amsbaugh, F. D., Hauser, T. C., Prescott, B., Stashak, P. W., Barthold, D. R., és *Baker, P. J.:* J. exp. Med., **136,** 931. (1972).
Backhausz R., Lajos J., és *Meretey K.:* Immunol. Hung., **10,** 143, (1967).
Benacerraf, B., Green, J., Bluestein, H. G., és *Ellman, L.:* Transpl. Proc. **3,** 1327. (1971).
Benacerraf, B., és *McDevitt, H. O.:* Science, 175, 273. (1971).
Bier, O. G., Leiton, G., Mayer, M., és *Heidelberg, M.:* J. exp. Med, **81,** 449. (1945).
Biozzi, G., Stiffel, C., Morton, D., és *Bouthillier, Y., Decreusefond, C.:* Transpl. Proc. **3,** 1333. (1971).
Biozzi, G., Stiffel, C., Morton, D., Bouthillier, Y., és *Decreusefond, C.:* J. exp. Med, **135,** 1071. (1972).
Bluestein, H. G., Ellman, L., Green, I., és *Benacerraf, B.:* J. exp. Med, **134,** 1529. (1971).
Bluestein, H. G., Green, I., és *Benacerraf, B.:* J. exp. Med, **134,** 1538. (1971).
Brain, P.: Transplantation, **13,** 530, (1972).
Buckley, C. E., Ralph, W. B., Conley, R. B., Dorsey, F. C. és *Woodbury, M. A.:* Transpl. Proc. in press. (1973).
Conkell, A., Bodmer, J. G., és *Bodmer W. F.:* Transpl. Proc. **3,** 1291. (1971).
DelGuericio, P., és *Zola, H.:* Immunochemistry, **9,** 796. (1972)
Eidinger, D., és *Garret, T. J.:* J. exp. Med, 136, 1098. (1972).
Falk, R. E., és *Zabriskii, J. B.:* In: Bloom, B. R., Glade, Ph. R.: In vitro methods in cell mediated immunity. Academic Press, N. Y. (1971).
Fuji, H., Zaleski, M. és *Milgrom, H.:* J. Immunol., **108,** 223 (1972).
Grundbacher, F. J.: Science, **176,** 311, (1972).
Günther, E., Rüde, E. és *Stark, O.:* Eur. J. Immunol. **2,** 152, (1972).
Hegedüs, A. és *Greiner, H.:* Z. Immun. forsch. **92,** 1, (1938).
Iványi, P., Hampl, R., Starka, L. és *Mickova, M.:* Nature N. B., **238,** (1972).
Jeannet, M. és *Maguin, C.:* Transpl. Proc., **3,** 1301, (1971).
Katz, I. S., Falchrek, M. Z., Dahl, M. V., Rogentine, N. G. és *Strober, W.:* J. clin. Invest. **51,** 2977, (1972).
Lieberman, R., Stiffel, C., Asofsky, D., Mouton, D., Biozzi, G. és *Benacerraf, B.:* J. exp. Med., **136,** 290, (1972).
Lieberman, R., Paul, W. E., Humphrey, W. és *Stimpfling, J. H.:* J. exp. Med., **136,** 1231, (1972).
Liocopoulos-Briot, Y., Bouthiller, D., Mouton, F., Lambert, C., Decreseufoud, H., Stiffel, C. és *Biozzi, G.:* Transplantation, **14,** 590, (1972).
Lilly, F.: Transpl. Proc., **3,** 1239, (1971).
Mancini, G., Carbona, A. O. és *Heremans, J. F.:* Immunochemistry, **2,** 235, (1965).
Margkescu, S.: Klin. Wochschr., **46,** 991, (1968).
McDevitt, O. H.: Transpl. Proc., **3,** 1321, (1971).
McDevitt, H. O., Deák, B. D., Shreffler, D. C., Klein, J., Stimpfling, J. H. és *Snell, G. D.:* J. exp. Med., **135,** 1259, (1972).
Menard, S., Pierotti, M. és *Colnaghi, M. L.:* Transplantation, **14,** 135, (1972).
Merryman, C. F. és *Maurer, P. H.:* J. Immunol, **108,** 135 (1972).
Merryman, C. F., Maurer, P. H. és *Bailey, D. W.:* J. Immunol, **108,** 937 (1972).
Morris, P. J. és *Forbes, J. F.:* Transplant. **3,** 1315 (1972).
O'Loughlin, J. M.: Med. clin. North. Am., **56,** 747 (1972).
Pirkskanen, R., Tiilikainen, A. és *Hohhanen, E.:* Ann. clin. Res., **4,** 304 (1972).
Rihova-Skavova, B. és *Riha, I.:* Folia Biol., **17,** 66 (1972).
Rosenberg, S. A., Lany, R., Schechter, B., Ficker, S. és *Terry, W. D.:* Transplantation **14,** 541 (1972).

Schellekens, P. Th. és *Eijsvoogel, V. P.:* Clin. exp. Immunol, **3,** 571 (1968).
Schöngut, L., Füst, G. és *Surján, M.:* Acta Pediatr. Acad. Sci. Hung. **11,** 89 (1970).
Seignalet, J., Clot, J., Sany, J. és *Serra, H.:* Vox Sangu., **23,** 468 (1972).
Shearer, G. M., Mozes, E. és *Sela, M.:* J. exp. Med., **135,** 1009 (1972).
Stenszky, E., Szegedi, Gy., Aszódi, L. és *Petrányi Gy.:* Haematologia, megj. alatt
Stimpfling, J. H. és *Durham, T.:* J. Immunol. **108,** 947 (1972).
Sybesma, J. P.: Lancet, II. 884 (1972).
Sybesma, J. H., Borst-Eilers, E., Holtzer, D .J., Mocs, M., Pielage, E. és *de Planque, B. A.:* Vox Sanguis, **22,** 319 (1972).
Takátsy, Gy.: Acta Microbiol. Hung. **3,** 191 (1955).
Terasaki, P. I.: Mannuel of Tissue Typing Techniques, **4,** 52 (1972).
Thorsby, E. és *Lie, S. D.:* Transpl. Proc., **3,** 1305 (1971).
Thorsby, E., Falk, J., Engeseth, A. és *Osoba, D.:* Transpl. Proc., **3,** 1279 (1972).
vanRood, J. J. és *vanLaeuwen, D.:* Transpl. Proc., **3,** 1283 (1971).
Veres J. és *Lajos J.:* Szemészet, 109, 26 (1972).
Walford, L. R., Zeller, E., Coombs, L. és *Konrad, P.:* Transpl. Proc., **3,** 1297 (1971).
White, A. G., Barnetson, R. St., DeCosta, J. A. és *McClelland, D. B.:* Lancet I., 108 (1973).
Williams, M. és *Benacerraf, B.:* J. exp. Med. **135,** 1297 (1972).

Magyar Tudományos Akadémia Kísérleti Orvostudományi Kutató Intézet, Budapest

MELLÉKVESESEJT KÁLIUM ÉS NÁTRIUM TARTALOM KÍSÉRLETES HYPER- ÉS HYPOALDOSTERONIZMUSBAN. MEGHATÁROZÁS ELEKTRONSUGÁR-RÖNTGEN MIKROANALYSISSEL

SZ. SZALAY KATALIN, BÁCSY ERNŐ és STARK ERVIN az MTA levelező tagja

Közlésre érkezett: 1974 X. 31.

Bevezetés

Az utóbbi időkben néhány kutatócsoport feltételezte, hogy az aldosterontermelést szabályozó tényezők hatásának végső közös útja („final common pathway") a mellékvesekéreg zona glomerulosa sejtek kálium tartalmának változása (Cannon és mtsai, 1966; Baumber és mtsai, 1971; Davis, 1972; Boyd és mtsai, 1973). E feltételezésnek eddig sem bizonyítására, sem elvetésére nem volt lehetőség, mert nem volt megfelelő módszer az intracellularis kálium tartalom mérésére.

Újabban az elektronsugár röntgen mikroanalysist sikerrel alkalmazták mélyfagyasztott, liophylizált, puha biológiai minták oldható ionjainak meghatározására (Hodson és Marshall, 1970; Kriz és mtsai, 1971). Korábban ezt a módszert alkalmazva, qualitatív méréssel megállapítottuk, hogy a patkány mellékvese zona glomerulosa sejtek több káliumot tartalmaznak, mint a zona fasciculata sejtek (Bácsy és mtsai, 1973; Szalay és mtsai, 1973).

Jelen vizsgálatainkban arra a kérdésre kívántunk választ kapni, hogy milyen a zona glomerulosa sejtek kálium és nátrium tartalma akkor, amikor az aldosteron termelés magas és amikor alacsony. Kísérletes hyper-, ill. hypoaldosteronizmust Na hiányos, ill. Na dús diéta etetésével hoztunk létre. Azért, hogy több információt nyerjünk a változások specificitására vonatkozólag, meghatároztuk a zona fasciculata és velősejtek kálium és nátrium tartalmát is.

Módszerek

Patkányok és diéta

120—140 g hím CFY patkányok félszintetikus diétát és desztillált vizet kaptak 6 hétig. Az állatokat 24 $\pm$ 1 C°-on, 55—75% páratartalmú szobában tartottuk. A diétát kis módosítással Manitius és mtsai (1960) szerint állítottuk össze. A diéta K és Na tartalma a következő volt: kontroll diéta: Na: 115-, K: 128 mEq/kg. Na hiányos diéta: Na: 13-, K: 148 mEq/kg; Na dús diéta: Na: 327-, K: 137 mEq/kg.

A patkányokat enyhe éter narkózisban, heparinozott aorta kanülön át elvéreztettük, a mellékvesét kivettük, megtisztítottuk. A mellékvesék egy részét incubáltuk, más részét kryostat tőkére fagyasztottuk cseppfolyós nitrogénnel hűtött izopentánnal és feldolgozásig szárazjégen tartottuk.

A plasma K és Na tartalmát lángfotometriásan mértük.

Incubálás és corticosteroid meghatározás

4 mellékvesét incubáltunk egy csőben 120 percig, 37 °C-on, 5 ml 200 mg% glukózt tartalmazó Krebs–Ringer bicarbonát pufferben, 95% O_2 + 5% CO_2 atmoszférában. Az incubátum aldosteron és corticosteron tartalmát kloroformos extrakció és papírkromatográfiás elválasztás után tetrazóliumkék reakció alapján határoztuk meg (részletes leírás: l. Szalay, 1971).

A plasma corticosteron tartalmát spektrofluorimetriás módszerrel mértük (Guillemin és mtsai, 1959).

Mellékvesék előkészítése elektronsugár-röntgen mikroanalysishez

A mellékvesékből kryostatban (−20 °C-on) 10 μ-os metszeteket készítettünk, majd −30 °C-on liophylizáltuk. Kvarc tárgylemezeket kb. 100 Å vastag C réteggel begőzöltünk. A mellékvese metszeteket 30 percig 0 °C-on tartott petroléterben zsírtalanítottuk, majd a kvarclemezre terítettük. A petroéter elpárolgása után a metszet a kvarclemezhez simult. A kvarclemezeket újabb C réteggel gőzöltük.

Zselatin standard készítése

A zselatin standardokat Lehrer és Berkley (1972) leírása alapján készítettük el. Dialyzált, 25%-os, 50 °C-os zselatin oldatba különböző mennyiségű KCl-t és NaCl-t mértünk be, majd zselatin kapszulába öntöttük, s azonnal lefagyasztottuk cseppfolyós nitrogénnel hűtött izopentánnal és a továbbiakban ugyanúgy kezeltük, mint a mellékveséket. A standardokat a kvarclemezre egy-egy csepp DPX-szel rögzítettük (miután előzetes mérésekkel megállapítottuk hogy a meghatározást nem zavarja).

A standardok K és Na koncentrációját lángfotometriásan meghatároztuk: K: 58, 108, 160 és 209 mEq/l, Na: 19, 32, 45 és 56 mEq/l.

Kísérleti elrendezés

Összesen 11 kvarclemezre vittünk fel mellékveséket. 6 lemezre mindhárom kísérleti csoportból egy-egy patkány 2 párhuzamos mellékvese metszetét, 3 lemezre egy-egy Na hiányos és kontroll állat, további 3 lemezre pedig egy-egy Na terhelt és kontroll állat 2–2 párhuzamos mellékvese metszetét vittük fel. E kísérleti elrendezés oka az volt, hogy a kísérlet kezdetén technikai okok miatt nem tudtunk egy kvarclemezre három különböző csoportból származó mellékvesét felvinni. E cikkben a csoportok közötti összehasonlításhoz

(2. táblázat) annak a 6 kvarclemeznek adatait használtuk fel, amelyekre mindhárom kísérleti csoportból vittünk fel mellékveséket. Az egy mellékvesén belüli, egyes zónák közötti összehasonlításhoz minden kvarclemez kontroll értékeit felhasználtuk, ezért a két táblázatban a kontroll csoport mellékvesesejtek K és Na koncentrációja nem azonos.

Minden lemezre 4 különböző K és Na koncentrációjú zselatin standard 2 párhuzamos metszetét vittük fel, miután előzetes mérések alapján megállapítottuk, hogy a standardok egyeneseinek (koncentráció — beütésszám) meredeksége lemezenként változik.

Mérés

JXA-5 típusú elektron mikroszondával regisztráltuk a kálium és nátrium K_α sugárzást, PET és KAP kristályokkal. A vizsgálatokat 15 kV gyorsítófeszültséggel, $1{,}6-2{,}1 \times 10^{-7}$ A áramerősséggel végeztük. Minden standard metszet 20 sec alatti beütésszámát a metszet 5 különböző pontján meghatároztuk 50 μ átmérőjű elektronsugárral. A mellékvesén történt mérések fókuszált (kb 1 μ átmérőjű) elektronnyalábbal készültek. A mikroszonda felülvilágításos mikroszkópján megkerestük a zona glomerulosa és zona fasciculata határát és beállítottuk az elektronszondát úgy, hogy a zona fasciculata külső harmadától a zona glomerulosán át a felszín felé haladjon, arra merőlegesen. A mellékvesekéreg kálium és nátrium K_α sugárzásának regisztrálása után a szondát beállítottuk egy velő sejtcsoportra és mintegy 50 μ hosszúságban regisztráltuk a velősejtek kálium és nátrium K_α sugárzását is. Minden lemezen — miután a metszeteken a szonda végighaladt — a szondát visszaállítottuk a regisztrátum három különböző magasságú pontjára és meghatároztuk a beütésszámot.

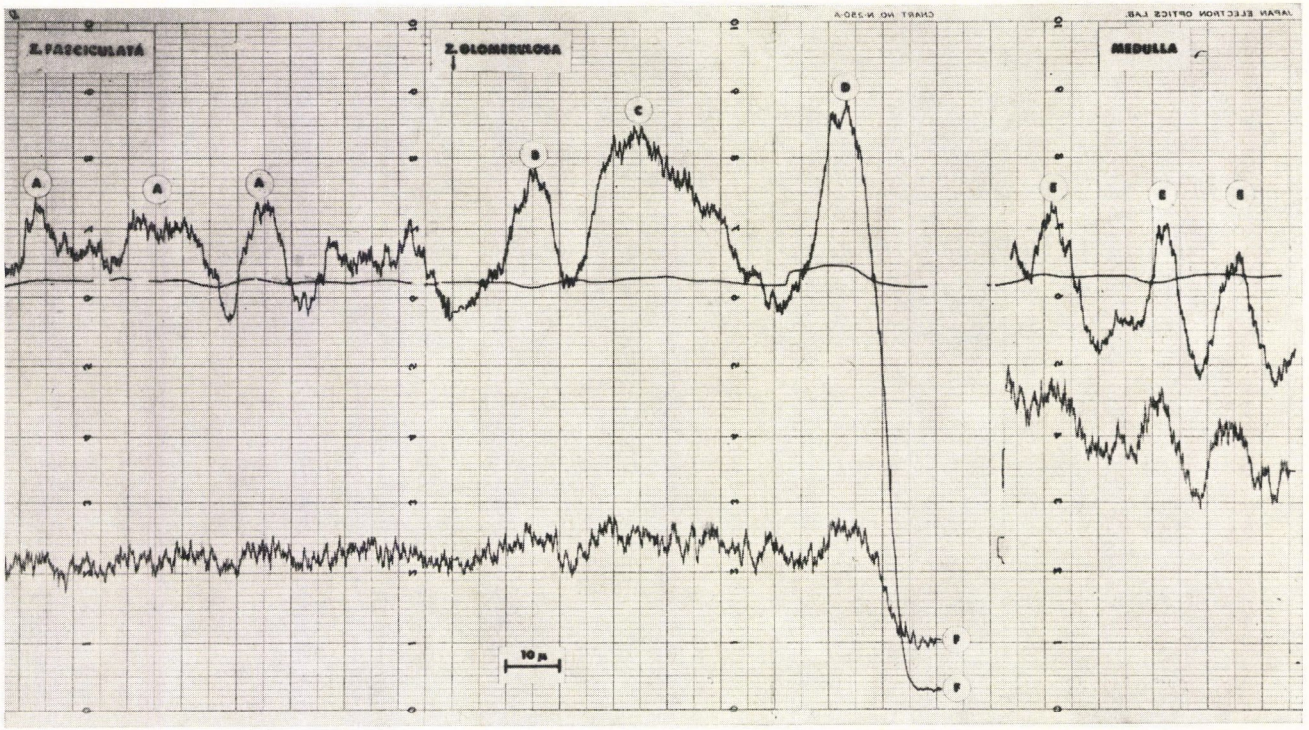
A mérések után a metszetekből egyidejű áteső és ráeső fénnyel sötétlátóteres megvilágítással, majd hidrálás és festés (Csemniczky és Cziegler, 1962) után közönséges megvilágítással fénymikroszkópos felvételeket készítettünk.

A regisztrátumok értékelése

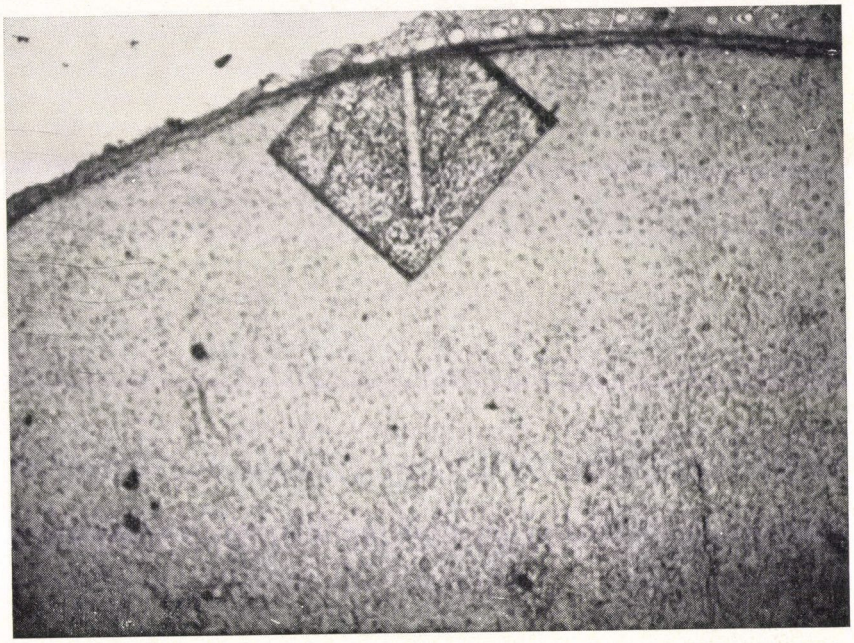
A regisztrátumokon (1. ábra) először megállapítottuk a zona glomerulosa és zona fasciculata határát a mikroszkópos felvételek alapján (2. és 3. ábra). Sok esetben már akkor megjelöltük a regisztrátumokon a határt, amikor az elektronszonda rajta áthaladt. Ezután lemértük a görbék maximumainak magasságát. A görbék ismétlődő maximum pontjait tekintettük egy-egy egyenletes, a metszet vastagságot kitöltő cytoplasma terület K, ill. Na szintjének. A továbbiakban az ezekből a pontokból számított értékeket tekintjük a sejt K, ill. Na koncentrációjának. A koncentrációt mEq/l egységben fejezzük ki.

A sejtek K ill. Na koncentrációját a görbe maximumok alapján a következőképpen számoltuk:

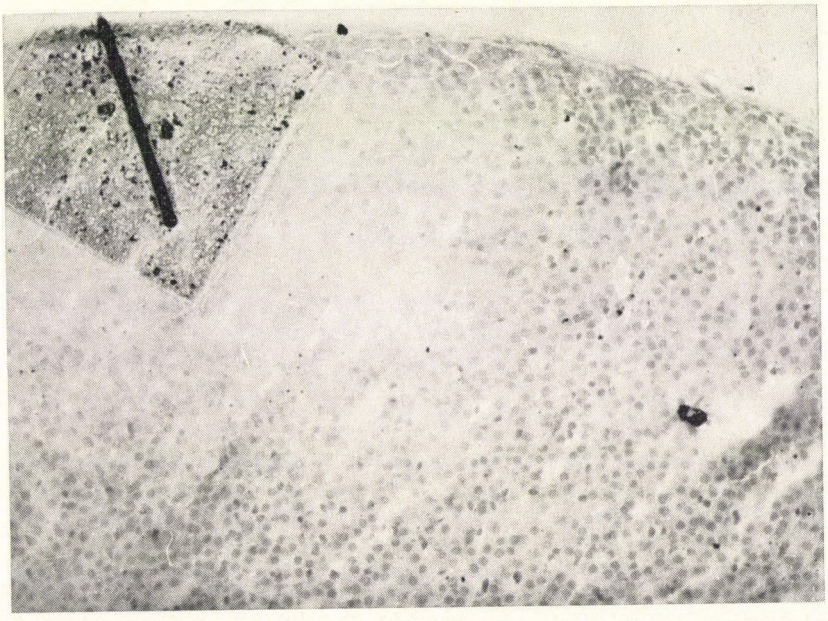
Minden lemezre kiszámítottuk a magasság—beütésszám regressziós egye-



1. ábra: Mellékvesesejtek kálium Kα (felül) és nátrium Kα (alul) sugárzásának regisztrátuma. Középső görbe: mintaáram. A: zona fasciculata sejtek, B: zona glomerulosa sejt, C: „különleges zona glomerulosa sejt", D: a metszet széle, E: velősejtek F: 0 pontok. Beütésszám/20 sec C pontban: 1760



2. ábra: Elektronsugár által letapogatott terület a mellékvesekéregben. Sötétlátóteres megvilágítás egyidejű ráeső és áteső fénnyel. 300x.



3. ábra: Elektronsugár által letapogatott terület a mellékvesekéregben. Csemniczky—Cziegler-féle gyorsfestés. 300 x.

nesét és ennek alapján megállapítottuk a görbecsúcsok magasságának megfelelő beütésszámot. Lemezenként kiszámítottuk a standardok koncentráció-beütésszám regressziós egyenesét, amelynek alapján a görbecsúcsokra jellemző (magasságból számolt) beütésszámot K, ill. Na koncentrációra átszámítottuk. A zona fasciculata görbecsúcsai megközelítően azonos értéket mutatnak egy metszeten belül, a zona glomerulosában azonban sok mellékvesében találtunk egy-egy erősen kiugró csúcsot a K K_α regisztrátumon. Ezeknek, a többi zona glomerulosa sejtnél magasabb K tartalmú sejteknek a K és Na koncentrációját külön is kiszámoltuk, de a közölt táblázatokban a többi zona glomerulosa sejttel összevont értékeket adjuk meg, mert nem minden mellékvesében haladt át a szonda ilyen képleteken, s így nem tudtuk ezeket a magasabb értékeket külön összehasonlítani. Meg kell jegyeznünk, hogy a zona glomerulosa sejtek magasabb K tartalmát nemcsak ezek a kiugróan magas K értékek okozzák, a többi zona glomerulosa sejt K és Na tartalma is magasabb, mint a zona fasciculata sejteké. Egy-egy mellékvesében átlagosan 2 zona glomerulosa, 4 zona fasciculata és 2 velősejt K, ill. Na koncentrációját határoztuk meg, ezeknek átlaga adott egy-egy blokknak megfelelő értéket. Az elemszám tehát a táblázatban feltüntetett blokkok számának 2—3-szorosa.

Statisztikai analysis

A kísérletet randomizált blokk elrendezésben végeztük. A Na hiányos, ill. Na dús diéta hatását vizsgálva a lemezeket, a mellékvesék különböző rétegeit hasonlítva pedig az egyes mellékveséket tekintettük egy blokknak. Az értékelés variancia analysis után a kérdésfeltevéstől függően Scheffé-(1959), ill. Dunnet-(1955) kontrasztokkal történt. A Scheffé-kontrasztoknál a $p = 0{,}1$ valószínűségi szintet tekintettük a szignifikancia határának. Egy esetben (2. tábl., középső rovat) ennél alig nagyobb értéket is különbözőnek ítéltünk figyelembe véve az összes adatokat.

Eredmények

Az aldosteron termelés a Na hiányos állatokban nőtt (1. tábl.), a Na terheltekben csökkent. A plasma corticosteron szintben és az in vitro corticosteron termelésben nem volt különbség a csoportok között. *A plasma Na szint* a Na hiányos csoportban csökkent, a Na terheltben nem változott. A mellékvesesúlyokban sem volt különbség a kísérleti és kontroll csoportok között.

A zona glomerulosa-, zona fasciculata- és velősejtek *K tartalmában* nem volt különbség a Na hiányos, Na dús és normál Na tartalmú diétán tartott patkányok között (2. tábl.).

A zona glomerulosa és zona fasciculata sejtek *Na tartalma* magasabb volt a Na dús diétán tartott csoportban, a velősejteké nem változott.

1. táblázat

In vitro aldosteron és corticosteron, plasma corticosteron és plasma elektrolyt Na hiányos és Na dús diétán tartott patkányokban

	Kontroll (1)	Na hiány (2)	Na többlet (3)	1–2	1–3
Aldosteron μg/100 mg mellékvese/2h	3,6±0,18° n = 8	6,2±0,3 n = 6	2,5±0,26 n = 8	$p < 0,01$	$p < 0,05$
Corticosteron μg/100 mg mellékvese/2h	6,5±0,57 n = 8	6,4±0,28 n = 6	8,1±0,7 n = 8		
Plasma corticosteron μg/100 ml	15,5±2,1	21,6±3,3	21,1±2,7		
Plasma Na mEq/l	151,9±0,89 n = 14	145,6±1,01 n = 14	149,1±0,98 n = 14	$p < 0,01$	
Plasma K mEq/l	4,4±0,15 n = 14	4,9±0,21 n = 14	4,7±0,14 n = 14		

° átlag ± S. E.

A zona glomerulosa és zona fasciculata sejtek *K/Na aránya* a Na etetett állatokban csökkent.

Egy mellékvesén belül is összehasonlítottuk a zona glomerulosa-, zona fasciculata- és velősejtek K és Na tartalmát. Az eredményeket a 3. táblázat mutatja. (A táblázatban csak a kontroll csoport adatait tüntettük fel.)

A zona glomerulosa sejtek K tartalma magasabb, mint a zona fasciculata sejteké és mint a velősejteké. A zona glomerulosa és a velősejtek Na tartalma magasabb, mint a zona fasciculata sejteké. A glomerulosa sejtek és a fasciculata sejtek K/Na aránya magasabb, mint a velősejteké.

„Különleges zona glomerulosa sejtek"

Így neveztük el azokat a zona glomerulosa sejteket, amelyek kitűntek a többi zona glomerulosa sejtnél magasabb K-tartalmukkal, ezeknek jellemzőit külön is kiszámoltuk. Miután a sejteket magasabb K tartalmuk alapján választottuk ki a regisztrátumon, szignifikanciát csak a Na tartalmukra vonatkozóan számolhattunk: ez is magasabb, mint a többi glomerulosa sejt Na tartalma, a K/Na arányban nincs különbség (4. tábl.).

A vizsgált mellékvesékben 1 vagy 2 „különleges sejten" haladt át a szonda.

Pontosság

Egy lemezen ugyanazon mellékveséből származó két metszetet lemérve a variációs koefficiens: K-ra: 8—12%, Na-ra: 8—14%. Két vagy három lemezen ugyanazon mellékveséből származó metszetek variációs koefficiense K-ra: 12—16%, Na-ra: 17—25%.

2. táblázat

Sejtek K és Na tartalma (mEq/l): csoportok közötti összehasonlítás

		Kontroll (1)	Na hiány (2)	Na többlet (3)	n	s	SEM	szignifikancia 1–3
Glomerulosa sejt	K	196,44	196,89	210,19	5	21,44	9,59	NS
	Na	54,68	61,84	86,45	5	20,07	8,97	$0{,}05 < p < 0{,}1$
	K/Na	4,23	3,73	3,08	5	0,91	0,41	$p < 0{,}01$
Fasciculata sejt	K	184,90	166,55	190,94	5	30,43	13,61	NS
	Na	40,20	43,57	70,56	5	20,20	9,03	$p < 0{,}1$*
	K/Na	5,49	4,73	3,89	5	1,17	0,52	$p < 0{,}01$
Velősejt	K	177,10	181,64	187,00	4	19,03	8,51	NS
	Na	69,68	66,29	70,45	4	13,59	6,08	NS
	K/Na	2,57	2,72	2,72	4	0,45	0,20	NS

n: blokkok száma
s: hibavariancia
SEM: az átlag standard hibája
x: különböző

3. táblázat

Sejtek K és Na tartalma (mEq/l): zónák közötti összehasonlítás (kontroll csoport adatai)

	Glom. sejt (G)	Fasc. sejt (F)	Velősejt (V)	n	s	SEM	G–F	G–V	F–V
K	261,17	231,23	217,14	15	21,95	5,67	$p < 0{,}01$	$p < 0{,}01$	NS
Na	84,18	66,15	88,15	14	15,74	4,21	$p < 0{,}05$	NS	$p < 0{,}01$
K/Na	3,37	3,92	2,52	14	0,81	0,22	NS	$p < 0{,}05$	$p < 0{,}01$

n: blokkok száma
s: hibavariancia
SEM: az átlag standard hibája

4. táblázat

Két típusú zona glomerulosa sejt K és Na tartalma (mEq/l). Kontroll csoport adatai (n = 10)

Zona glomerulosa sejt			„Különleges zona glomerulosa sejt"		
K	Na	K/Na	K	Na	K/Na
240,24±16,78°	76,54±9,7*	3,54±0,43	283,21±19,45	87,54±11,27*	3,40±0,42

° átlag ± S. E.
* $p < 0,05$

Megbeszélés

Annak a kérdésnek a megközelítésére, hogy mi a szerepe az intracellularis káliumnak az aldosteron elválasztás szabályozásában, izoláltan a zona glomerulosa sejtek K tartalmát kell mérni. Azok a szerzők, akik eddig ezt a kérdést vizsgálták, az egész mellékvesekéreg K tartalmát határozták meg lángfotometriás módszerrel (Yankopoulos és mtsai, 1960; Binnion és mtsai, 1965; Cushman, 1965; Baumber és mtsai, 1971). Mi a kérdés megközelítésére az elektronszonda mikroanalysis módszert választottuk, amely módszer sejtek, ill. sejtrészecskék elemi összetételének meghatározására alkalmas (Hall, 1971).

Zselatin standardok alkalmazásával (Lehrer és Berkley, 1973) próbáltuk megvalósítani a mellékvesesejtek K és Na tartalmának quantitatív analysisét elektronmikroszondával.

Intracellularis K és Na értékeink magasabbak, mint a patkány mellékvese „capsulából" (Boyd és mtsai, 1973) vagy kutya mellékvesekéregből (Baumber és mtsai, 1971) lángfotometriás meghatározással nyert értékek. Ennek oka lehet feltehetően az, hogy a standard és a mellékvese a liophylizálás során eltérően zsugodorott, s a standard azonos térfogatban kevesebb szárazanyagot tartalmazott, így hamis volt a viszonyítási alapunk. Így, bár az értékeket mEq/l-ben adjuk meg, úgy gondoljuk, hogy ezek abszolut számban nem felelnek meg a valóságos értékeknek. Ez a tény azonban nem hamisítja meg a discussio alapját képező csoportok közötti és mellékvesén belüli összehasonlításokat.

Na hiányos és Na dús diétával létrehozott hyper- és hypoaldosteronizmusban a zona glomerulosa és zona fasciculata sejtek K tartalmában változást nem találtunk. Ez nem támasztja alá azokat a feltételezéseket, amelyek szerint az aldosteronszabályozás végső közös útja az intracellularis K változása a zona glomerulosában (Cannon és mtsai, 1966; Baumber és mtsai, 1971; Davis, 1972; Boyd és mtsai, 1973). E feltételezést eddig egyedül Baumber és mtsai (1971) kísérletei támasztották alá, akik azt találták, hogy kutyában Na hiányban, ill. angiotensin vagy ACTH infusió után a mellékvesekéreg K tartalma emelkedett. Binnion és mtsai (1965) viszont nem találtak változást a mellékvesekéreg K tartalmában Na hiányos kutyában. Kísérletes tricuspidális

insufficientiával létrehozott hyperaldosteronizmusban Yankopoulos és mtsai (1960) sem találtak változást kutya mellékvesekéreg K tartalmában.

Saját korábbi vizsgálataink is azt mutatták, hogy az aldosteron elválasztás végső stimulusa nem az intracellularis K emelkedése, hanem az extracellularis/intracellularis K arány növekedése, ill. az extracellularis/intracellularis Na arány csökkenése (Szalay, 1968; Szalay, 1971; Szalay, 1973). Egy közelmúltban megjelent közleményben Blaine és mtsai (1974) is arra a következtetésre jutnak, hogy valószínűtlen, hogy az aldosteron termelés szabályozásának kontrolláló faktora a mellékvese intracellularis K tartalma.

Kísérletünkben a mellékvesesejtek Na tartalma a Na hiányos állatokban nem csökkent. Binnion és mtsai (1965) kutya mellékvesekéreg Na tartalmát csökkentnek találta Na hiányban, de feltételezte, hogy a csökkenés extracellularis eredetű. A Na dús diétán tartott patkányokban a zona glomerulosa és zona fasciculata sejtek Na tartalma megnőtt, a velősejteké nem változott. Felmerül a kérdés, hogy összefüggésbe hozható-e a Na dús diéta következtében létrejött hypoaldosteronizmus és a zona glomerulosa sejtek fokozott Na tartalma. Nem tartjuk valószínűnek, mert a zona fasciculata sejtek Na tartalma is emelkedett, a corticosteron termelés azonban nem csökkent.

A mellékvese különböző típusú sejtjeinek iontartalmát összehasonlítva azt találtuk, hogy a zona glomerulosa sejtek K és Na tartalma magasabb, mint a zona fasciculata sejteké. Azt, hogy a zona glomerulosa sejtek K tartalma magasabb, mint a zona fasciculátáé, már magunk is megállapítottuk qualitatív elektronszonda mikroanalysissel (Bácsy és mtsai, 1973). Boyd és mtsai (1973) is magasabbnak találták a tokkal lehúzott zona glomerulosa K tartalmát a belső zónák K tartalmánál lángfotometriás módszerrel mérve.

Tait és mtsai (1973) izolált zona glomerulosa sejtek sűrűségét magasabbnak találták, mint a zona fasciculata sejtekét, ennek oka valószínűleg a magasabb K és Na tartalom és a vele együttjáró magasabb anion koncentráció.

Nem tudjuk, mi lehet a szerepe a „különleges zona glomerulosa sejteknek", amelyeknek K és Na tartalma magasabb, mint a többi glomerulosa sejtnek.

A zona glomerulosa sejtek magas K tartalma arra utal, hogy az aldosteron szintézisnek egyik feltétele a sok intracellularis kálium. Ez azonban nem jelenti azt, hogy az intracellularis kálium növekedése az aldosteron elválasztás triggere.

Összefoglalás

Mellékvesesejtek kálium és nátrium tartalmát határoztuk meg kísérletes hyper- és hypoaldosteronizmusban elektronsugár-röntgen mikroanalysissel patkányban.

A zona glomerulosa, zona fasciculata és velősejtek kálium tartalmában nem volt különbség sem Na hiányos diéta etetésével kiváltott hyper-, sem Na

dús diéta etetésével kiváltott hypoaldosteronizmusban. A Na terhelt patkányokban a zona glomerulosa és zona fasciculata sejtek Na tartalma emelkedett, a velősejteké nem változott.

Eredményeink ellene szólnak annak a feltételezésnek, hogy a zona glomerulosa sejt kálium tartalmának változása lenne az aldosteron termelés szabályozásának végső stimulusa.

IRODALOM

Baumber, J. S., Davis, J. O., Johnson, J. A. és *Witty, R. T.:* Am. J. Physiol. **220,** 1094 (1971).
Bácsy, E., Szalay, K. Sz., Pantó, Gy. és *Nagy, G.:* Experientia **29,** 485 (1973).
Binnion, P. F., James, O. D., Brown, T. C. és *Olichney, M. J.:* Am. J. Physiol. **208,** 655 (1965).
Blaine, E. H., Coghlan, J. P., Denton, D. A. és *Scoggins, B. A.:* Endocrinology **94,** 1304 (1974).
Boyd, J., Mulrow, P. J., Palmore, W. P. és *Silvo, P.:* Circ. Res. Suppl. I. to XXXII and XXXIII 39 (1973).
Cannon, P. J., Ames, R. P. és *Laragh, J. H.:* J. clin. Invest **45,** 865 (1966).
Cushman, P.: Endocrinology **84,** 808 (1969).
Csemniczky, F. és *Cziegler, S.:* Mikroskopie **17,** 241 (1962).
Davis, J. O.: New Eng. J. Med. **286,** 100 (1972).
Dunnet, C. W.: Amer. Stat. Ass. J. **50,** 1096 (1955).
Guillemin, G. R., Clayton, W. G. és *Lipscomb, H. S.:* J. Lab. Clin. Med. **53,** 830 (1959).
Hall, T. A.: The microprobe assay of chemical elements. In: G. Oster (Ed.) Techniques in Biological Research, 2nd. ed. Academic Press, (1971).
Hodson, S. és *Marshall, J.:* Experientia **26,** 1283 (1970).
Kriz, W., Höhling, H. J., Schnermann, J. és *v. Rosenstiel, A. P.:* Verh. anat. Ges. Jena **65,** 217 (1971).
Lehrer, G. M. és *Berkley, C.:* J. Histochem. Cytochem. **20,** 710 (1972).
Manitius, A., Levitin, H., Beck, D. és *Epstein, F. H.:* J. clin. Invest. **39,** 684 (1960).
Scheffé, H.: The Analysis of Variance. Wiley, New York (1959) 477.
Szalay, K. Sz.: Biochem. Pharm. **18,** 962 (1969).
Szalay, K. Sz.: Acta endocr. (Kbh.) **68,** 477 (1971).
Szalay, K. Sz., Bácsy, E., Pantó, Gy. és *Nagy, G.:* Acta endocr. (Kbh.) Suppl. **177,** 376 (1973).
Szalay, K. Sz.: Acta Physiol. Hung. **43,** 279 (1973).
Tait, J. F., Tait, S. A. S. és *Gould, R. P.:* J. Endocrin. **55,** XXXI—XXXII (1972).
Yankopoulos, N. A., Davis, J. O., Cotlove, E. és *Trapasso, M.:* Am. J. Physiol. **199,** 603 (1960)

Semmelweis Orvostudományi Egyetem I. sz. Kórbonctani Intézet, Budapest

ISMÉTELT SANEGYT KEZELÉS HATÁSA PATKÁNY MELLÉKVESE VELŐ ULTRASTRUKTÚRÁJÁRA

BENEDECZKY ISTVÁN a biológiai tudományok kandidátusa és
BOLLA KÁLMÁN

Közlésre érkezett: 1974. XI. 1.

Bevezetés

A guanethidin hypotensiv agensként való klinikai alkalmazását követően a kedvező hatás mellett (Dustan és mtsai 1963, Fries 1965, Káldor és Pogátsa 1973, Sokolow és Perloff 1965) egyre több közlemény (Ji Han Chang és Pinson 1967, Dollery és mtsai 1960) számolt be olyan káros mellékhatásról, mely a gyógyszer alkalmazhatóságát jelentősen korlátozta. A káros mellékhatások kiküszöbölése érdekében ugyanakkor számos laboratóriumban próbálkoztak új guanethidin származékok előállításával (Komlós és mtsai 1972, Sriabine és mtsai 1965). Újabb kísérleti adatok (Csillik 1972, Komlós és mtsai 1972, Varga és Molnár 1972) szerint az EGYT által előállított Sanegyt számos olyan előnyös tulajdonsággal rendelkezik, amely a guanethidinnel szemben klinikai alkalmazhatóságát illetően kedvezőbbnek ítélhető meg. Minthogy a Sanegyt hatása elsődlegesen a sympathicoadrenalis rendszeren keresztül érvényesül, kézenfekvőnek látszott vizsgálat tárgyává tenni milyen hatást fejt ki a Sanegyt kezelés a sympathicus neuronok morphológiai és cytochemiai sajátosságaira. Csillik (1972) elektronmikroszkópos és cytochemiai vizsgálatai szerint a guanethidin és a Sanegyt hatásmechanizmusa eltérő: amíg a guanethidin catecholamin depletáló, a Sanegyt ilyen hatással nem, vagy csak igen kis mértékben rendelkezik. Mivel a mellékvese velőállománya a sympathicus idegrendszer szerves része, és a különböző pharmacológiai agensek hatása ezen szöveten jól detektálható, vizsgáltuk a patkány mellékvese velő sejtjeinek Sanegyt hatására bekövetkező finom szerkezeti változásait, hogy ezekből kiindulva újabb adatokat nyerjünk ezen hypotensiv szer hatására és hatásmódjára vonatkozóan.

Anyag és módszer

Laboratóriumi patkányokat (Lati) i. p. kezeltünk a Sanegyt 50 mg/kg napi dózisaival 4 napon keresztül, az ivóvíz és táplálék teljes biztosítása mellett. A 4. dózis beadását követően 1—2 órával az állatokat dekapitálással megöltük, a mellékveséket kettévágtuk és 4% formalin + 2,5% glutaraldehid tartalmú

rögzítőkeverékben előfixáltuk egy ájszakán át 4 C°-on. Az utolsó Sanegyt kezelést követő 24, 48 és 168 óra múlva további kísérleti csoportokban vizsgáltuk a szerhatást.

Egy-egy kísérleti csoportban öt-öt állatot kezeltünk Sanegyttel, kontrollként ugyancsak öt állatot használtunk, így a kísérleti állatszám ebben a csoportban 25 darab volt. Előkísérlet során vizsgáltuk a gyógyszer akut hatását, ahol 5—5 állaton 50, 100 és 200 mg/kg Sanegyt hatását tanulmányoztuk két órával a szer beadása után.

A mintákat a továbbiakban 7,5% szacharóztartalmú foszfátpufferban (pH: 7,4) mostuk 3 ×10 percig, majd O_sO_4-ben 2^h-ig utófixáltuk Palade szerint (1952). A felszálló alkoholsoron történő vízteleníté után a mellékvese velőállományából származó blokkokat Durcupan ACM-be ágyaztuk be. Az ultravékony metszeteket kettősen kontrasztoztuk; 30'-ig festettünk uranil acetát telített vizes oldalában, majd 2'-ig Reynolds (1963) szerint. A felvételek JEM 100 B. elektronmikroszkópon készültek.

Eredmények

Az akut kísérleti csoportban az egész mirigyre kiterjedő szembetűnő ultrastrukturális elváltozást nem észleltünk. Az ismételt Sanegyt kezelésben részesült kísérleti csoportok között nem volt lényeges különbség a finom szerkezeti változásokat illetően a korai (2 órával az utolsó Sanegyt dózis) és a késői (168 órával az utolsó kezelés után) időpontok tekintetében.

A mirigysejtek ultrastrukturális arculata igen változatos volt a 4 ×50 mg/kg Sanegyt kezelést követően. Egyes sejtekben (2. ábra) a secretios granulumok száma a kontrollhoz képest (1. ábra) nem csökkent ugyan, de a szemcsék többségének elektrondenzitása igen alacsony volt. A mitochondriumok és a durva felszínű endoplasmás reticulum nem látszik károsodottnak ezekben a sejtekben. Feltűnő viszont, hogy a jól megőrzött Golgi-apparátus területén újonnan formálódó secretios szemcse nem, vagy csak elvétve figyelhető meg (2. ábra). A durva felszínű endoplasmás reticulum mennyisége néha megszaporodottnak tűnik ezekben a mirigysejtekben (2. ábra).

A mirigysejtek nagyobb hányadában feltűnő a mitochondriumok erőteljes duzzanata (3. ábra). A mitochondriumok alapállománya világos ugyan, de a cristák többsége jól megtartott, itt sem számszerű csökkenést, sem orientációbeli eltérést nem észleltünk. A multivesicularis testek és lysosomák nagyobb gyakorisággal láthatók ezekben a sejtekben, mint a kezeletlen kontrollban. A durva felszínű endoplasmás reticulum tubulusai többnyire tágultak. Néha myelin figurák megjelenése is észlelhető volt a Sanegyt kezelt állatok chromaffin sejtjeiben. Jelentős számban figyeltünk meg olyan mirigysejteket is, amelyekben a Sanegyt kezelés után nem észleltük sem a secretiós szemcsék számának, sem a szemcsék elektrondenzitásának csökkenését, így a mirigysejt

ultrastrukturális képe csaknem a kontrollal volt azonos (4. ábra). A szerhatásra utal azonban a mitochondriumok duzzanata és a durva felszínű endoplazmás reticulum tubulusainak erőteljes tágulata.

A maghártya lemezei közötti tér kiszélesedését helyenként zsebszerű kiöblösödését is észlelni tudtuk (5. ábra), s ezzel párhuzamosan a sejtmag közvetlen szomszédságában sajátosan organizált durva felszínű endoplazmás reticulumot figyeltünk meg. Az endoplazmás reticulum tubulusainak lumene összeolvadt és a tág elektronáteresztő üregben keskeny cytoplasma nyúlványok „belső felületén" ülnek a riboszómák. A catecholamin tartalmu szemcsék egy része közepesen, más része gyengén elektrondenz.

168 órával az utolsó Sanegyt dózis beadása után az ultrastrukturális változások ugyanúgy megfigyelhetők voltak mint a vizsgálat korai, két órás időpontjában, tehát reparálódásra utaló jeleket nem észleltünk.

Az eredmények megbeszélése

Az általunk végzett ultrastrukturalis vizsgálat mindenekelőtt azt tárta fel, hogy az ismételt Sanegyt kezelés gyakorlatilag minden mirigysejtben létrehoz valamilyen subcellularis változást, ezek kiterjedtsége és súlyossága azonban igen eltérő. Szemben a guanethidinnel (Benedeczky és Bolla 1974), jelentős indukált catecholamin secretiora utaló ultrastrukturális jeleket a Sanegyt kezelés hatására nem észleltünk. Ez a megfigyelés teljesen összhangban áll azon pharmacologiai (Komlós és mtsai 1972) és cytochemiai (Csillik 1972) adatokkal, ahol a szerhatásra csak nagyon csekély vagy semmi catecholamin mobilizációt nem tudtak észlelni. A Sanegyt kezelést követő kezdeti catecholamin mobilizáció (depleció) és az ezzel kapcsolatos vérnyomásemelkedés elmaradása a hypertoniás betegek therápiája szempontjából igen kedvezőnek mondható. Felmerül a kérdés; miként értékelhetők a gyógyszer által kiváltott subcellularis alterációk?

Az a tény, hogy a morphologiai változások nem egyöntetűen léptek fel a különböző sejtekben arra utal, hogy nem aspecifikus sejtkárosító hatásról van szó, s a szer feltehetően a sejtek funkcionális állapotától függően eltérő morphologiai sejtválaszt hoz létre.

A maghártya és a durvafelszínű endoplasmás reticulum alterációi arra utalnak, hogy a Sanegyt közvetve, vagy közvetlenül a macromolekulák (RNS, fehérje) szintézisében és transzportjában is zavart okozhat. Hogy ez a változás abból áll e csupán, hogy ezen sejtorganellumok funkciója hosszabb vagy rövidebb időre felfüggesztődik, ill. irreverzibilisen gátlódik-e, a morphologiai kép alapján nem mondható meg.

Figyelmet érdemlő az a tény, hogy a sejtek egy jelentős részében a catecholamin tartalmú szekréciós szemcsék finom szerkezeti vonásai azonosak voltak a kontrollnál leírtakkal (4. ábra). Ez azért érdekes, mert a mirigysejtben

vannak ugyan egyes organellumok (mint pl. a durva felszínű endoplazmás reticulum és a mitochondriumok) duzzanatára utaló jelek — a secretios szemcsék ennek ellenére morphologiailag érintetlennek látszanak. Ez azt is jelenti, hogy az egyik sejtorganellum pillanatnyi alterációja nem vonja szükségszerűen maga után más sejtkomponensek egyidejű megváltozását.

A mirigysejtek másik hányadában változatlan szemcseszám mellett csökkent elektrondenzitást észleltünk. A jelenség értelmezésére több magyarázat is szolgálhat.

a) A secretiós szemcsék catecholamin „uptake"-e gátlódott, mivel a szemcsékbe Sanegyt épült be. Ez a magyarázat azért látszik valószínűnek, mert a kémiailag nagyon hasonló guanethidin esetében a kísérleti tények ezt igazolják (Furst 1967).

b) A catecholamin szintézis gátlódott, s így hormon szubsztanciák hiányában a secretiós szemcsék képtelenek „feltöltődni".

c) A károsodott mitochondriumok ATP szintézise gátlódott — ezért a catecholaminok intragranularis megkötése ATP hiányában zavart szenvedett.

Ez utóbbi feltevés azért is valószínűnek látszik, mert mitochondriális károsodásokat eddig csaknem minden ultrastrukturalis vizsgálat kapcsán leírtak (Benedeczky és Bolla 1974, Burnstock és mtsai 1971, Jensen-Holm és Juul 1970, 1971). Az sem zárható ki, hogy fenti lehetőségek mindegyike fennáll, és a szekréciós szemcsék alacsony elektrondenzitásért a három tényező együttesen felelős. A mitochondriumok károsodása mellett a lysosomák és multivesicularis testek jelentős száma érdemel figyelmet. Ez azt jelentheti, hogy az endocytosis folyamata aktiválódott a chromaffin sejtekben. Ez az aktiváció két irányba is hathat.

1. A sejt eliminálni igyekszik az idegen anyagot; — jelen esetben a kívülről bejuttatott Sanegyt-et.

2. Autophagia (ill. crinophagia) révén elemészteni igyekszik a kiürülés gátlódása révén felszaporodott secretios anyagot.

Minthogy savanyú foszfataze reakciót nem végeztünk — ezirányú feltételezésünk cytochemiailag nincs alátámasztva.

Összefoglalva megállapítható, hogy a Sanegyt 4 ×50 mg/kg dózisa morphológiai szempontból változatos, de nem súlyos károsító elváltozásokat eredményez a patkány mellékvese velő chromaffin sejtjeiben. Végleges konkluziók levonása céljából változatlan dózis mellett hosszabb ideig tartó kronikus kísérletekre van szükség, hogy a szer hatását és hatásmechanizmusát jobban megértsük és az eredményeket összevethessük a klinikai kezelés során nyert eredményekkel.

Összefoglalás

Tanulmányoztuk a Sanegyt ismételt dózisainak (4 ×50 mg/kg i. p.) hatására létrejövő finom szerkezeti elváltozásokat patkány mellékvese chromaffin sejtjeiben. Megállapítottuk, hogy a gyógyszer nem súlyos, de változatos ultrastrukturalis elváltozást hoz létre a mirigysejtek egyes organellumaiban. Az elváltozások közül szembetűnő volt a mitochondriumok, a durva felszínű endoplazmás reticulum és a maghártya duzzanata. Jelentős hormonsecretiora utaló finom szerkezeti elváltozásokat nem észleltünk; a mirigysejtek zömében változatlan alakú és denzitású secretios szemcsék voltak jelen. Csupán a sejtek kis hányadában csökkent a szemcsék elektrondenzitása. Az észlelt sajátosságok alapján úgy véljük, hogy a Sanegyt fenti dózisai — nem váltanak ki jelentős hormonliberációt a mellékvese velőállományából, s az észlelt ultrastrukturális elváltozások a szer sejtkárosító hatásával lehetnek kapcsolatosak.

IRODALOM

Benedeczky I. és *Bolla K.*: MTA Biol. Oszt. Közl. **17,** 483 (1974).
Burnstock, G., Evans, B., Gannon, B. J., Heath, J. W. és *James, V.*: Brit. J. Pharmacol. **43,** 295 (1971).
Ji Han Chang és *Pinson, R. (jun.)*: Biochem. Pharmacol. **16,** 201 (1967).
Csillik, B.: Egyt-Rota 1596/N. 1 (1972).
Dollery, C. T., Emalie-Smith, D. és *Milne, M. D.*: Lancet. **11,** 381 (1960).
Dustan, H. P., Page, J. H., Pontasse, E. F. és *Wilson, L.*: Circulation **27,** 1018 (1963).
Freis, E. D.: Progr. Cardiov. Dis. **8,** 183 (1965).
Furst, C. I.: Adv. Drug. Res. **4,** 133 (1967).
Jensen-Holm, J. és *Juul, P.*: Acta pharmacol, et toxicol. **28,** Suppl. **1,** 38 (1970).
Jensen-Holm, J. és *Juul, P.*: Acta pharmacol. et toxicol. **30,** 308 (1971).
Káldor, A. és *Pogátsa, G.*: Orv. Hetilap **114,** 514 (1973).
Komlós, L., Petőcz, L. és *Grasser, K.*: Egyt-Rota 1557 A. 1 (1972).
Palade, G. E.: J. exp. Med. **95,** 285 (1952).
Reynolds, E. S.: J. Cell Biol. **17,** 208 (1963).
Scriabine, A., Booher, K. D. és *Pereira, J. N.*: J. Pharmacol. Exp. Ther. **147,** 277 (1965).
Sokolow, M. és *Perloff, D.*: Progr. Cardiov. Dis. **8,** 253 (1965).
Varga, F. és *Molnár, J.*: Egyt-Rota 1475/N. 1 (1972).

Semmelweis Orvostudományi Egyetem II. sz. Belgyógyászati Klinika, Budapest

A RENALIS NATRIUM ÜRÍTÉS IDEGI SZABÁLYOZÁSÁNAK KÉRDÉSÉRŐL*

TAKÁCS LAJOS, az orvostudományok doktora, BENCSÁTH PÁL és SZALAY LÁSZLÓ

Közlésre érkezett: 1975. II. 1.

A natrium ürítés idegi szabályozásának, a tubularis transport folyamatok esetleges közvetlen neuralis regulatiojának kérdése sokat vitatott és számos részletében még nyílt kérdés. A következőkben néhány, elsősorban efferens szabályozás főbb részletét ismertetjük saját vizsgálataink lényegesebb eredményeinek összefoglalásával együtt.

A vese gazdag adrenerg *beidegzése* általánosan ismert. *Barajas* (1964, 1973), *Wågermark* és mtsai (1968) és mások vizsgálatai igazolták a juxtaglomerularis sejtek innervációját. Acetylcholinesterase tartalmú idegrostokat is kimutattak a vesén belül (*McKenna* és *Angelakos*, 1968). A tubulusok beidegzését sokszor vitatták. *Barajas* és *Müller* (1972, 1973) újabb fény és elektronmikroszkópos eredményei azonban azt bizonyítják, hogy adrenerg és cholinerg rostok közvetlenül kapcsolódhatnak proximalis és distalis tubulusok basalis membránjához. Ezek az eredmények a sympathicus idegrendszer tubularis functiokra gyakorolt hatásának morphológiai alapját jelenthetik.

Az intrarenalis baroreceptorok jelenlétét *Ábrahám* (1959) igazolta. A közelmúltban *Ninomiya* és mtsai (1973) kimutatták, hogy a veseidegek aktivitása baroreceptor-függő komponensekből álló sympathicus kisülés is.

A vese idegeinek reflex-aktiválása vagy elektromos ingerlése vasoconstrictiot okoz a véráramlás (RBF) és a filtráció (GFR) következményes csökkenésével. Ez a vasoconstrictor hatás elsősorban az alpha receptorokhoz kötött. Beta-adrenerg izgatás renalis vasodilatatiot eredményez, amint ezt *Fenyvesi* és *Kállay* (1970) és mások bizonyították. A vesekeringés dopaminerg vasodilatator szabályozását is ismertették (*Bell* és *Lang*, 1973; *Hollenberg* és mtsai, 1973), és reflex cholinerg vasodilatatiot is leírtak (*Stinson* és mtsai, 1969).

A *MacFarlane* (1970) által közölt, acetylcholinnal kiváltott reno-renalis vasoconstrictor reflex a páros szervek spinalis reflex-összeköttetésének példája.

A sympathicus activitas fokozódása vagy katecholaminok alkalmazása többféle módon befolyásolhatja a Na ürítést.

A vese idegeinek *erőteljes ingerlése* a GFR csökkenésére vezet és következményesen a Na ürítés is mérséklődik. Hasonló hatás észlelhető katechola-

* A XXVI. Nemzetközi Élettani Kongresszuson (New Delhi, India, 1974) tartott felkért referatum alapján.

minoknak *vasoconstrictiót* okozó adagjaival. *Homer Smith* (1951) és *Berne* (1952) egyaránt arra következtettek, hogy a vese natrium ürítése független az idegi hatásoktól, ha a filtráció konstans. Más szóval, az adrenerg stimuláció Na visszatartó hatásáért csak GFR változások lennének felelősek. Később azonban igazolták, hogy a véreztetést követő jelentős sympathicus aktivitás fokozódáskor natrium retentio észlelhető még bármiféle GFR változás előtt *(Gill* és *Casper*, 1969). A vese idegeinek szelektív izgatása csökkent natrium ürítést okoz, ez azonban GFR változással ugyancsak nem kapcsolatos *(La Grange* és mtsai, 1973). Kétségtelennek tűnik, hogy az excretios-resorptios válasz nagymértékben az ingerlés intensitásának és az alkalmazott dósisnak a függvénye. A szisztémás, extrarenalis következmények ugyanis elfedhetik a tényleges renalis hatást. Így pl. a katecholaminok diureticus-natriureticus hatását is leírták *(Green* és *Sim*, 1961), ez azonban inkább a vérnyomás emelkedésének és nem specialis vese-hatásnak tulajdonítható.

A veseidegek *enyhe izgatása* vagy kis dósis noradrenalin infusioja az intrarenalis keringés megváltoztatása útján is befolyásolhatja a Na ürítést. *Pomeranz* és mtsai (1968) közölték, hogy olyan fokú idegingerlés, amely a teljes véráramlást nem befolyásolja, a külső corticalis peritubularis capillarisok vérellátását csökkenti, míg a külső velőben azt fokozza. A felületes, feltehetően kisebb reabsorptív kapacitású nephronok csökkent vérellátása a natrium visszatartást fokozná. Decompensalt szívelégtelenségben, tehát a sympathicus aktivitás és a keringő katecholaminok szintjének fokozódásakor hasonló jellegű keringési redistributiot tapasztaltak *Barger* és mtsai (1959, 1966). Vizsgálataikban noradrenalin intrarenalis infusioját Na retentio követte a haemodynamikai következmények nagy változatossága ellenére. Másrészt *Rector* és mtsai (1972) noradrenalin hatásban nem tapasztaltak változást az intrarenalis keringés eloszlásában. *Cant* és *Vander* (1973) olyan dósis noradrenalin alkalmazásával, amely a teljes RBF és GFR értéket nem befolyásolja, elkülöníteni igyekeztek a Na ürítésre és a keringési distributiora gyakorolt hatást. Azt találták, hogy az ilyen kis adagok is csökkentik a Na ürítést, és ez nem magyarázható sem GFR, sem RBF változással, illetve ezek intrarenalis eloszlásának módosulásával. *Gill* és *Casper* (1969) korábbi véleményével egyezően úgy tartják, hogy az antinatriureticus hatás oka a peritubularis fizikai tényezők változásában keresendő.

Szelektiv alpha és *beta* adrenerg stimulációnak a tubularis Na resorptiora kifejtett hatását illetően nincs teljesen kialakult vélemény. *Gill* és *Casper* (1971, 1972) úgy találták, hogy α-stimuláció fokozza, β-izgatás csökkenti a tubularis Na-resorptiot haemodynamikai változások nélkül is. Következtetésük az volt, hogy adrenerg izgatás vagy blokád közvetlenül befolyásolja a tubularis Na-transportot, celluláris szinten a ciklikus monofoszfátok révén. Másrészt *Stein* és mtsai (1972), valamint *Strandhoy* és mtsai (1974) punctios kísérleteikben a proximalis Na-transport α- vagy β-adrenerg szabályozását

nem tudták megerősíteni. Más kísérletek eredményei arra utalnak — clearance technikák alkalmazásával, — hogy propranolol feltehetően direkt módon fokozza a proximalis Na-resorptiot *(Cacciaguda* és mtsai, 1973*)*. Miután a phenoxybenzaminról azt is közölték, hogy a nephron distalisabb segmentumaiban csökkenti a Na-resorptiot *(Strandhoy* és mtsai, 1974), a kísérleti eredmények jelenleg még nem teszik lehetővé biztos következtetések levonását a szelektív izgatás vagy blokád mechanizmusát illetően. Tovább bonyolítja a problémát, hogy beta adrenerg izgatás vagy blokád filtráció redistributiot okozó hatását is leírták *(Greven*, 1974).

Vander (1965), *Bunag* és mtsai (1966) és mások is bizonyították, hogy a veseidegek izgatása a *renin felszabadulást* fokozza. Ez a hatás megfigyelhető a vese arteriás nyomás széles változásai mellett *(La Grange* és mtsai, 1973). Amint azt a nem filtráló vese preparatumon bizonyították *(Johnson* és mtsai, 1971), az idegizgatás reninmobilizáló hatása a haemodynamikai válaszoktól független. Érdekes és jelentős megfigyelés, hogy az agytörzs pressor területének elektromos ingerlése jelentősen fokozza a renin termelést és ez a hatás a vese idegeinek épségétől függ, de RBF változásokkal nem kapcsolt *(Richardson* és mtsai, 1974). A catecholaminok az isolált perfundált vesében is mobilizálnak renint és *Vandongen* és mtsai (1973) eredményei alátámasztják a véleményt, hogy a sympathicus aktivitás direkt intrarenalis hatást gyakorol a renin felszabadulásra. Kétségtelennek tűnik, hogy a renin termelés neurogén szabályozásában az intrarenalis beta receptoroknak döntő szerepük van *(Ganong*, 1973).

Cholinerg izgatás, azaz acetylcholin (ACh) különböző dosisainak intrarenalis infusioja jelentős vasodilatatiot okoz. A GFR változatlan maradhat, a véráramlás és az elektrolytürítés fokozódik. A natriuresist illetően a velőkeringés fokozódásának szerepét vetették fel *Pintér* és mtsai (1964) és igazolták *Hársing* és mtsai (1966). Más módszerrel dolgozva *Carrière* és mtsai (1971) a külső velő áramlását változatlannak találták és keringési átrendeződést sem észleltek. Punctios vizsgálatokban *Stein* és mtsai (1971) acetylcholin hatásban a proximalis tubularis hydrostaticus nyomás emelkedését és a Na resorptio egyidejű csökkenését észlelték. *Willis* és *Knox* (1972) demonstrálták, hogy ACh vasodilatatioban a perfusios nyomás a peritubularis érterületen fokozott. Lehetséges tehát, hogy a peritubularis környezet fizikai tényezőinek megváltozása lenne felelős az ACh hatásban csökkenő proximalis reabsorptioért.

A vese ideigenek a Na ürítését szabályozó szerepét többen arra a megfigyelésre hivatkozva utasították el, amely szerint a *transplantált vese* sóinfusióra ugyanúgy reagál, mint az innervált *(Bricker* és mtsai, 1956; 1958). Más adatok szerint *(Bálint* és mtsai, 1956, 1956a) az autotranszplantált vese denervációs effectust mutat. Kétségtelen azonban, hogy a vese transplantatioja számos haemodynamikai és egyéb következménnyel jár a sebészi beavatkozás, szervperfusio stb. miatt. Így nehéz annak a pontos megítélése, hogy mely

hatás tulajdonítható a vese idegek hiányának és mely magának a transplantationak.

Nizet (1967) kísérleteiben az *isolált perfundált* vese tubularis Na-resorptioja csökkent, és amint azt *Bahlmann* és mtsai (1967) igazolták, a támadáspont a proximalis tubulus.

Claude Bernard (1859) észlelte elsőnek, hogy a nn. splanchnici átmetszése altatott kutyák vizelet ürítését fokozza. *Marshall* és *Kolls* (1919) nagy kísérleti anyagon bizonyították, hogy a splanchnicotomiát a víz és chlorid ürítés jelentős fokozódása követi isotoniás és hypertoniás sóterheléskor egyaránt. Ganglionbénítás nicotinnal megszüntette a jelenséget. Később a szerzők egy része a denerválás ilyen irányú hatástalanságát közölte. Az alkalmazott eljárások splanchnicotomia (*Klisiecki* és mtsai, 1933), explantált vese (*Rhoads* és mtsai, 1934), és autotransplantatio (*Maluf*, 1943) voltak. A víz és chlor ürítést az operált és ép oldalon egyformának találták hydropeniában és vízterheléskor. A legtöbb szerző azonban altatott kutyákban a denerválás diureticus-natriureticus hatását figyelte meg. Miután éber állatokban a jelenség elmaradt (*Smith*, 1951; *Berne*, 1952; *Surtshin*, 1952; *Bálint* és mtsai, 1958), a következtetés az volt, hogy az altatás okozta sympathicus izgalom az innervált vese GFR-jét és natrium ürítését csökkentette, vagyis a „denervatios polyuria" altatási műtermék. Ezt az álláspontot cáfolták *Kaplan* és mtsai (1953), *Fischer* és mtsai (1957) és mások eredményei. Bizonyított, hogy denerválás natriuresist okoz éber állatokban is. A közelmúltban *Michaelis* és *Gilmore* (1972) kísérleteiben négy éber kutya közül háromban kifejezett diuresis és natriuresis volt a vese denerválása után. Az is említésre méltó, hogy a katecholaminokkal szembeni denervatios túlérzékenység a vesében is tapasztalható (*Berne*, 1952). Így inkább az lenne várható, hogy a sympathicus aktivitás általános fokozódása és a keringő katecholamin-szint emelkedése a denervált szerv filtrációját csökkentené.

A *renalis sympathectomia* haemodynamikai következményeit illetően a legfontosabb kérdések egyike, hogy vajon GFR változások felelősek-e a natriureticus hatásért? A már említett szerzők éppúgy mint *Kamm* és *Levinsky* (1965) véleménye az volt, hogy csekély, esetleg nem is mérhető GFR és/vagy RBF emelkedés vezetne a denervált vese fokozott só- és vízürítéséhez. Mások, így *Sartorius* és *Burlington* (1956), *Blake* (1962), *Fischer* és mtsai (1956) igazolták, hogy kutyában és nyúlban, splanchnicotomia, hilaris és periarterialis denerválás egyaránt a GFR és RBF változása nélkül okozott fokozott víz- és Na ürítést. *Dresser* és mtsai (1971) szerint a denervált kutyavesében a tubularis resorptio csökken, ha a perfusios nyomás növekszik. A fokozott GFR oki szerepét kizárják *Bonjour* és mtsai (1969) eredményei. Kísérleteikben a denervatios natriuresis független volt a GFR változásaitól és microgolyók intrarenalis injectiojával elért 40%-nyi filtráció csökkenés a polyuriát nem szüntette meg. Az is figyelemre méltó, hogy oly eltérő beavatkozások, mint

thoracalis spinalis átmetszés (*Bálint* és *Fekete*, 1958) vagy preopticus laesio (*Keeler*, 1972), natriuresishez vezetnek változatlan vagy akár csökkent filtrációmellett is.

Egyoldali splanchnicotomia renalis hatásait több kísérletsorozatban *tanulmányoztuk laboratóriumunkban.* A továbbiakban „vese-denerválás"-on splanchnicotomiát értünk kutyakísérleteinket illetően.

Kísérleti módszereinkből az alábbiakat emeljük ki: Vizsgálatainkhoz mindkét nemből származó korcs kutyákat használtunk. A n. splanchnicus maiort bal oldalon steril körülmények között átmetszettük. Altatásra pentobarbitalt (Nembutal) használtunk 25 mg/kg adagban intravénásan. A kísérletekre általában a műtét után 7—14 nappal került sor. Hydropenias csoportunkban az állatok 72 órát szomjaztak. Isotoniás volumen expansiot a testsúly 3%-ának megfelelő mennyiségű physiologiás só gyors, néhány perc alatti infusiojával, majd 0,5 ml/min/kg adag további adásával hoztunk létre. A hypotoniás expansio során ugyanilyen folyadékmennyiséget adtunk, azonban az oldat 40 mEq/l Na-t, 10 mEq/l K-t és 20 g/l glucoset tartalmazott (*Takács* és mtsai, 1971).

A GFR-t inulin clearance-val mértük, az inulint a diphenylamin módszerrel (*Harrison*, 1942) határoztuk meg. A vese plasma-áramlását a PAH clearance és extractio alapján számoltuk, az analízis *Bratton* és *Marshall* (1939) módszerével történt. Az osmolaritást Fiske-osmometerrel, a Na és K koncentrációkat lángfotometriával mértük. A karbamid meghatározására a monoximoxydase félmikro módszert (*Coulombe* és *Favreau*, 1963) alkalmaztuk. Az anorganikus foszfát mérése *Fiske* és *Subbarow* (1925) módszerével történt.

Az intrarenalis keringés eloszlását a *Deutsch* és *Dreichlinger* (1963), valamint *Hársing* és *Pelley* (1965) által a vesekeringésre adaptált ^{86}Rb-accumulatios eljárással vizsgáltuk (*Bencsáth* és *Takács*, 1971).

Az arteriás és vese-vénás vérminták oxygen telítettségét reflexiós oxymetriával mértük (Kipp and Zonen haemoreflector, Delft, Hollandia). Az oxygen tartalmat a microhaematocrit módszerrel meghatározott haematocrit (Hawskley-centrifuga) és a telítettségi értékekből számoltuk (*Szalay* és mtsai, 1974).

A vérminták renin-activitását *Boucher* és mtsai (1964) eljárásával mértük és a pressor activitást ng angiotensin II/100 ml plasma/3 ó incubatio értékben fejeztük ki (*Bencsáth* és mtsai, 1972).

Patkánykísérleteinkhez beltenyésztett fehér nőstény (Saclay, Franciaország) és CFY hím (LATI, Gödöllő) patkányokat használtunk. Az állatokat 50 mg/kg pentobarbitallal intraperitonalisan altattuk. A micropunctios kísérletekhez a *Gottschalk* és *Mylle* (1956) szerinti preparálást használtuk, tehát a bal vesét in situ készítettük elő.

A GFR-t ^{3}H-methoxy-inulinnal mértük, az inulin koncentrációt a plasma és vizeletmintákban, valamint a tubulus-punctatumokban egyaránt liquid

scintillatióval határoztuk meg. A vizelet és plasma minták Na-K koncentrációját lángfotometriával, a punctatumokét a *Morel* és *Lucarain* (1966) szerkesztette micro-spectrolángfotometerrel (Saclay), illetve Aminco helium glow fotometerrel (Budapest) mértük. A vizelet, plasma és punctatum osmolaritását *Ramsay-Brown* (1955) typusu ultramicro-osmometerrel, illetve Knauer félmicro-osmometerrel ellenőriztük. Az individualis nephron-filtrációt a TF/P inulin érték (azaz a tubulus folyadék és a plasma koncentrációinak hányadosa) és a punctatum mennyiségének ismeretében kiszámoltuk. Másrészt, az egyedi nephron filtráció intrarenalis eloszlásának meghatározására *Hanssen* (1963) módszerének *de Rouffignac* és *Bonvalet* (1970) általi módosítását, a ^{14}C-ferrocyanid eljárást alkalmaztuk (*Bencsáth* és mtsai, 1971; *Bencsáth* és mtsai, 1972).

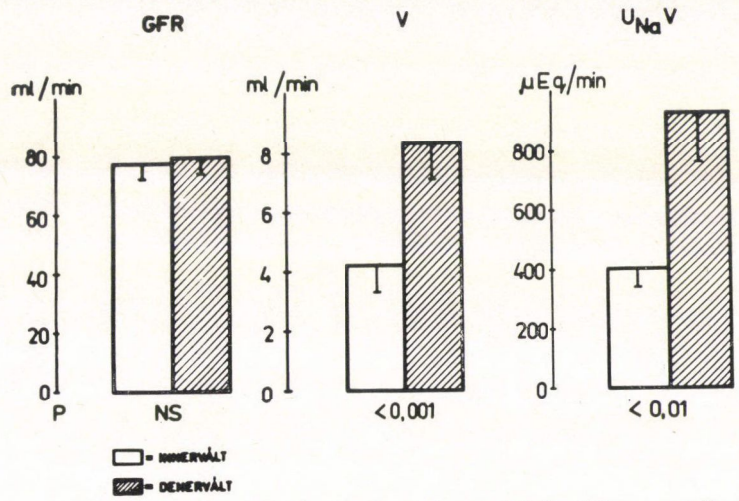
A *denervatios diuresis* és *natriuresis*, amit valamennyi kisérletünkben észleltünk, a GFR változásaitól független volt. Jól szemlélteti ezt 1. sz. ábránk, amelyen látható, hogy isotoniás sóval mérsékelten terhelt kutyákban a denervált vese több ml/min-os vizelet- és több mint 400 μEq/min natrium ürítési többlete GFR emelkedéssel nem kapcsolatos.

A natrium és vízürítés splanchnicotomiát követő jellegzetes változásait demonstrálja a 2. sz. ábra. Hydropeniás, normál állapotú, isotoniás és hypotoniás sóval terhelt állatokban egyaránt jelentős fokú denervatios diuresis és natriuresis jelentkezik, függetlenül a só- és vízürítés abszolút értékeinek széles határok közötti változásaitól (*Takács* és mtsai, 1971).

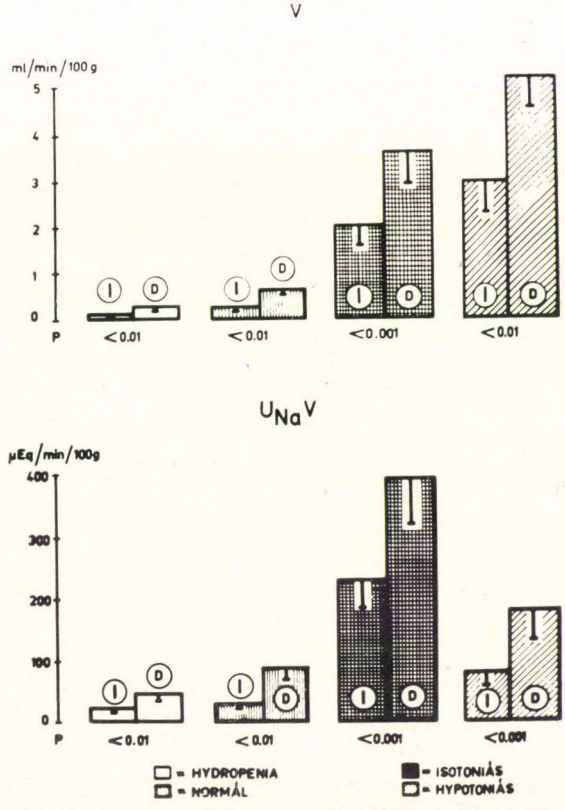
Érdekes volt megfigyelnünk, hogy az intact és a splanchnicotomisált oldal közötti százalékos eltérések mind a négy állapotban hasonlóak voltak. Így a V eltérése 100—130% volt, az $U_{Na}V$ különbsége 90—150% (3. sz. ábra), U/P osm 15—25%-al volt alacsonyabb, míg a filtrált Na ürített fractioja (E_{Na}) — hasonlóan az excretalt Na-hoz — 90—150%-al fokozódott (4. sz. ábra). Így ezen vizsgálatokból úgy tűnik, hogy a denervatios diuresis és natriuresis a só- és vízürítés különböző állapotaihoz igazodik. Meg kell jegyezzük, hogy egyik csoportban sem észleltünk szignifikánsan magasabb GFR-t a splanchnicotomia oldalán.

Az előzőekben vázoltuk, hogy a sympathicus ingerlésre bekövetkező *intrarenalis keringési változások* befolyásolhatják a Na ürítést. Miután a sympathicus ingerlést követően a belső kéreg véráramlását találták fokozottnak, azt várhatnók, hogy denerválás az ellenkező irányban hasson. Valóban, *Lackner és McKay* (1971) ^{133}Xe-kimosási módszert alkalmazva, a felületes kéreg denerválásra bekövetkező áramlásfokozódását írták le. Azonban, ha renalis sympathectomia a velőkeringést növelné az osmoticus velőgrádiens következményes kimosásával, a víz- és Na ürítése ugyancsak fokozódna.

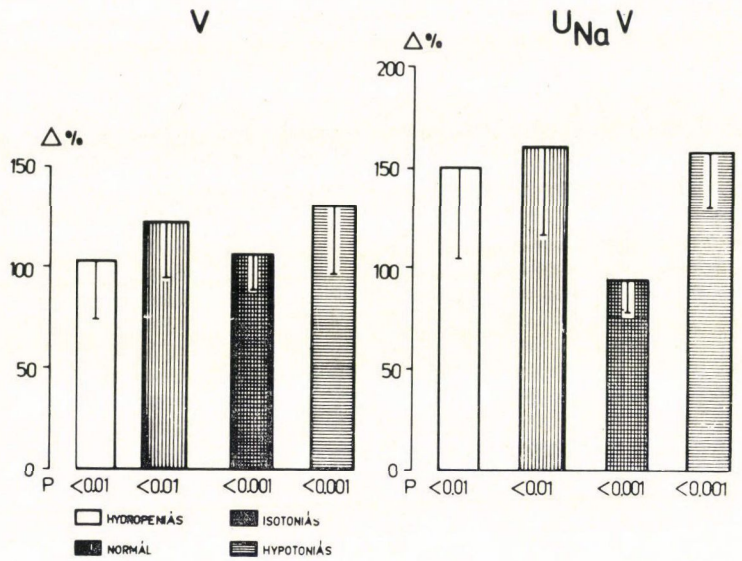
Más kísérletsorozatainkban tehát megmértük a ^{86}Rb módszerrel a véráramlás vesén belüli eloszlását és meghatároztuk a kéreg-velői Na-gradienst is (*Takács* és *Bencsáth*, 1967; *Bencsáth* és *Takács*, 1971). Az 5. sz. ábra az innervált és denervált vesék kéreg és velő áramlásában tapasztalt százalékos eltéré-



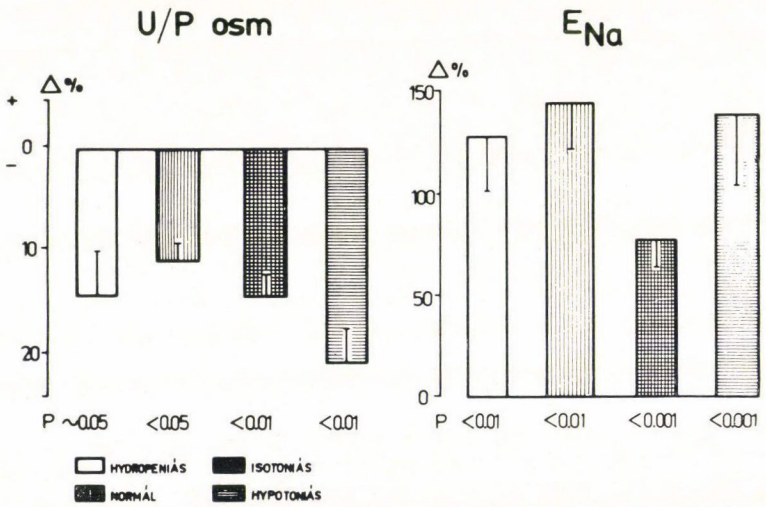
1. *ábra:* Denerválás hatása kutyák víz- és natrium ürítésére. Közepes sódiuresis (a testsúly 4%-a). A jelentős fokú denervatios diuresis és natriuresis GFR emelkedéssel nem kapcsolatos.



2. *ábra:* Denervatios diuresis és natriuresis különböző hydráltsági állapotokban. Itt és valamennyi ábrán I = az innervált, D = a denervált vesére vonatkozó adat.

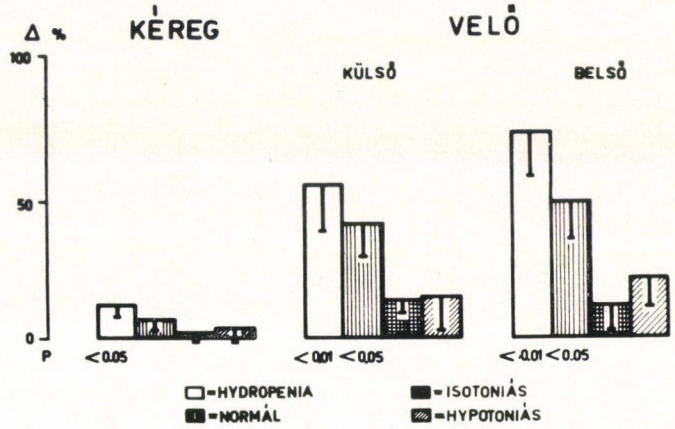


3. ábra: A víz és sóürítés százalékos eltérései a vizsgált négy állapotban hasonló nagyságúak az abszolút különbségek széles határai ellenére.

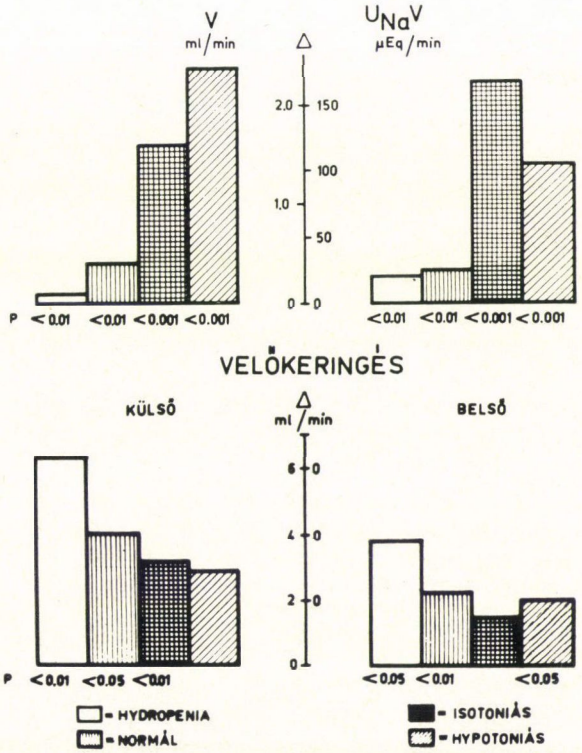


4. ábra: A vizelet osmolaritásában és a filtrált Na ürített fractiojában a denervált oldalon szignifikáns csökkenés, illetve emelkedés volt megfigyelhető.

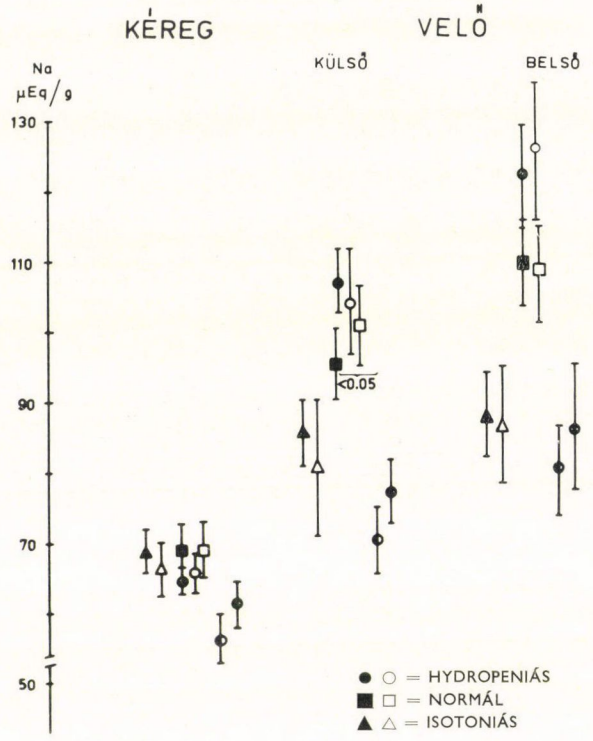
seket szemlélteti. Hydropenias és normál kutyákban mind a külső, mind a belső velő áramlása szignifikánsan fokozott volt a denervált oldalon. A külső velő keringése nőtt az isotonias expandált csoportban, míg a hypotoniás sóterhelt állatokban a belső velő áramlása volt szignifikánsan emelkedett. Hydropenias állatainkban a kérgi áramlás is mérsékelten fokozódott.



5. ábra: Splanchnicotomia hatása az intrarenalis keringés eloszlására. A medullaris keringésfokozódás legjelentősebb a hydropeniás csoportban.



6. ábra: A víz és natrium ürítés, valamint a velőkeringés abszolut különbségei innervált és denervált vesék között. A legjelentősebb víz- és Na-ürítés különbségekhez a legkisebb velőkeringési eltérések tartoznak.

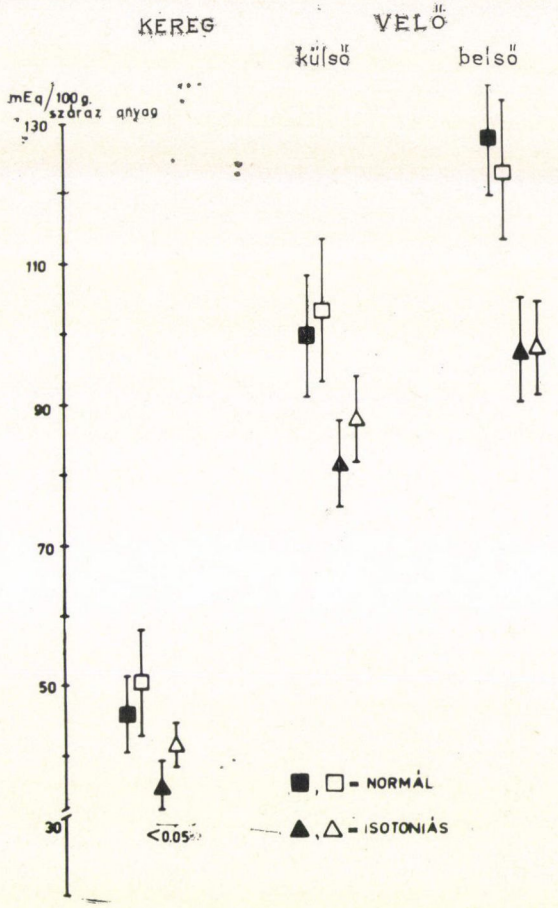


7. ábra: Denerválás a Na velőgradienst lényegében nem befolyásolja. Volumen expansióban a gradiens a két oldalon egyaránt csökken. A 7. és 8. ábrán az üres jelek a denervált oldal értékei.

A Na- és vízürítésben, valamint a velőkeringésben tapasztalt abszolút eltéréseket a 6. sz. ábrán tüntettük fel. Jól látható, hogy hydropeniás kutyákban a velőkeringés fokozódása abszolút értékben véve is a legjelentősebb volt (a külső velő: 63 ml/min, a belső: 28 ml/min különbséggel). Az is kitűnik az ábrából, hogy hydropeniától hypotonias expansióig a véráramlásbeli különbségek mérséklődtek. Ezzel szemben, a legnagyobb natriureticus különbség e két csoportban volt található *(Bencsáth* és mtsai, 1972). A cortico-medullaris Na-gradiens lényegében nem változott denerválás hatására (7. sz. ábra). Amint az várható volt, a gradiens csökkent a volumen expandált csoportokban, az egyetlen szignifikáns különbség azonban a két oldal között normál állatok külső medullájában jelentkezett.

Két külön csoportban, a velő Na-tartalmának meghatározásakor különbséget nem találtunk az innervált és denervált vesék között (8. sz. ábra). Említésre méltó, hogy hasonlóképpen nem volt különbség a víztartalomban sem.

A desympathisalt vesék *vizelet-osmolaritása* következetesen csökkentnek bizonyult. További kísérleteket végeztünk tehát, amelyekben a véráramlási distributio mérésével egyidejűleg a szöveti osmolaritast, urea- és Na-koncent-



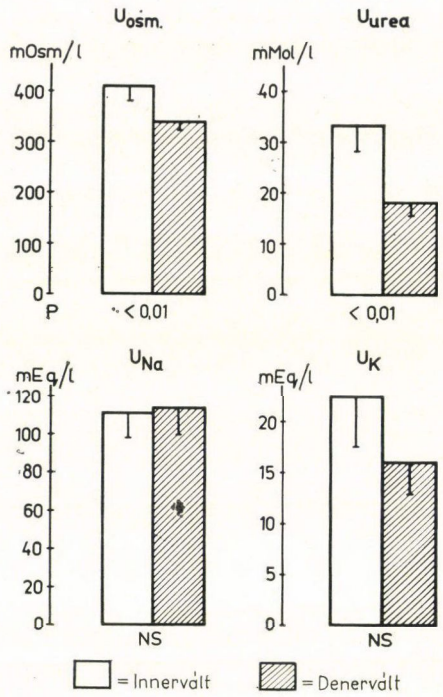
8. ábra: A szöveti Na-tartalom (és víztartalom) a denervált és innervált vesékben nem különbözött.

rációkat is meghatároztuk. Ezeket a kísérleteket mérsékelt sódiuresis létrehozása után indítottuk.

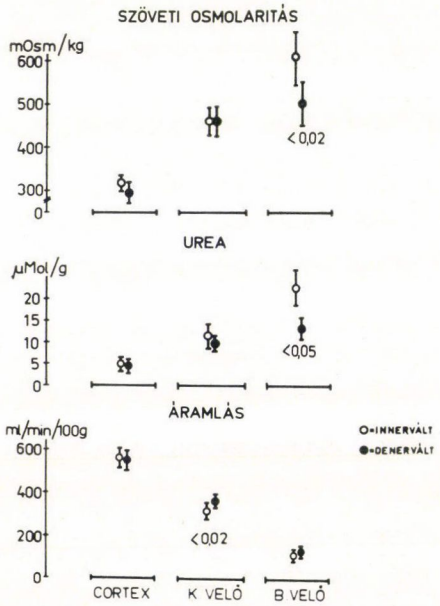
A denervatios diuresis és natriuresis a vizelet osmolaris és urea koncentrációinak szignifikáns csökkenésével járt együtt, míg az elektrolyt-koncentrációban eltérést nem találtunk (9. sz. ábra). Megjegyezni kívánjuk, hogy hydropenias és normál kutyákban a vizelet Na-koncentrációja is jelentősen fokozott volt a denervált oldalon.

A szöveti analysis adatait a 10. sz. ábra összegezi. A belső velő osmoticus és urea koncentrációja jelentősen csökkent, míg az előző eredményekhez hasonlóan, a véráramlás csak a külső velőben fokozódott. A szöveti Na koncentrációk (az ábrán nem tüntettük fel) nem különböztek.

Eredményeink azt bizonyítják, hogy splanchnicotomia a medullaris keringés többé-kevésbé jelentős fokozódását eredményezi. Kétségtelen azonban, hogy a denervatios natriuresis nem tekinthető egyszerűen e keringési változás



9. ábra: Splanchnicotomia után a vizelet-osmolaritas csökkenése az urea koncentráció megfeleződésével társul. Az elektrolyt-koncentrációk (ebben a csoportban) nem változtak.



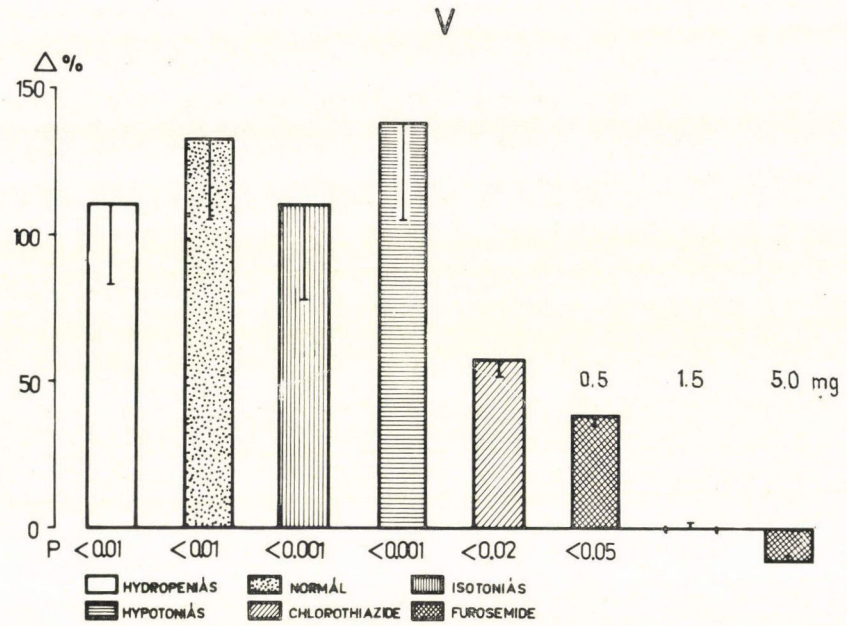
10. ábra: A szöveti osmolaritas szignifikáns különbsége a belső velőben a denervált vesék urea koncentrációjának jelentős csökkenéséből adódik. Az áramlás nem fokozott (közepes sóexpansió; a testsúly 4%-a).

eredményének. A legnagyobb víz- és sóürítési eltérések a legcsekélyebb áramlási különbségekkel jártak együtt. A vizelet osmolaritas csökkenésének oka elsősorban a belső velőben és a végleges vizeletben alacsonyabb *urea* koncentráció. Miután a véráramlás változatlan volt ebben a segmentumban, a splanchnicotomia tubularis hatására kell következtetnünk.

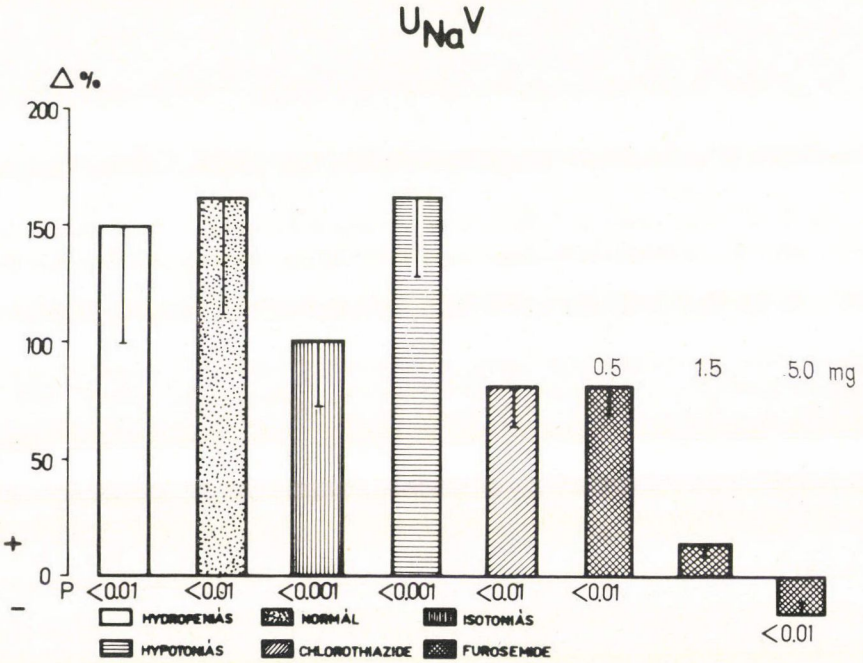
Kilcoyne és *Cannon* (1971) a thoracalis vena cava inferior acut beszűkítésekor a külső kérgi áramlás csökkenését észlelték; vesedenerválás felfüggesztette, de nem előzte meg az elváltozást. *Schrier* és *Humphreys* (1971) azt találták, hogy ebben a kóros állapotban adott sóinfusio natriureticus hatását hexamethonium és phenoxybenzamin részlegesen visszaállította, ugyanakkor a vese denerválását hatástalannak ítélték. *Judy* és mtsai (1971) megfigyelték, hogy isotoniás sóinfusio kapcsán a vese idegeinek elektromos activitása és a Na ürítés között fordított az összefüggés. A közelmúltban *Slick* és mtsai (1974) demonstrálták, hogy acut vena cava beszűkítéskor vesedenerválás, phenoxybenzamin vagy guanethidin útján provokált natriuresis nem magyarázható sem a szisztémás keringés, sem az intrarenalis haemodynamika, illetve a vesevéráramlás intrarenalis distributiojának változásaival. Eredményük jó összhangban van saját megfigyeléseinkkel és valóban, úgy tűnik, hogy a denervatios natriuresis mechanizmusában az intrarenalis keringés átrendeződésének legfeljebb másodlagos szerepe lehet.

További kísérleteinkben azt vizsgáltuk, hogy ún. *distalis diureticum-blokád* milyen hatással bír a desympathisatios natriuresisre. E vizsgálatokban chlorothiazidot és furosemidet adtunk intravénásan egyoldalon splanchnicotomisalt kutyáknak (*Bencsáth* és mtsai, 1971). 11. sz. ábránk mutatja, hogy a denervált vese előző sorozatokban talált natriureticus többlete — százalékos értékben kifejezve — 5,0 mg/kg chlorothiazid és 0,5 mg/kg furosemid adagra jelentősen csökken, majd 1,5—5,0 mg/kg furosemid hatásban teljesen eltűnik. Hasonlóképpen, a natrium ürítés százalékos különbsége is mérséklődik, majd megszűnik (12. sz. ábra), amint a Na-ürítés mindkét oldalt jelentősen emelkedik a drog hatására. Meg kell jegyeznünk, hogy chlorothiazid és a legkisebb dosis furosemid adásakor a relatív különbség mérséklődése mellett a denervatios diuresis és natriuresis abszolút értéke megnőtt. Ez az észlelés közvetve a splanchnicotomia proximalis tubularis hatására utal. A vese denerválása a filtratum proximalis reabsorptioját csökkentheti és a distalis diureticum blokád következtében ez a többlet — legalább is részben — a végleges vizeletbe kerülhet. Nagyobb dosisok ezt a hatást elfedhetik az igen intensív saluresis miatt. Megjegyezzük, hogy *Hart* és *Blake* (1967) masszív osmoticus terheléskor ugyancsak a denervatios jelenség eltűnését észlelték.

A vese denerválásának a víz- és natrium ürítésre gyakorolt hatását kutyákon és nyulakon vizsgálták. *Bencsáth* (1971) sikerrel reprodukálta a denervatios jelenséget altatott *patkányokon* is. Normál állapotú és isotoniás sóval terhelt patkányok ugyancsak jelentős diuresissel és natriuresissel rea-



11. ábra: Chlorothiazid és furosemid hatása a denervatios polyuriára. A hydropeniában, normál állapotban, iso- és hypotoniás sóexpansióban észlelt százalékos eltérés mérséklődik, majd eltűnik.



12. ábra: A denervatios natriuresis, mint százalékos exretios többlet, chlorothiazid és kis dosis furosemid hatásban mérséklődik, nagyobb adagra pedig megszűnik.

gáltak acut vese-denerválásra. A renalis sympathectomia tubularis támadáspontjának tisztázása céljából *Bencsáth*, *Bonvalet* és *de Rouffignac* (1971, 1972) *micropunctios* kísérleteket folytattak a Saclay-i laboratóriumban. Normál állapotú altatott patkányokban control clearance periódusokat és azok alatt megejtett tubulus-punctiokat a vese acut denerválása követte. Ez esetben a nn. splanchnici maior et minor átmetszése és az a. renalis proximalis harmadán az adventitia lefejtése jelentette a denerválást. A denervatios diuresis megjelenését követően azonos időtartamú periódusok következtek tubulus punctioval.

A vizelet változóit a 13. sz. ábra mutatja. A filtráció a control jobb és a denervált bal vesében nem különbözött, sympathectomia után (U/P) Na jelentősen fokozódott, (U/P) In csökkent. A percdiuresis kb. megkétszereződött, míg a natrium ürítés négyszeresére emelkedett.

A 14. sz. ábrából kitűnik, hogy denerválás után mind a *késői proximalis*, mind a *korai distalis* (TF/P) In érték szignifikánsan csökkent. Amint azt már előzőleg jeleztük, (U/P) In hasonlóképpen, szignifikánsan alacsonyabb volt.

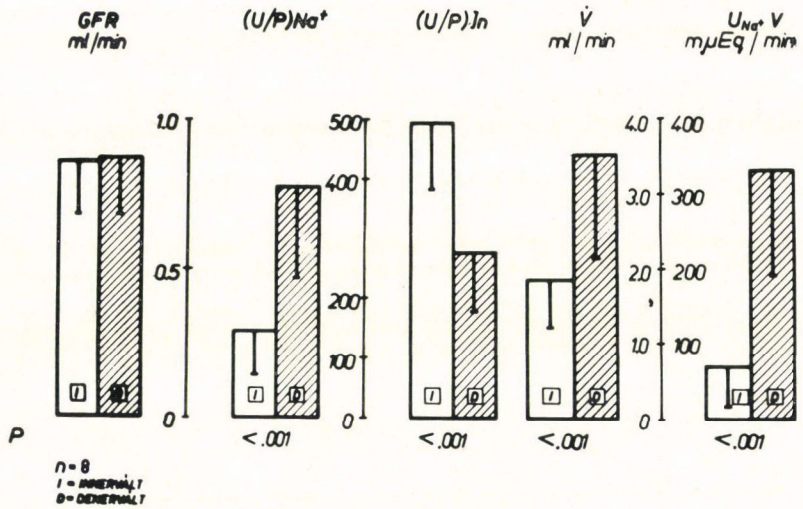
Blake (1962) vetette fel, hogy egy esetleges *intracorticalis GFR redistributio* a felületes kéreg irányába szerepet játszhat a denervatios jelenség létrejöttében. Ezen elgondolást alátámasztani látszottak *Blake* és *Jurf* (1968) és *Jurf* és *Blake* (1971) eredményei. A denervatios natriuresist nyúlban jelentősebb fokúnak találták, mint kutyában, és a szabadvíz resorptio is csökkent, ami kutyában szintén nem volt tapasztalható. Figyelembe véve a rövid Henle-kacsú felületes nephronok eloszlását a két speciesben, a filtráció-átrendeződés oki szerepére következtettek.

A problémát közvetlen módszerekkel *Bencsáth* és mtsai (1972) vizsgálták patkányokon. Az individualis nephron filtrációt a ^{14}C-ferrocyanid technikával, nephron-microdissectioval vizsgálták nondiureticus és isotoniás sóterhelt állatokon. A typusos denervatios diuresis és natriuresis ellenére a superficialis/-juxtamedullaris nephron filtráció viszonya nem változott sympathectomia után, azaz, GFR redistributio *nem volt* tapasztalható.

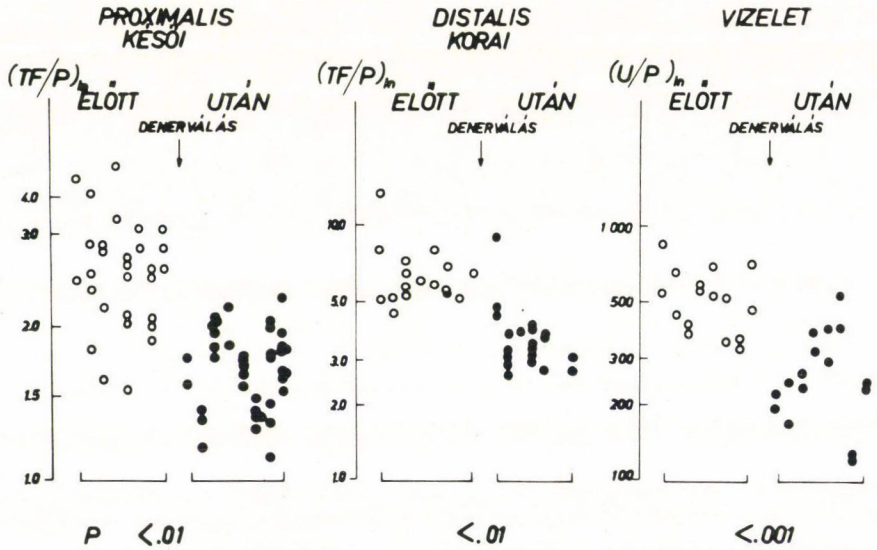
Újabb vizsgálatainkban *chronicus* denerválás hatásait tanulmányoztuk laboratóriumunkban, nondiureticus altatott patkányokon. A bal vesét — az előzőekhez hasonlóan — 1—2 héttel a micropunctios kísérletek előtt denerváltuk. Punctios controlként szigorúan azonos körülmények között tartott állatok innervált bal veséi szolgáltak. Második control az egyoldalon denervált patkányok ellenoldali veséje volt. A 15. sz. ábra demonstrálja, hogy a denervált vese filtrációja egyik controlétól sem tért el. (U/P) osm jelentősen csökkent, míg (U/P) Na nőtt a controlokhoz viszonyítva.

A két control között sem a vizelet, sem a Na ürítés nem különbözött. A denervált vesék azonban szignifikánsan több vizet és Na-t excretáltak, mint az innerváltak (16. sz. ábra).

A *késői proximalis* tubularis (TF/P) In éppúgy mint (U/P) In értéke a control punctios értékekhez viszonyítva lényegesen csökkent. Kiemelendő,



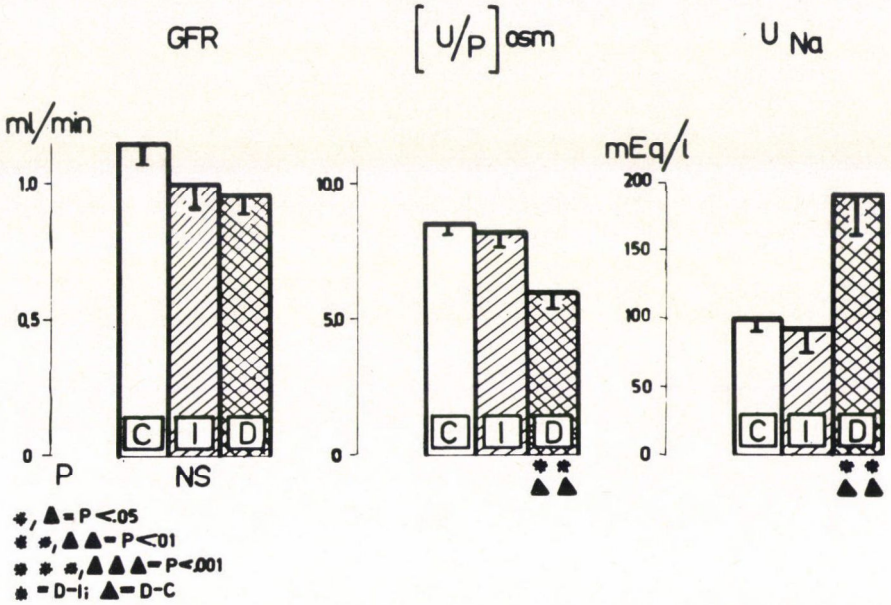
13. ábra: Acut vesedenerválás hatása patkányok víz és sóürítésére. A víz- és natrium-ürítés jelentős fokozódását a filtráció változása nem okozhatja.



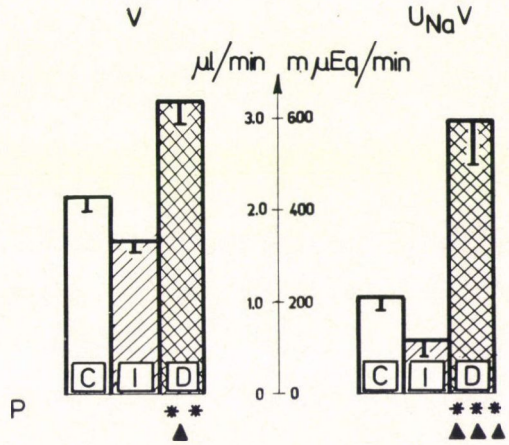
14. ábra: Acut denerválást követően mind a késői proximalis, mind a korai distalis TF/P In, valamint U/P In is jelentősen csökkennek.

hogy ennek mértéke az acut denerváláskor észlelt (TF/P) In mérséklődéshez hasonló (17. sz. ábra).

A kísérletek eredményeiből következik, hogy patkányban az acut vagy chronicus vesedenerválás a filtrátum *proximalis* tubularis reabsorptiójának 15—20%-os csökkenését eredményezi. A acut denerválás micropunctios vizsgálatának adataiból az is kiderül, hogy egyidejűleg a natrium medullaris kör-

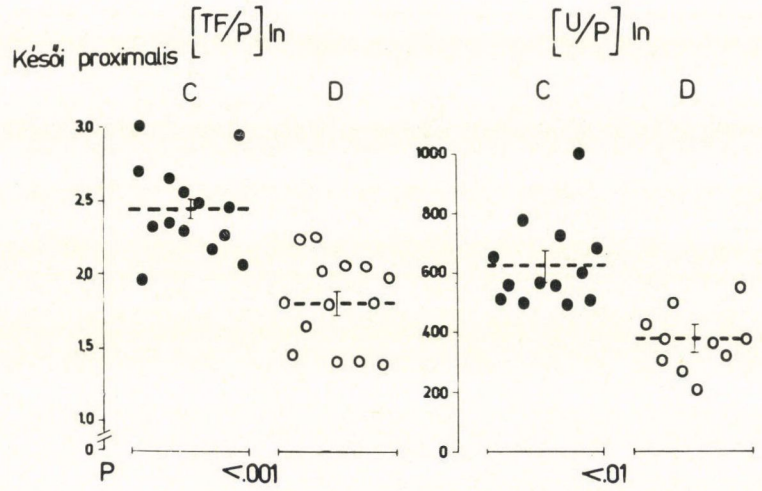


15. ábra: Chronicus denerválás után változatlan GFR mellett a vizelet osmolaritas csökken, a Na koncentráció pedig jelentősen emelkedik. C = control, mindkét oldalon innervált veséjű patkány, I = jobb-oldali innervált vese, D = bal-oldali denervált vese.

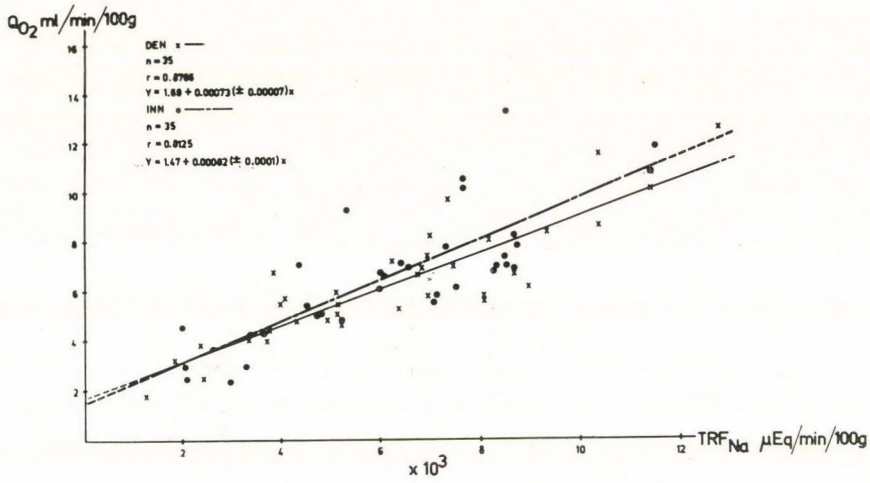


16. ábra: A denervatios diuresis és natriuresis patkányban chronikus beavatkozás után is jelentős.

forgása fokozódik. Mégis, a Henle-kacs functiojának readaptatioja nem tudja kompenzálni a proximalis resorptios depressiot és így végül is natriuresis keletkezik. Eredményeinket egyértelműen megerősíti *Slick* és mtsainak (1974) megfigyelése. A mellkasi vena cava inferior beszűkítése után végrehajtott vesedenerválás natriuresist okozott, a proximalis resorptio egyidejű gátlásával.



17. ábra Chronicus renalis sympathectomia a késői proximalis (TF/P) In és (U/P) In kifejezett csökkenését okozza.



18. ábra: Az oxygen felhasználás és a Na-resorptio között szignifikáns a korreláció innervált és denervált vesékben is. A regressios egyenesek meredeksége nem különbözik.

Fokozott Na-ürítést észleltek így akkor is, amikor a vérnyomás és a perctérfogat csökkent. Így nemcsak patkányban, hanem kutyában is közvetlen punctios eljárással bizonyított, hogy renalis sympathectomia a proximalis tubularis Na-transportot megváltoztatja.

Kísérleteinkben az intra- és peritubularis nyomásokat nem vizsgáltuk. Kétségtelen, hogy a peritubularis környezet nyomásviszonyainak esetleges megváltozása tisztázásra vár. Mégis, a glomerulusfiltráció, a vese véráramlás

és ezek intrarenalis eloszlásának változatlansága alapján valószínű, hogy ezek a nyomások sem változnak jelentősen.

A renalis sympathectomia proximalis tubularis támadáspontjának bizonyítása után felmerül a kérdés, hogy vajon az *aktív* Na-transport csökken-e, avagy a sejt *membrán-permeabilitás* változik meg. *Kramer* és *Deetjen* (1960), *Lassen* és mtsai (1961) alapvető vizsgálatai óta számos szerző megerősítette a ma már általánosan elfogadott tényt, hogy a vese oxygen felhasználása és a Na visszaszívódás között igen szoros kapcsolat van. A natrium transport változásának kérdését tehát úgy közelítettük meg, hogy meghatároztuk innervált és denervált vesék tubularis Na-resorptioját (TRF_{Na}) és oxygen fogyasztását (QO_2) normál állapotban, isotoniás sóexpansióban és furosemid adását követően altatott, egyoldalt splanchnicotomisált kutyákon. Denervatios natriuresis valamennyi állapotban észlelhető volt (*Szalay* és mtsai, 1974).

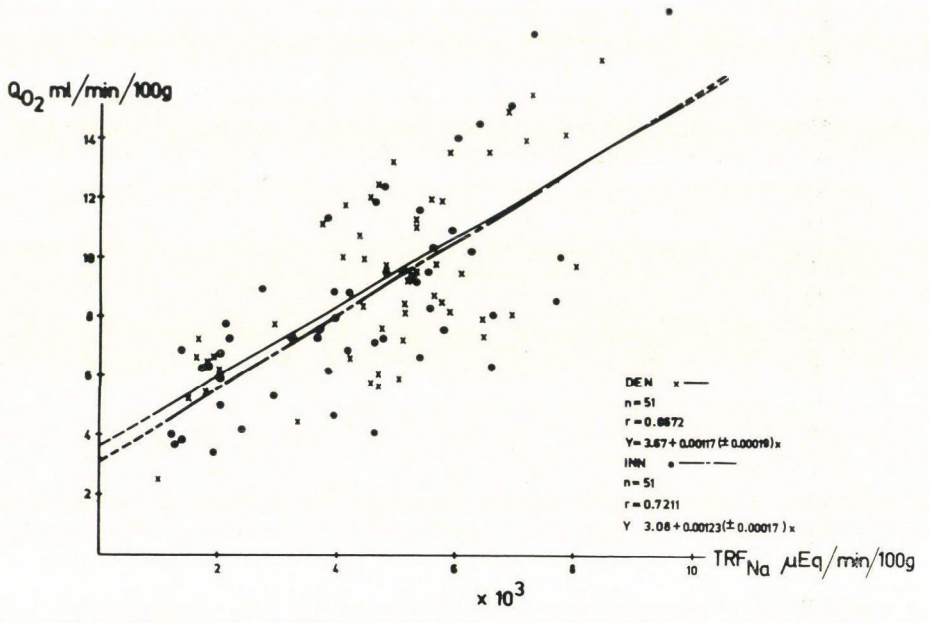
A 18. sz. ábra a tubularis natrium reabsorptio és az oxygen felhasználás viszonyát ábrázolja normál állapotú és sóexpandált kutyákban. A szignifikáns korreláció mellett az innervált és a denervált vesék között különbség nem volt található, azaz a regressios egyenesek meredeksége nem tért el. Hasonlót tapasztaltunk a furosemid-kezelt csoportban is (19. sz. ábra). Az előző csoporthoz viszonyítva a TRF_{Na}/QO_2 hányados értéke szignifikánsan csökkent, azonban a denervált és innervált vesékre vonatkozó regressios egyenesek meredeksége nem különbözött.

A resorbeált natrium és a felhasznált oxygen viszonyának változatlanságából arra következtethetünk, hogy vesedenerválás a natrium *activ* resorptioját csökkenti a proximalis tubulusban, és membránpermeabilitási változásoknak a jelenségben lényegesebb szerepük nincs.

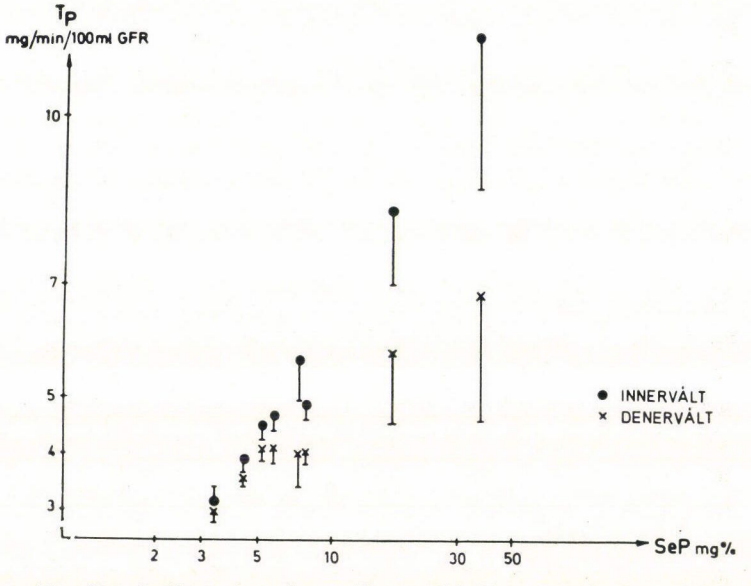
A denerválás proximalis tubularis támadáspontjának igazolása felveti a kérdést, hogy a renalis sympathectomia befolyásolhatja-e *más* anyagok proximalis transportját?

A kérdés tisztázását célzó kísérleteinkből *foszfátterhelés* hatásait összegezi a 20. sz. ábra. Foszfát növekvő dosisainak infusiojára a plasmakoncentráció olyan értékeket ért el, amelyeknél a tubularis resorptio maximális (T*m*). Szembetűnő, hogy a denervált vesék foszfát-resorptioja valamennyi plasma koncentrációnál szignifikánsan alacsonyabb. Ezen eredményünk azt demonstrálja, hogy a tubulusfunctio denerválást követő megváltozása egyéb reabsorptív folyamatokat is érinthet.

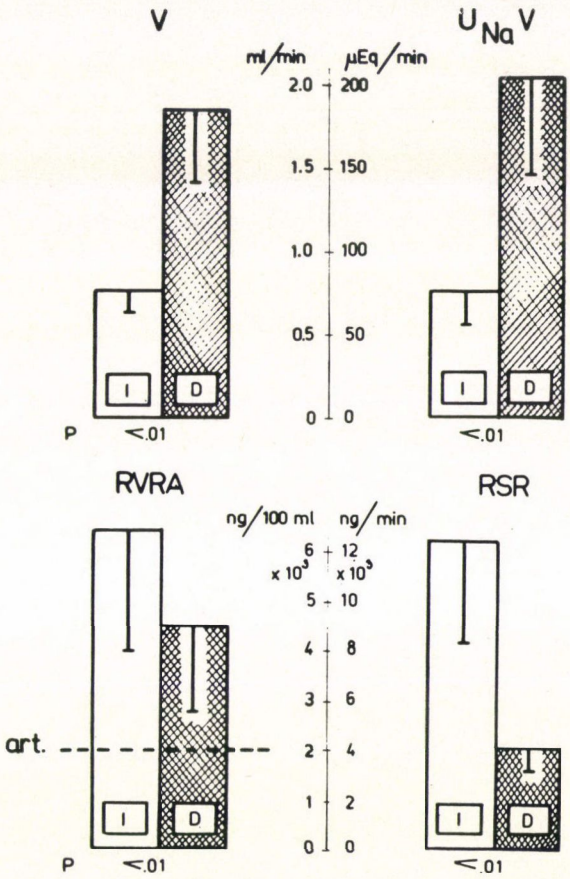
Vander és *Miller* (1964), *Tobian* (1965) és mások vizsgálatai alapján általánosan elfogadott, hogy a vese denerválása a *renin felszabadulás* csökkenését eredményezi. A különféle kísérleti elrendezések és eljárások tisztázták, hogy ez a hatás a vese haemodynamika változásaitól független. Miután a natrium ürítés és a renin felszabadulás egyaránt megváltozik a vese denerválása után, oki összefüggésük feltételezhető. További kísérleteinkben ezt a lehetőséget vizsgáltuk. Meghatároztuk kutyák innervált és denervált veséinek renin produc-



19. ábra: Furosemid a QO_2/TRF_{Na} hányadost mindkét oldalon egyaránt csökkenti.



20. ábra: Foszfátterhelés során a denervált vese kisebb resorptios kapacitása az összes plasma-PO_4 koncentrációknál szembetűnő.



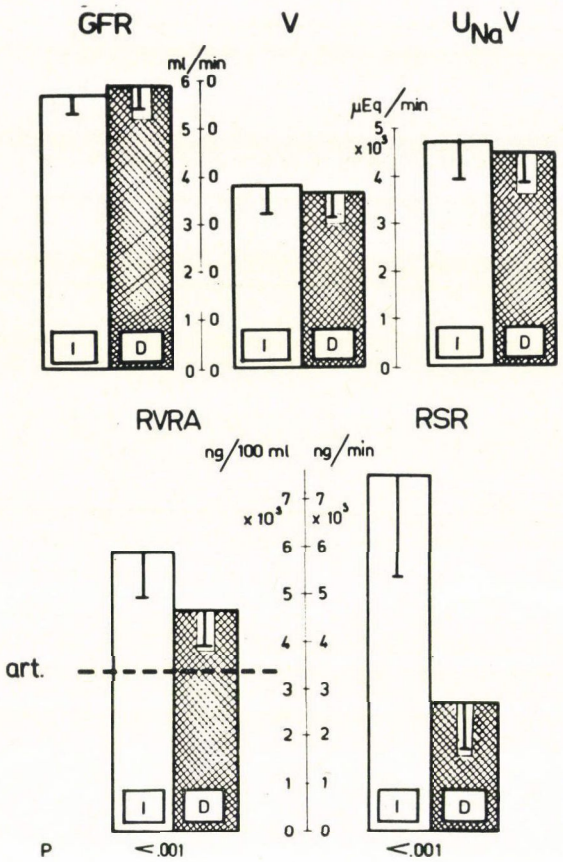
21. ábra: A denervatios diuresist és natriuresist a vese vénás vér plasma renin activitas (RVRA) és a renin secretio (RSR) suppressioja kíséri. art. = arteriás plasma renin activitas.

tioját (vese vénás vér plasma renin activitás és renin secretio) normál állapotban, isotoniás sóterhelésben és furosemid saluresisben (*Bencsáth* és mtsai, 1972; *Bencsáth* és mtsai, 1975).

A 21. sz. ábra mutatja, hogy a denervatios diuresis és natriuresis a plasma renin activitas és secretio jelentős csökkenésével jár együtt normál kutyákban. Hasonló volt a helyzet sóexpansio kapcsán is.

A furosemid csoport jellemzőit a 22. sz. ábra foglalja össze. A denervatios jelenség jellegzetes eltűnése GFR változások nélkül jött létre. Említésre méltó, hogy a filtráció a control periódusokban észleltektől nem tért el. A denervatios natriuresis eltűnését azonban nem kísérte a renin különbségek megszűnése. A plasma renin activitas alacsonyabb maradt és a secretio az innervált oldalénak mintegy harmada volt csak.

A filtrált natrium ürített fractiojában és a renin secretioban talált százalékos eltéréseket a 23. sz. ábrákon tüntettük fel. Így is jól látható, hogy a

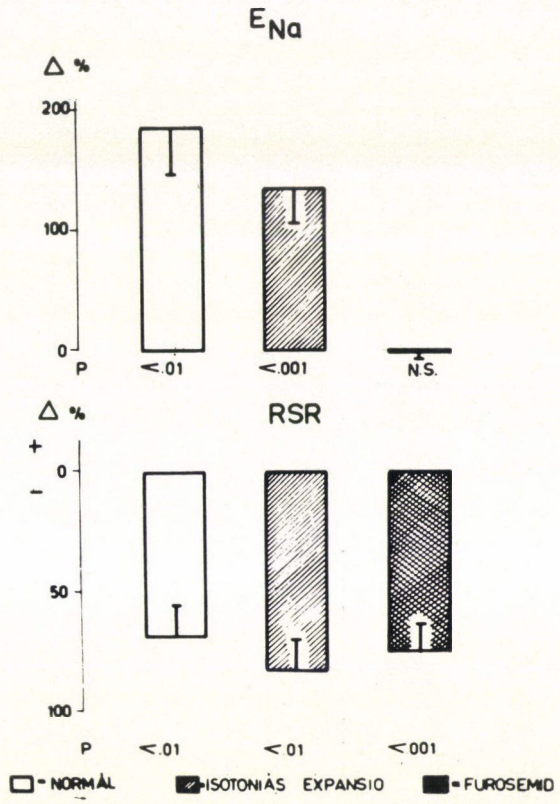


22. ábra: Furosemid (5 mg/kg) hatására a denervatios jelenség eltűnik, a renin-productióban azonban továbbra is szignifikáns depressio észlelhető.

normál állapotban és isotoniás sóexpansióban jelentős natriuresis eltűnése a renin secretio suppressioját lényegében nem befolyásolta.

Eredményeink azt bizonyítják, hogy a denervatios natriuresis és az egyidejűleg csökkent renin felszabadulás között *közvetlen oki* kapcsolat nincs. Egészen más natriureticus stimulust alkalmazva *Keeler* és *Hawkins* (1974) igazolták, hogy patkányban a preopticus laesiot követő natriuresis a plasma renin activitas változásaival nem függ össze.

Eredményeink nem nyújtanak információt arra vonatkozóan, hogy az adrenerg receptorok milyen módon vesznek részt a denerválást követő renin válaszban. Azt azonban igazolni látszanak, hogy a sympathectomia után csökkenő renin felszabadulás nem a macula densa-hoz kerülő Na és a juxtaglomerularis apparátus közötti kölcsönhatás, ún. tubulo-glomerularis feed-back következménye. Valószínűsíthető, hogy a Na tubularis resorptiojának és a

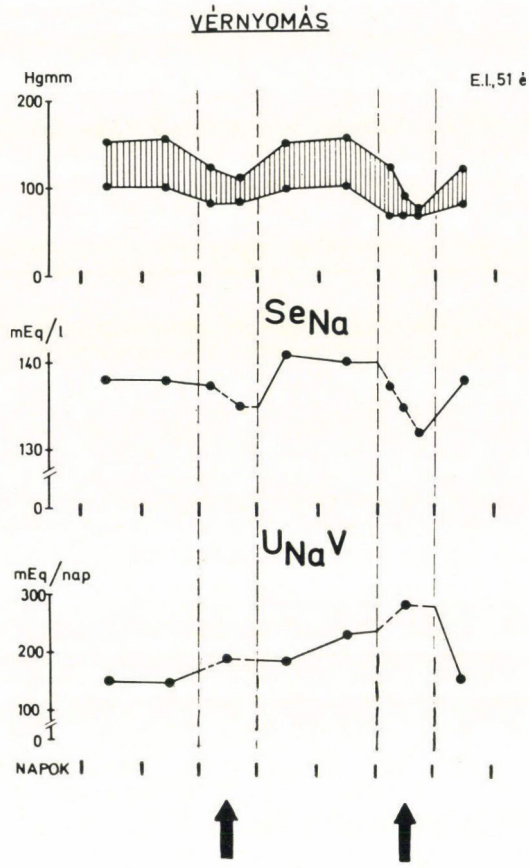


23. ábra: A tubularis Na-rejectio és a renin secretioban talált százalékos különbségek alakulása jól demonstrálja, hogy a denervatios natriuresis eltűnése nem vonja maga után a renin secretióban tapasztalt csökkenés megszűntét.

renin felszabadulásnak közös efferens sympathicus útja van, direkt kölcsönhatás azonban *nem* áll fenn közöttük.

A ritka *idiopathiás orthostaticus hypotoniában* jelentkező komplex autonom idegrendszeri zavar bizonyos szempontból vascularis és szöveti desympathisatio kórtani egységének is tekinthető. E betegek jellegzetesen fokozott natriuresissel válaszolnak sóinfusióra *(Parrish*, 1957, *Wagner*, 1959), amiért a csökkent tubularis resorptio felelős *(Shear*, 1963). Ugyanakkor Na-megvonás számos esetben nem eredményez sóvisszatartást. Exogen katecholaminokkal szembeni hypersensitivitas, alacsony keringő katechol-szint, a renin és aldosteron regulatio zavara, a mobilisatio hiánya velejárói lehetnek a kórképnek *(Kállay* és *Bencsáth*, 1970). Igen érdekes, hogy guanethidinnel kezelt fiatal egészséges emberek Na-megvonáskor továbbra is veszítenek sót, jóllehet az aldosteron excretioja fokozódik (*Gill* és *Bartter* 1966). Mindenesetre az idiopathiás orthostaticus hypotonia renalis részjelensége a denerválási hatásra emlékeztet.

Egy idiopathias orthostaticus hypotoniában szenvedő betegünk Na-



24. ábra: Idiopathias orthostaticus hypotonia. A Na-megvonás (↑, ↑, 10 mEq/nap bevitel) súlyos hypotensiot, a serum Na csökkenését provokálja, változatlan vagy enyhén emelkedett Na-excretio mellett.

megvonáskor észlelt válaszát demonstrálja a 24. sz. ábra. Egy napi sómegvonás — a bevitt mennyiség 10 mEq volt — fekvő állapotban is súlyos vérnyomás esést és a plasma Na drasztikus csökkenését okozta. Ugyanakkor, az ürített Na mennyisége lényegében nem változott. Megjegyezzük, hogy a hypotensiv episod reninválaszt egyáltalán nem provokált. Ez, a humán kórtanból vett példa is jól szemlélteti, hogy a sympathicus idegrendszernek és a vese-idegeknek jeletős szerepük lehet a vese natrium ürítésének szabályozásában.

Az irodalom adatait és saját kísérleti eredményeinket *összegezve* az alábbiakat állapíthatjuk meg:

i.) A vese idegeinek *intenzív* ingerlése és katecholaminok nagyobb dosisai Na-retentiot okoznak a vasoconstrictio miatt csökkenő GFR útján;

ii.) *Enyhe* idegizgatás vagy kis adag katecholamin a tubularis Na-resorptiot fokozza, *vese-denerválás* a transportot csökkenti *anélkül*, hogy akár a

teljes vese véramlás és/vagy glomerulus filtráció, akár a véráramlás és/vagy filtráció *intracorticalis* eloszlása,

akár a

kéreg-velői keringés *distributioja* módosulna.

iii.) A vese desympathisálása csökkenti a

— *natrium* és *egyéb anyagok* activ transportját a *proximalis* tubulusban;

— a *renin* secretio változása nincs közvetlen összefüggésben a *Na resorptio* csökkenésével.

Mindezekből a sympathicus adrenerg rendszer *direkt* és/vagy *mediált* tubularis hatására kell következtetnünk.

A kísérletek kivitelezését önzetlen és lelkes munkájukkal Vajda Dezsőné, Albert Karola, Asztalos Lajosné, Baráz Józsefné, Karai Antal, Kéri Gáborné, Kukucska János, Lulity István, Szerdahelyi Erika és Vártok József tették lehetővé. Munkájukért ezúton is köszönetünket fejezzük ki.

IRODALOM

Ábrahám, A.: in: Nierenfunction und Nervensystem. Ed. H. Dutz, Berlin, (1959).
Bahlmann, J., Giebisch, G., Ochwadt, B. és *Schoep, W.:* Amer. J. Physiol. **212,** 77 (1967).
Barajas, L.: Lab. Invest. **13,** 916 (1964).
Barajas, L. és *Müller, J.:* J. Ultrastruct. Res. **43,** 107 (1973).
Barger, A. C., Muldowney, F. P. és *Liebowitz, M. R.:* Circulation **20,** 273 (1959).
Barger, A. C., Herd, J. A. és *Sparks, H. V., Jr.:* Amer. Heart Ass. Monograph. **1,** 49 (1966).
Bálint, P., László, K. és *Szalay, Zs.:* Acta physiol. Acad. Sci. hung. **10,** 247 (1956).
Bálint, P., Fekete, A. és *Szalay, Zs.:* Acta physiol. Acad. Sci. hung. **10,** 263 (1956a).
Bálint, P. és *Fekete, A.:* Pflügers Arch. ges. Physiol. **268,** 168 (1958).
Bálint, P., Hajdu, A., Kiss, E. és *Sturcz, J.:* Kísérl. Orvostud. **10,** 536 (1958).
Bell, C. W. és *Lang, J.:* Nature, **246,** 27 (1973).
Bencsáth, P., Bonvalet, J. P. és *Rouffignac, C. de.:* Proc. of the IUPS, IX. 50 (1971).
Bencsáth, P., Szalay, L., Demeczky, L. és *Takács, L.:* Nephron, **8,** 329 (1971).
Bencsáth, P., Bonvalet, J. P. és *Rouffignac, C. de.:* Int. Symp. on Renal Handling of Sodium, 96 Karger, Basel (1972).
Bencsáth, P., Szalay, L., Debreczeni, L. A., Vajda, V., Takács, L. és *Fischer, A.:* Europ. J. clin. Invest. **2,** 422 (1972).
Bencsáth, P., Szalay, L. és *Takács, L.:* Orvostudomány, **23,** 279 (1972).
Bencsáth, P., Szalay, L. és *Takács, L.:* Közlés alatt (1975).
Bencsáth, P., Takács, L.: J. Physiol. **212,** 629 (1971).
Bernard, C. L.: Lecons sur les propriétés physiologiques et les altérations pathologiques des liquides de l'organisme. Paris: Baillere (1859).
Berne, R. M.: Amer. J. Physiol. **171,** 148 (1952).
Berne, R. M., Hoffman, W. K., Jr., Kagan, A. és *Levy, M. N.:* Amer. J. Physiol. **171,** 564 (1952).
Blake, W. D.: Amer. J. Physiol. **202,** 777 (1962).
Blake, W. D. és *Jurf, A. N.:* J. Physiol. (London) **196,** 65 (1968).
Bonjour, J. P., Churchill, P. C. és *Malvin, L.:* J. Physiol. (London) **204,** 571 (1969).
Boucher, R., Veyrat, R., Champlain, J. de és *Genest, J.:* Canad. med. Ass. J. **90,** 194 (1964).
Bratton, A. C. és *Marshall, E. K.:* J. biol. Chem. **128,** 537 (1939).
Bricker, N. S., Guild, W. R., Reardan, J. B. és *Merrill, J. P.:* J. clin. Invest. **35,** 1364 (1956).
Bricker, N. S., Straffon, R. A., Mahoney, E. P. és *Merrill, J. P.:* J. clin. Invest. **37,** 185 (1958).
Bunag, R. D., Page, I. H. és *McCubbin, J. W.:* Circulat. Res. **19,** 851 (1966).
Cacciaguda, R. J., Pablo, N. C., Basilio, R. D. és *Porush, J. G.:* Nephron, **11,** 58 (1973).
Cant, J. R. és *Vander, A. J.:* Fed. Proc. **32,** 353 (1973).
Carrière, S., Friborg, J. és *Guay, J.-P.:* Amer. J. Physiol. **221,** 92 (1971).
Coulombe, J. J. és *Favreau, L.:* Clin. Chem. **9,** 102 (1963).

Deutsch, G. és *Dreichlinger, O.:* Studii Cerc. stiint. Baza Timisoara **10,** 59 (1963).
Dresser, T. P., Lynch, R. E., Schneider, E. G. és *Knox, F. G.:* Amer. J. Physiol. **220,** 444 (1971).
Fenyvesi, T. és *Kállay, K.:* Acta physiol. Acad. Sci. hung. **38,** 159 (1970).
Fischer, A., Szécsény, A. és *Virányi, A.:* Acta physiol. Acad. Sci. hung. **10,** 57 (1956).
Fischer, A., Takács, L. és *Varga, S.:* Z. ges. exp. Med. **129,** 33 (1957).
Fiske, C. R. és *Subbarow, J.:* J. biol. Chem. **66,** 375 (1925).
Ganong, W. F.: Fed. Proc. **32,** 1782 (1973).
Gill, J. R. és *Bartter, F. C.:* New Engl. J. Med. **275,** 1466 (1966).
Gill, J. R., Jr. és *Casper, A. G. T.:* J. clin. Invest. **48,** 915 (1969).
Gill, J. R., Jr. és *Casper, A. G. T.:* J. clin. Invest. **50,** 112 (1971).
Gill, J. R., Jr. és *Casper, A. G. T.:* Amer. J. Physiol. **223,** 1201 (1972).
Gottschalk, C. W. és *Mylle, M.:* Amer. J. Physiol. **185,** 430 (1956).
Green, A. F. és *Sim, M. F.:* Brit. J. Pharmac. Chemother. **17,** 464 (1961).
Greven, J.: Naunyn-Schmied. Arch. Pharmacol. **282,** 171 (1974).
Hanssen, O. E.: Proc. Intern. Congr. Nephrol. 2nd, Prague 527 (1963).
Harrison, H. E.: Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.) **49,** 111 (1942).
Hársing, L. és *Pelley, K.:* Pflügers Arch. ges. Physiol. **285,** 302 (1965).
Hársing, L., Bartha, J., Harza, T. és *Pelley, K.:* Acta physiol. Acad. Sci. hung. **30,** 215 (1966).
Hart, W. M. és *Blake, W. D.:* Fed. Proc. **26,** 548 (1967).
Hollenberg, N. K., Adams, D. F., Mendell, P., Abrams, H. L. és *Merrill, J. P.:* Clin. Sci. Mol. Med. **45,** 733 (1973).
Johnson, J. A., Davis, J. P. és *Witty, R. T.:* Circulat. Res. **29,** 646 (1971).
Judy, W. F., Thompson, J. R. és *Wilson, M. F.:* The Physiologist **14,** 3 (1971).
Jurf, A. N. és *Blake, W. D.:* Proc. Soc. exp. Biol. Med. **138,** 1078 (1971).
Kállay, K. és *Bencsáth, P.:* Orvostud. Akt. Probl. **2,** 111 (1970).
Kamm, D. E. és *Levinsky, N. G.:* J. clin. Invest. **44,** 93 (1965).
Kaplan, S. A., West, S. D. és *Fomon, S. J.:* Amer. J. Physiol. **175,** 363 (1953).
Keeler, R.: Canad. J. Physiol. Pharmacol. **50,** 561 (1972).
Keeler, R. és *Hawkins, T. L.:* Canad. J. Physiol. Pharmacol. **52,** 123 (1974).
Kilcoyne, M. M. és *Cannon, P. J.:* Amer. J. Physiol. **220,** 1220 (1971).
Klisiecki, A., Pickford, M., Rotschild, P. és *Verney, E. B.:* Proc. Roy. Soc. B. **112,** 496 (1933).
Kramer, K. és *Deetjen, P.:* Pflügers Arch. ges. Physiol. **271,** 782 (1960).
Lackner, L. H. és *McKay, M.:* Invest. Urol. **9,** 39 (1971).
La Grange, R. G., Sloop, C. H. és *Schmid, H. E.:* Circulat. Res. **33,** 704 (1973).
Lassen, N. A., Munck, O. és *Thaysen, J. H.:* Acta physiol. scand. **51,** 371 (1961).
MacFarlane, D. M.: Amer. J. Physiol. **218,** 851 (1970).
Maluf, N. S. R.: Amer. J. Physiol. **139,** 103 (1943).
Marshall, E. K. és *Kolls, A. C.:* Amer. J. Physiol. **49,** 302 (1919).
McKenna, O. C. és *Angelakos, E. T.:* Circulat. Res. **23,** 645 (1968).
Michaelis, L. L. és *Gilmore, J. P.:* Ann. Surg. **175,** 424 (1972).
Morel, F. és *Lucarain, C.:* J. Physiol. (Paris) **59,** 460 (1967).
Müller, J. és *Barajas, L.:* J. Ultrastruct. Res. **41,** 533 (1972).
Ninomiya, I., Irisawa, A. és *Nisimaru, N.:* Amer. J. Physiol. **224,** 256 (1973).
Nizet, A.: Pflügers Arch. ges. Physiol. **297,** 156 (1967).
Parrish, A. E., Kleh, J. és *Fazekas, J. F.:* Amer. J. Med. Sci. **233,** 35 (1957).
Pintér, G. G., O'Morchoe, C. C. C. és *Sikand, R. S.:* Amer. J. Physiol. **207,** 979 (1964).
Pomeranz, B .H., Birtch, A. G. és *Barger, A. C.:* Amer. J. Physiol. **215,** 1067 (1968).
Ramsay, J. A. és *Brown, R. H. J.:* J. Sci. Instr. **32,** 372 (1955).
Rector, J. B., Stein, J. H., Bay, W. H., Osgood, R. W. és *Ferris, T. F.:* Amer. J. Physiol. **222,** 1125 (1972).
Rhoads, C. P., van Slake, D. D., Hiller, A. és *Alving, A. S.:* Amer. J. Physiol. **110,** 392 (1934).
Richardson, D., Stella, A., Leonetti, G., Bartorelli, A. és *Zanchetti.:* Circulat. Res., **34,** 425 (1974).
Rouffignac, C. de és *Bonvalet, J. P.:* Pflügers Arch. ges. Physiol. **317,** 141 (1970).
Sartorius, O. W. és *Burlington, H.:* Amer. J. Physiol. **185,** 407 (1956).
Schrier, R. W. és *Humphreys, M. H.:* Circulat. Res. **29,** 479 (1971).
Shear, L.: New Engl. J. Med. **268,** 347 (1963).
Slick, G. L., Di Bona, G. F. és *Kaloyanides, G.:* Amer. J. Physiol. **226,** 925 (1974).
Smith, H. W.: The Kidney, N. Y. (1951).
Stein, J. H., Osgood, R. W. és *Ferris, T. F.:* Proc. Soc. exp. Biol. Med. **141,** 901 (1972).
Stein, J. H., Reineck, J. H., Osgood, R. W. és *Ferris, T. F.:* Amer. J. Physiol. **220,** 227 (1971).
Stinson, J. M., Barnes, A. B., Zakheim, R. M., Chimoskey, J. E. és *Spinelli, F. R., Barger, A. C.:* Amer. J. Physiol. **217,** 239 (1969).

Strandhoy, J. W., Schneider, E. G., Willis, L. R. és *Knox, F. G.:* J. Lab. clin. Med. **83,** 263 (1974).
Surtshin, A., Mueller, C. B. és *White, H. L.:* Amer. J. Physiol. **169,** 159 (1952).
Szalay, L., Bencsáth, P. és *Takács, L.:* Pflügers Arch. **349,** 359 (1974).
Takács, L. és *Bencsáth, P.:* Life Sci. **6,** 2573 (1967).
Takács, L., Bencsáth, P. és *Demeczky, L.:* Acta physiol. Acad. Sci. Hung. **39,** 283 (1971).
Tobian, L., Braden, M. és *Maney, J.:* J. Lab. clin. Med. **64,** 1011 (1964).
Vander, A. J.: Amer. Heart Ass. Monograph **13,** 126 (1965).
Vander, A. J. és *Miller, R.:* Amer. J. Physiol. **207,** 537 (1964).
Vandongen, R., Peart, W. S. és *Boyd, G. W.:* Circulat. Res. **32,** 290 (1973).
Wagermark, J., Ungerstedt, U. és *Ljunquist, A.:* Circulat. Res., **22,** 149 (1968).
Wagner, H.: Bull. J. Hopkins Hosp. **105,** 322 (1959).
Willis, L. R. és *Knox, D. G.:* Fed. Proc. **31,** 584 (1972).

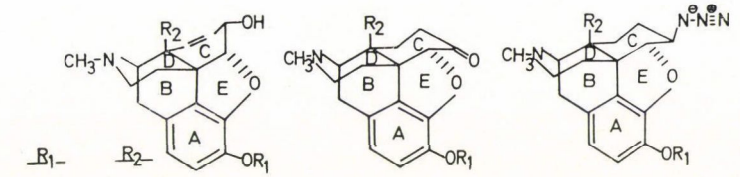
Semmelweis Orvostudományi Egyetem Gyógyszertani Intézet, Budapest és Debreceni Kossuth Lajos Tudományegyetem Szerves Kémiai Tanszék

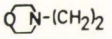
AZ AZIDOMORFIN ÉS SZÁRMAZÉKAINAK HATÁSA A KERINGÉSRE, LÉGZÉSRE ÉS A KÖHÖGÉSRE

KNOLL JÓZSEF az MTA levelező tagja, MAKLEIT SÁNDOR, a kémiai tudományok doktora, FRIEDMANN TAMÁS, HÁRSING LÁSZLÓ GÁBOR és HADHÁZY PÁL az orvostudományok kandidátusa

Közlésre érkezett: 1975. II. 5.

Korábbi közleményeinkben ismertettük a 6-deoxi-6-azido-dihidroizomorfin (azidomorfin, AM) és a 6-deoxi-6-azido-dihidroizokodein (azidokodein, AK) erős fájdalomcsillapító hatását, valamint tartós adagolásuk során kialakuló szokatlanul alacsony toleranciát és dependenciát (Knoll 1973, Knoll és mt. 1971, 1973/a, b, 1974). Alábbiakban az azidomorfin, azidokodein és néhány újonnan előállított azidomorfin származék légzésre, köhögésre, valamint keringésre kifejtett hatását foglaljuk össze. Az 1. ábra mutatja az azidomorfinok kémiai szerkezetét néhány ismert morfin alkaloidával összehasonlítva.



R_1	R_2			
H	H	Morfin	Dihidromorfinon	Azidomorfin
H	OH	—	14-OH-dihidromorfinon	14-OH-azidomorfin
CH_3	H	Kodein	Dihidrokodeinon	Azidokodein
CH_3	OH	—	14-OH-dihidrokodeinon	14-OH-azidokodein
C_2H_5	H	Etilmorfin	—	Azidoetilmorfin
	H	Folkodin	—	Azidofolkodin

1. ábra: A vizsgált vegyületek kémiai szerkezete.

Módszerek

Köhögéscsillapító hatás vizsgálata. A köhögéscsillapító hatást mindkét nemű, 130—180 gr súlyú Wistar patkányokon, Gösswald (1958) módszerével határoztuk meg. Az állatokat egyenként 23 ×22 ×11 cm méretű plexikamrába helyeztük, amelyen egyenletes sebességgel (0,1 ml/sec) 10%-os citromsav aerosolt áramoltattunk át. Mértük a köhögés kiváltásának latencia idejét a vizsgált anyag beadása előtt és után. Az állatok kontroll latencia ideje 29.41±9,61 (S.E.) sec volt, amelyet 18 órával az anyag beadása előtt határoz-

tunk meg (60 sec-nál hosszabb latencia időt mutató állatokat nem használtunk.). 100%-os hatásnak vettük, ha az anyag beadása után 30, ill. 60 perc múlva a latencia idő meghaladta a 90 sec-ot. Ennek alapján dózishatásgörbéket vettünk fel és Litchfield—Wilcoxon (1949) módszerével meghatároztuk a köhögéscsillapító ED50 és a 95%-os konfidencia limit értékeket. Kísérleteinkben egy dózist 10 állaton vizsgáltunk s. c. és orális adagolás mellett.

Altatott macskán a vizsgált vegyületek köhögéscsillapító hatását Domenjoz (1952) módszerével határoztuk meg. 2—4 kg súlyú vegyesnemű macskákon 30 mg/kg pentobarbitál i. p. adásával felületes narkózist hoztunk létre és köhögést váltottunk ki a kipreparált nervus laryngeus superior elektromos ingerlésével. Az ingerlés paraméterei: frekvencia 10 Hz, feszültség 5—10 V, impulzusszélesség 1 msec, az ingerlés időtartama 10 sec. Az állat fejére maszkot húztunk és a köhögési amplitudót Marey-dobbal, kimográfon regisztráltuk. A vizsgált vegyületeket intravénásan, növekvő dózisban adagoltuk. Meghatároztuk a vizsgált anyagok azon kumulatív dózisát, amelynél a nervus laryngeus superior elektromos ingerlésére köhögési választ nem kaptunk. Ezt tekintettük a köhögéscsillapítás effektív dózisának (AtD 100). Mértük kontrollban és minden dózis után a köhögés amplitudóját, amelynek %-os csökkenésével dózishatásgörbét vettünk fel, majd Litchfield—Wilcoxon szerint meghatároztuk azt a dózist, amely a köhögés amplitúdóját 50%-kal csökkentette (AtD 50).

Légzésre kifejtett hatás vizsgálata. 2—4 kg súlyú vegyesnemű macskákat i. p. 30 mg/kg pentobarbitállal altattunk. Az állat fejére maszkot húztunk, amelyet Ambu-E ventilszeleppel kötöttünk össze. A szelep kilégző ágához Krogh-készüléket csatlakoztattunk és a kilégzési volument forgó kimográfon regisztráltuk. A regisztrátumból számítottuk a légzési frekvenciát, a respirációs levegőt és a légzési perctérfogatot. Vizsgáltuk, hogy a vegyületek köhögéscsillapító dózisa ((AtD 100) hogyan változtatja a légzési paramétereket.

Keringésre kifejtett hatás vizsgálata. Intraperitoneálisan adott 35 mg/kg pentobarbitállal altatott macskán mértük a vegyületek vérnyomásra kifejtett hatását. A vizsgált anyagokat a vena femoralisba kötött kanülön át adtuk be. A vérnyomás változását higanyos manométerrel mértük és kimográfon regisztráltuk. Mivel a morfin vérnyomáscsökkentő hatása ismételt adagolás után csökken (Nasmyth és mt. 1950) az első adag hatását értékeltük.

Alkalmazott vegyületek. Codein HCl, azidocodein bitartarát, 14-OH-azidocodein bitartarát, dihydrocodeinon (hydrocodon) bázis, 14-OH-dihydrocodeinon (oxycodon) bázis, morphin HCl, azidomorphin bitartarát, 14-OH-azidomorphin bitartarát, dihydromorphinon (hydromorphon) bázis, 14-OH-dihydromorphinon (oxymorphon) bázis, ethylmorphin HCl, azidoethylmorphin bitartarát, pholcodin bázis, azidopholcodin bázis (Alkaloida, Tiszavasvári). A vizsgált vegyületek hatékonyságát bázisra vonatkoztattuk. A bázisokat 5%-os foszforsavban oldottuk és az oldat pH-ját NaOH-val 6—7-re állítottuk be.

Eredmények

Köhögéscsillapító hatás. Az 1. és 2. táblázat mutatja a vizsgált vegyületek hatékony köhögéscsillapító dózisát patkányon és macskán. A vizsgált vegyületek köhögéscsillapító hatása dózisfüggőnek bizonyult. 0,25—0,5 mg/kg nalorfin antagonizálta az összes vizsgált vegyület köhögécsillapító hatását. Az 1. és 2. táblázatból kitűnik, hogy az azidomorfinok a leghatásosabb köhögéscsillapítók az eddig ismert félszintetikus morfinszármazékok között.

1. táblázat

Az azidomorfinok és néhány ismert morfin-származék köhögéscsillapító hatása patkányon

Vegyületek	ED 50 mg/kg s. c.		Kodeinre vonatkoztatott hatékonyság
Kodein	19,0	(15,08—23,94)	1,00
Hidrokodon	0,90	(0,61—1,37)	21,11
Oxikodon	1,40	(1,15—1,71)	13,57
Azidokodein	1,57	(1,20—2,41)	12,10
14-OH-azidokodein	0,82	(0,71—0,95)	23,17
Morfin	3,00	(1,84—4,25)	6,33
Hidromorfon	0,26	(0,22—0,30)	73,07
Oximorfon	0,058	(0,052—0,065)	327,58
Azidomorfin	0,034	(0,023—0,049)	558,82
14-OH-azidomorfin	0,021	(0,013—0,035)	904,76
Etilmorfin	34,4	(27,31—43,34)	0,55
Azidoetilmorfin	3,5	(2,37—5,18)	5,42
Folkodin	30,00	(20,00—45,00)	0,63
Azidofolkodin	4,5	(23,04—6,66)	4,22
Oximetebanol	7,0	(4,93—9,94)	2,71

Vegyületek	ED 50 mg/kg p . os		Kodeinre vonatkoztatott hatékonyság
Kodein	100,0	(66,67—150,00)	1,00
Hidrokodon	16,0	(8,89—28,80)	6,25
Oxikodon	3,5	(2,08—5,88)	28,57
Azidokodein	2,5	(1,69—3,70)	40,00
14-OH-azidokodein	3,2	(2,00—5,12)	31,25
Morfin	74,0	(51,03—107,30)	1,35
Hidromorfon	17,5	(13,46—22,75)	5,71
Oximorfon	14,0	(11,45—15,38)	7,14
Azidomorfin	9,0	(4,74—17,01)	11,11
14-OH-azidomorfin	10,0	(7,40—13,50)	10,00
Etilmorfin	103,2	(92,14—152,22)	0,97
Azidoetilmorfin	1,67	(1,14—2,44)	59,88
Folkodin		—	—
Azidofolkodin	460,0	(396,60—533,60)	0,22
Oximetebanol	24,0	(17,80—32,40)	3,33

Zárójelben a 95%-os konfidencia limit értékek.

2. táblázat

Az azidomorfinok és néhány ismert morfin-származék köhögéscsillapító hatása macskán

Vegyületek	AtD 50 mg/kg i. v.	Kodeinre vonatkoztatott hatékonyság	AtD 100 mg/kg i. v. (±S. E.)	Kodeinre vonatkoztatott hatékonyság
Kodein	1,45	1,00	5,07±1,87	1,00
Hidrokodon	0,20	7,25	0,56±0,07	9,05
Oxikodon	0,20	7,25	0,44±0,07	11,52
Azidokodein	0,40	3,63	1,08±0,04	4,69
14-OH-azidokodein	0,60	2,42	1,74±0,07	2,91
Morfin	0,61	2,38	1,28±0,32	3,96
Hidromorfon	0,026	55,76	0,064±0,001	79,21
Oximorfon	0,018	80,55	0,032±0,005	158,43
Azidomorfin	0,006	241,66	0,018±0,002	281,66
14-OH-azidomorfin	0,012	120,83	0,020±0,002	253,50
Etilmorfin	2,58	0,56	8,32±1,56	0,61
Azidoetilmorfin	0,54	2,69	0,84±0,29	6,03
Folkodin	8,8	0,16	12,7±1,41	0,40
Azidofolkodin	2,0	0,73	3,5±0,48	1,45

3. táblázat

Az azidomorfinok és néhány ismert morfin-származék köhögéscsillapító dózisainak (AtD100) hatása a légzésre altatott macskán

Vegyületek	$\frac{\text{Légzési frekvencia}_{AtD_{100}}}{\text{Légzési frekvencia}_{kontroll}}$	$\frac{\text{Respirációs levegő}_{AtD_{100}}}{\text{Respirációs levegő}_{kontroll}}$	$\frac{\text{Légzési perctérfogat}_{AtD_{100}}}{\text{Légzési perctérfogat}_{kontroll}}$
Kodein	0,82±0,03[1]	0,83±0,03[1]	0,70±0,04[1]
Hidrokodon	0,90±0,05	0,93±0,03	0,84±0,05[1]
Oxikodon	0,84±0,05[1]	0,91±0,04	0,78±0,07[1]
Azidokodein	0,82±0,09	0,97±0,13	0,81±0,14
14-OH-azidokodein	0,88±0,05[1]	0,93±0,08	0,67±0,07[1]
Morfin	0,78±0,07[1]	0,79±0,06[1]	0,62±0,07[1]
Hidromorfon	1,09±0,12	0,80±0,07[1]	0,85±0,08
Oximorfon	0,92±0,10	0,99±0,23	0,91±0,12
Azidomorfin	0,94±0,06	0,97±0,05	0,93±0,06
14-OH-azidomorfin	0,91±0,10	1,02±0,15	0,88±0,08
Etilmorfin	0,85±0,02	0,72±0,24	0,65±0,14
Azidoetilmorfin	0,95±0,10	0,91±0,05	0,88±0,13
Folkodin	1,17±0,07	0,90±0,06	1,05±0,04
Azidofolkodin	1,15±0,13	0,88±0,06	1,02±0,16

Átlag ± S. E., N = 5, [1] $p < 0,05$ (Student- féle 1 mintás t teszt).

A légzésre kifejtett hatás. A 3. táblázat mutatja az alkaloidák légzésre kifejtett hatását altatott macskán. Köhögéscsillapító dózisban az azidomorfinok, kivéve a 14-OH-azidokodeint, nem befolyásolták a légzési paramétereket. A nyolc azidocsoportot nem tartalmazó vegyület közül öt szignifikánsan deprimált legalább egy légzési paramétert.

A vérnyomásra kifejtett hatás. A vizsgált vegyületek, az azidokodein és a 14-OH-azidokodein kivételével, a vérnyomást csökkentették (4. táblázat).

4. táblázat

Az azidomorfinok, morfin és kodein hatása a vérnyomásra altatott macskán

Vegyületek	I. v. dózis mg/kg	Vérnyomás, Hgmm átlag ± S. E.		Vérnyomás csökkenés Hgmm	Kísérletek száma
		kezelés			
		előtt	után		
Morfin	1,03	130±1,3	92±1,0	39±2,1	4
Azidomorfin	0,035	143±1,9	103±9,3	40±3,4	4
14-OH-azidomorfin	0,035	142±3,8	97±4,5	45±5,8	5
Kodein	1,5	126±6,1	98±5,3	26±4,9	4
Azidokodein	0,5	128±7,5	122±5,2	6±3,8	4
14-OH-azidokodein	0,5	129±7,5	126±6,6	3±1,3	4

A vérnyomáscsökkenés, mely 1—2 perc alatt érte el maximumát 26 és 45 Hgmm között változott. A kísérletek többségében a vérnyomás 10—20 perccel az anyag beadása után emelkedett, az eredeti értékre azonban csak ritkán állt vissza. Néhány kísérletben a kezdeti vérnyomáscsökkenés, ill. emelkedés a kísérlet folyamán nem változott. Ismételt adagolásnál a vazodepresszor válaszhoz gyors tolerancia alakult ki. A morfin, kodein, azidomorfin és 14-OH-azidomorfin között kereszttolerancia mutatkozott.

A morfin bifázisos vérnyomáscsökkenést okozott. Beadása után a vérnyomás hirtelen csökkent, majd 1 perc elteltével a vérnyomás kissé emelkedett és hosszú ideig ezen a szinten maradt. A morfin vérnyomáscsökkentő hatásának gyors fázisához tolerancia nem alakult ki. Ismételt injekciók után a vérnyomáscsökkenés nem volt bifázisos jellegű.

Az eredmények megbeszélése

A morfin és kodein kísérleteinkben mért köhögéscsillapító dózisai jól egyeznek az irodalmi adatokkal (Friebel és mt. 1956, Green és mt., 1955, Kobayashi és mt., 1970). Az 1. és 2. táblázat adatai mutatják, hogy a fenantrén vázban a C7—C8 kettős kötés hidrálása és a 6-os szénatomon az alkoholos hidroxil csoport keto csoporttá való oxidálása a köhögécsillapító hatást patkányon és macskán egyaránt jelentősen növeli. Kísérleteink alátámasztják korábbi következtetésünket, mely szerint a 6-os szénatomra vitt azidocsoport a hatáserősség számottevő növekedéséhez vezet. Az azidomorfinok közül terápiás szempontból az azidoetilmorfin és az azidokodein mutatkoznak igéretesnek, amelyek a leghatásosabb köhögéscsillapítónak bizonyultak orális adagolásnál. Az azidoetilmorfint a kodeinnál 60-szor hatásosabbnak találtuk patkányon (1. táblázat), ez a vegyület az eddig ismert leghatásosabb orális köhögéscsillapító.

Kobayashi és mt. (1970) által kidolgozott oxymethebanol, egy új félszintetikus tebainszármazék, különösen i. v. adagolás esetén hatékony

köhögéscsillapítónak bizonyult állatkísérletekben. Az 1. táblázat mutatja, hogy az azidoetilmorfin s. c. adagolásnál 2-szer, orális bevitelnél 14-szer bizonyult hatásosabbnak, mint az oxymethebanol.

Az azidomorfinok légzésre kifejtett hatása előnyösnek látszik; köhögéscsillapító dózisban a 14-OH-azidokodein kivételével nem befolyásolják a légzást macskán. A morfin, kodein, dihidrokodeinon, 14-OH-dihidrokodeinon, dihidromorfinon szignifikáns légzésdepressziót hozott létre ekvipotens dózisban.

Az i. v. adott morfin vérnyomáscsökkentő hatásában szerepet játszhat a vazomotor központ depressziója (Nasmyth és mt., 1950), a bőr és izom ereinek dilatációja (Schmidt és mt., 1933) és a hisztamin felszabadítás (Feldberg és mt., 1950). Azidomorfin, 14-OH-azidomorfin, morfin és kodein hasonló hatása, valamint a közöttük kifejlődő kereszt-tolerancia arra utal, hogy vérnyomáscsökkentő hatásuk közös mechanizmussal jön létre. Nem tudjuk magyarázni, hogy az azidokodein és a 14-OH-azidokodein miért nem okoz vérnyomásesést.

Összefoglalás

Az azidomorfin, azidokodein és néhány újonnan előállított azidoszármazék (azidoetilmorfin, azidofolkodin, 14-OH-azidokodein és 14-OH-azidomorfin) köhögéscsillapító hatását mértük patkányon és macskán. Az azidomorfinok köhögéscsillapító hatását morfin, kodein és hat különböző félszintetikus morfin alkaloida hatáserősségével hasonlítottuk össze. Patkányon s. c. adagolásnál az azidomorfin 558-szor, a 14-OH-azidomorfin 904-szer bizonyult hatásosabbnak, mint a kodein. Macskán i. v. adásnál az azidomorfin 281-szer, a 14-OH-azidomorfin 253-szor erősebben hatott, mint a kodein. Az azidoetilmorfin orális hatékonysága a kodeinnél 60-szor nagyobb volt.

Mértük macskán a légzési frekvenciát, respirációs levegőt és a légzési perctérfogatot a különböző morfin származékok beadása előtt és után. A morfinnal és a kodeinnel ellentétben, az azidomorfinok, a 14-OH-azidokodein kivételével nem csökkentették a légzést terápiás dózisban.

Vizsgáltuk a morfin, kodein, azidomorfin, 14-OH-azidomorfin, azidokodein és 14-OH-azidokodein i. v. injekciója után fellépő vazodepresszor válasz jellegét és időbeli lefolyását macskán. Az azidomorfin és a 14-OH-azidomorfin a morfinhoz és a kodeinhez hasonlóan hatott és ezen vegyületek között kereszttolerancia volt kimutatható. Az azidokodein és a 14-OH-azidokodein a vérnyomást nem befolyásolták.

IRODALOM

Domenjoz, R.: Arch. exp. Path. Pharmak. **215,** 19 (1952).
Feldberg, W. és *Paton, W. D. M.:* J. Physiol., Lond. **111,** 19 (1950).
Friebel, H. és *Reichle, C.:* Arch. exp. Path. Pharmakol. **229,** 400 (1956).
Green, A. F. és *Ward, B. B.:* Brit. J. Pharmacol. **10,** 418 (1955).

Gösswald, R.: Arzneim.-Forsch. **8,** 550 (1958).
Kobayashi, S., Hasegawa, K., Mori, M. és *Takagi, H.:* Arzneim.-Forsch. **20,** 43 (1970).
Knoll, J.: Pharmacol. Res. Comm. **5,** 175 (1973).
Knoll, J., Fürst, Zsuzsanna és *Kelemen, K.:* J. Pharm. Pharmacol. **25,** 929 (1973).
Knoll, J., Fürst, Zsuzsanna és *Vizi, E. S.:* Pharmacology, **10,** 354 (1973).
Knoll, J. és *Zsilla, Gabriella:* Bioch. Pharmacol. **23,** 745 (1974).
Litchfield, J. T. és *Wilcoxon, F. J.:* J. Pharmacol. exp. Ther. **96,** 89 (1949).
Nasmyth, P. A. és *Stewart, H. C.:* J. Physiol., Lond. **111,** 19 (1950).
Schmidt, C. P. és *Livingstone, A. E.:* J. Physiol., Lond. **47,** 411 (1933).

Semmelweis Orvostudományi Egyetem Gyógyszertani Intézet, Budapest

AZ AZIDOMORFIN ÉS SZÁRMAZÉKAINAK HATÁSA A BÉLMOTILITÁSRA

KNOLL JÓZSEF, az MTA levelező tagja, ZSÉLI JÁNOS, RÓNAI ANDRÁS és VIZI E. SZILVESZTER, az orvostudományok kandidátusa

Közlésre érkezett: 1975. II. 5.

A morfin és a legtöbb félszintetikus morfinszármazék a vékony- és a vastagbél propulzív motilitását csökkenti, emiatt terápiás alkalmazásuknak egyik gyakori mellékhatása az obstipáció. Korábbi közleményeinkben ismertettük a 6-deoxi-6-azido-dihidroizomorfin (azidomorfin) farmakológiai hatásait. Az eddig ismert félszintetikus morfin származékok között az azidomorfin bizonyult a leghatékonyabbnak állatkísérletekben (Knoll 1973; Knoll és mt. 1971, 1973, a. b) és emberen is (Rétsági és Schwarzmann, 1973). A klinikai vizsgálatok szerint az azidomorfin ritkán okoz székrekedést. E megfigyelés miatt részletesen megvizsgáltuk néhány 6-azidoizomorfin származék bélmozgásra kifejtett hatását ismert kábító-fájdalomcsillapítókéval összehasonlítva.

Módszerek

Passzás-teszt. A bélpasszást Macht és Barba-Gose (1931) módszerével vizsgáltuk 20 g súlyú, vegyes nemű egércsoportokon. Az állatokat a kísérlet előtt 24 órán keresztül éheztettük. Fiziológiás sóoldattal 10%-os orvosi szén szuszpenziót készítettünk, melyből 0,5 ml-t adtunk orálisan és a beadása után 1 órával az állatokat dekapitálva mértük, hogy a szuszpenzió a pylorustól meddig jutott el a bélben. Kontroll kísérletekben ($n = 4$) ezt a távolságot: $40{,}4 \pm 3{,}1$ cm-nek találtuk. A fájdalomcsillapítókat általában közvetlenül a szuszpenzió beadása előtt, néhány esetben pedig 1—3 órával azt megelőzőleg 10 ml/kg térfogatban adtuk be. Azt a dózist, amely az 50%-os gátláshoz szükséges (ED50) dózishatásgörbékből interpolálással számítottuk ki.

Tengerimalac ileum hosszanti simaizom-Auerbach plexus készítmény. A tengerimalac ileum hosszanti simaizmát Paton és Vizi (1969) módszere szerint preparáltuk és ingereltük. A készítményt 37 °C-os Krebs-oldatban függesztettük fel, amelyet karbogénnal (95% oxigén + 5% CO_2) áramoltattunk át. A kontroll összehúzódásokat 50%-kal gátló koncentrációkat (ID50) dózishatásgörbékből számítottuk ki. A dózishatásgörbék felvétele során a kábító fájdalomcsillapítókat különböző koncentrációkban, 20 perces időközökben adtuk a szervfürdőhöz.

Néhány kísérletben megvizsgáltuk a morfin és az azidomorfin hatását a pentagasztrinnal ($1{,}8 \times 10^{-7}$ M) kiváltott hosszanti simaizom összehúzódásokra. A pentagasztrin hatását 50%-kal gátló analgetikumok mennyiségét ugyancsak dózishatásgörbékből számítottuk ki. A tachifilaxis elkerülése céljából a pentagasztrint 20 percenként adtuk. A Krebs-oldat összetétele a következő volt: NaCl 118; KCl 4,7; CaCl 2,5; KH_2PO_4 1,2; $MgSO_4$ 1,2; $NaHCO_3$ 25, glukoz 11,5 mM.

Fájdalomcsillapító hatás mérése a „meleg lemez" teszttel.

Woolfe és McDonald (1944) eljárását alkazmaztuk Pórszász és Herr (1950) módosításában. Kísérleteinket 56 °C-os lemezen végeztük. Meghatároztuk a vegyületek beadása előtt és s. c. kezelésnél 30 perccel a beadást követően a fájdalmi reakció (talpak fújása ill. nyalása) lappangási idejét. Maximális (100%) hatásnak tekintettük, ha a reakcióidő a kontroll érték 2,5-szeresére nyúlt meg. Minden dózist legalább 10 tagból álló patkánycsoporton vizsgáltunk meg és az ED50-et dózishatásgörbék alapján számítottuk ki.

Felhasznált anyagok: Morphin HCl, codein HCl, methadon HCl, hydromorphon bázis, oxymorphon bázis, pentazocin, nalorphin HCl, pethidin HCl, 6-deoxi-6-azido-7,8-dihidroisomorphin (azidomorphin); Alkaloida, Tiszavasvári 6-deoxi-6-azido-7,8-dihidroisocodein (azidocodein; Alkaloida, Tiszavasvári) 6-deoxi-6-azido-14-OH-7,8-dihidroisomorphin (14-OH-azidomorphin; Alkaloida, Tiszavasvári) pentagastrin (Peptavlon, ICI), cholecystokinin (CCK-PZ, GIH Res. unit. Chemistry Dept., Karolinska Inst.).

Valamennyi bázist 5%-os foszforsavban oldottuk. Az oldatok PH-ját NaOH-val 6—7-re állítottuk be. Az analgetikumok koncentrációit bázisukra vonatkoztattuk.

Eredmények: Az 1. táblázat a vizsgált analgetikumoknak a tengerimalac ileum hosszanti simaizom rétegének összehúzódásait, valamint egerekben a bélmotilitást és a fájdalmat 50%-kal gátló koncentrációt mutatja. Az azidomorfin és a 14-OH-azidomorfin, amely egérben 50-szer, illetve 59-szer hatékonyabb mint a morfin, csak 10-szer, illetve 7,3-szor gátolja erősebben a szuszpenzió propulzióját. Ez azt mutatja, hogy az azidoszármazékok a bélmotilitást viszonylag kevéssé gátolják. A különböző kábító fájdalomcsillapítók relatív hatáserőssége inkább az elektromos ingerlés hatásának gátlásával mutatott párhuzamosságot.

A kábító fájdalomcsillapítók gátolják az acetilkolin felszabadulását a tengerimalac ileumból (Paton, 1957; Schaumann, 1957), másfelől ismert, hogy a pentagasztrin és analóg polipeptidek (gasztrin, kolecisztokinin) acetilkolint szabadítanak fel az Auerbach-plexusból és így fokozzák a bél motilitását (Vizi és mtsai, 1972, 1973). E megfigyelésekkel könnyen magyarázható a tengerimalac ileum hosszanti izomzatának elektromos ingerléssel, valamint pentagasztrinnal és kolecisztokininnel kiváltott összehúzódása és a morfin

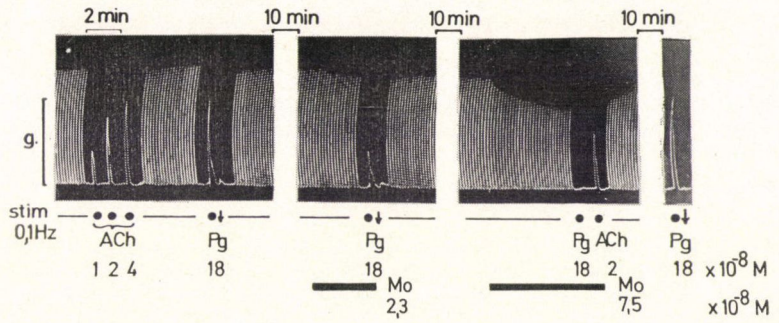
1. táblázat

Az ismert kábító fájdalomcsillapítók és néhány azidomorfin-származék intesztinális és analgetikus hatásának összehasonlítása

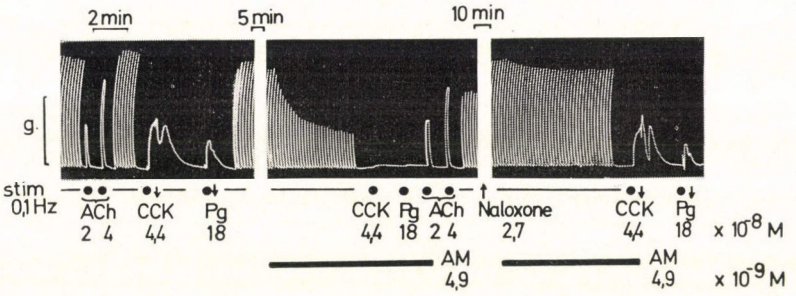
Anyag	Analgetikus hatás („meleg lemez") egér		Tengerimalac ileum elektromos ingerléssel kiváltott összehúzódásainak gátlása *		A propulzív motilitás gátlása (passzázs-teszt)	
	ED_{50} (M/kg s. c.)	$\frac{ED_{50}\ morfin}{ED_{50}\ anyag}$	ID_{50}	$\frac{ID_{50}\ morfin}{ID_{50}\ anyag}$	ED_{50} (M/kg s. c.)	$\frac{ED_{50}\ morfin}{ED_{50}\ anyag}$
1. Morfin	$4{,}6\times10^{-6}$	1	$1{,}2\times10^{-7}$	1	$4{,}6\times10^{-6}$	1
2. Azidomorfin	$9{,}3\times10^{-8}$	50,0	$2{,}0\times10^{-9}$	60,0	$4{,}7\times10^{-7}$	10,0
3. Hidromorfon	$5{,}3\times10^{-7}$	8,8	$6{,}6\times10^{-9}$	18,2	$2{,}4\times10^{-7}$	1,9
4. Oximorfon	$2{,}0\times10^{-7}$	22,3	$2{,}9\times10^{-8}$	4,1	$1{,}4\times10^{-6}$	3,3
5. 14-OH-azidomorfin	$7{,}9\times10^{-8}$	59,0	$2{,}1\times10^{-9}$	57,1	$6{,}3\times10^{-7}$	7,3
6. Kodein	$5{,}7\times10^{-5}$	0,08	$1{,}6\times10^{-5}$	0,01	$6{,}2\times10^{-5}$	0,07
7. Azidokodein	$1{,}3\times10^{-6}$	3,5	$7{,}0\times10^{-7}$	0,17	$1{,}1\times10^{-5}$	0,44
8. Metadon	$1{,}5\times10^{-5}$	3,2	—	—	$1{,}3\times10^{-5}$	0,35
9. Petidin	$1{,}7\times10^{-5}$	0,30	—	—	$1{,}8\times10^{-5}$	0,26

* Szupramaximális „field" ingerlés (0,1 Hz, 1 msec).

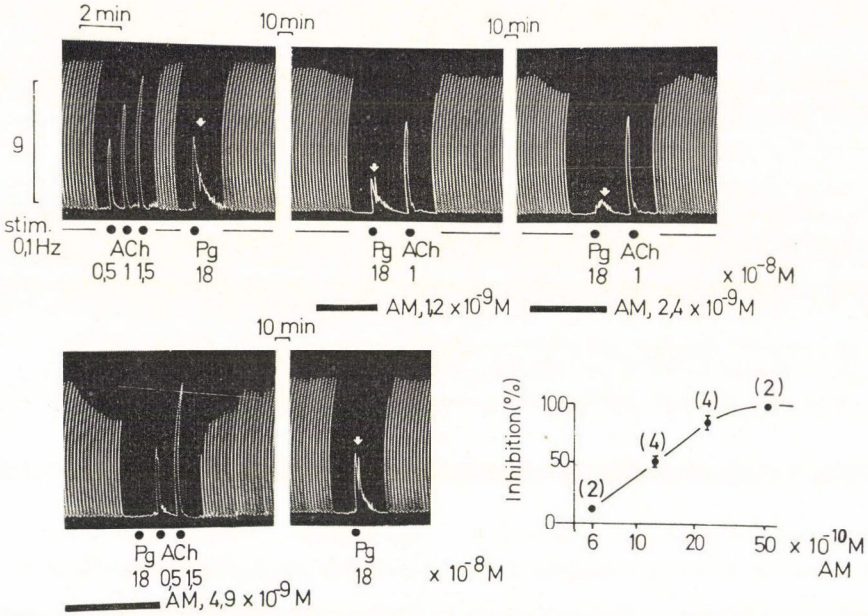
(1. ábra) azidomorfin (2. ábra) ezen összehúzódásokat gátló hatása. E gátló hatások dózisfüggőek. Morfin, vagy azidomorfin nem befolyásolja az acetilkolin által kiváltott izomösszehúzódásokat, tehát nincs közvetlen hatásuk a simaizomra. Gátló hatásukat a naloxon (2. ábra) felfüggeszti. A 3. ábra az azidomorfin pentagasztrin adással, valamint elektromos ingerléssel kiváltott izomösszehúzódások dózistól függő gátló hatását mutatja. Az ábrán látható, hogyan számítjuk ki az izom összehúzódásokat 50%-kal gátló azidomorfin koncentrációkat. A pentagasztrin hatását 50%-kal gátló morfin koncentrációja $1{,}9\times10^{-8}$ M, az azidomorfiné pedig $1{,}2\times10^{-9}$ M. Ezen a teszten az azidomorfin a morfinnál csak 15,5-ször bizonyult hatékonyabbnak.



1. ábra: A morfin (Mo) hatása az ileum hosszanti sima izomrétegének pentagasztrinnal (Pg) acetilkolinnal (Ach), valamint elektromos ingerléssel kiváltott válaszára. Field-ingerlés (8 V/cm, 1 msec, 0,1 Hz). Krebs-oldat. Maximális összehúzódásnál kimosás (nyílnál) Összehúzódás erejének kalibrációja: 1 g.



2. ábra: Az azidomorfin (AM) hatása az elektromos ingerléssel, pentagasztrinnal (Pg), kolecisztokininnel (CCK), valamint acetilkolinnal (ACh) kiváltott összehúzódásokra. Tengerimalac ileum hosszanti izom készítmény. Field-ingerlés (8 V/cm, 1 msec, 01. Hz.) Nyíl a kimosást jelzi.



3. ábra: Azidomorfin hatása az elektromos ingerléssel, pentagasztrinnal (Pg) és acetilkolinnal kiváltott izomösszehúzódásokra. Tengerimalac ileum hosszanti sima izom készítmény. A diagramon (koordináta rendszerben) logaritmikus léptékekben ábrázoltuk az azidomorfin koncentrációt és annak függvényében a pentagasztrin ($1{,}8 \times 10^{-7}$M) hatásának gátlását. A függőleges oszlopok az SE értéket, a zárójelben levő számok pedig a kísérletek számát jelzik. Field-ingerlés (8 V/cm, 1 msec. 0,1 Hz)

Megbeszélés

Schaumann és mtsai (1952) a kábító fájdalomcsillapító tulajdonság, valamint perisztaltikus reflexet gátló hatás között szoros összefüggést mutattak ki. A 6-azidoizomorfin származékai analgetikus hatásukhoz viszonyítva a bél propulzív összehúzódásait enyhén gátolják. Ebben az új félszintetikus izomorfin

alkaloidák egyes szintetikus fájdalomcsillapítókhoz (pl. metadon, lásd 1. táblázat) hasonlítanak. A „meleg lemez" teszten morfin : azidomorfin : 14-OH-azidomorfin : azidokodein relatív hatékonysága : 1 : 50 : 59 : 3,5 ugyanakkor a bél-passzázs teszten ugyanebben a sorrendben a viszony: 1 : 10 : 7,3 : : 0,44. Azidomorfin a pentagasztrinnal kiváltott kontrakciókat is a fájdalomcsillapító hatáshoz viszonyítva enyhén gátolja. A morfin : azidomorfin arány csak 1 : 15,3. Ezek az adatok a klinikai vizsgálatok eredményeivel (Rétsági és Schwarzmann, 1973) egybehangzóan azt mutatják, hogy az azidomorfin a bélmotilitást a fájdalomcsillapító hatásához viszonyítva enyhén gátolja.

Összefoglalás

Az azidomorfin, 14-OH-azidomorfin, azidokodein, valamint néhány ismert kábító fájdalomcsillapító (morfin, hidromorfin, oximorfon, metadon és petidin) bél motilitást gátló hatását vizsgáltuk és összehasonlítottuk azok fájdalomcsillapító hatásával. Míg a meleg lemez teszten a morfin : hidromorfon : oximorfon : azidomorfin : 14-OH-azidomorfin : azidokodein relatív hatékonysága 1 : 8,8 : 22,3 : 50 : 59 : 3,5 addig egéren a bél motilitás gátlásában 1 : 1,9 : 3,3 : 10 : 7,3 : 0,44, tehát az új félszintetikus izomorfin alkaloidok a bélmotilitást enyhén gátolják. A morfin származékok fájdalomcsillapító és az ileum hosszanti simaizmának elektromos ingerléssel kiváltott összehúzódásait gátló hatása között korrelációt észleltünk.

IRODALOM

Knoll, J., Fürst, Zsuzsanna, Kelemen, K.: Orvostudomány, **22,** 266 (1971).
Knoll, J.: Pharm. Res. Commun. **5,** 175 (1973).
Knoll, J., Fürst, Zsuzsanna és *Kelemen, K.:* J. Pharm. Pharmacol. **25,** 929 (1973/a).
Knoll, J., Fürst, Zsuzsanna és *Vizi, E. S.:* Pharmacology, **10,** 354, (1973/b).
Macht, D. L. és *Barba-Gose, J.:* J. Amer. pharm. Ass. Sci. 20, 558, (1931).
Paton, W. D. M. és *Vizi, E. S.:* Brit. J. Pharmacol. 35, 10 (1969).
Paton, W. D. M.: Brit. J. Pharmacol. 12, 119 (1957).
Pórszász, J. és *Herr, F.:* Kísérletes Orvostudomány, 2, 295 (1950).
Rétsági, G. és *Schwarzmann, Éva:* Orvostudomány, 24, 359 (1973).
Schaumann, O., Giovanni, M. és *Jochum, K.:* Arch. exp. Path. Pharmak. **215,** 460 (1952).
Schaumann, W.: Brit. J. Pharmacol. 12, 115 (1957).
Vizi, E. S., Bertaccini, G., Impiccatore, M. és *Knoll, J.:* Europ. J. Pharmacol. 17, 175 (1972).
Vizi, E. S., Bertaccini, G., Impiccatore, M. és *Knoll, J.:* Gastroenterology, 64, 268 (1973).
Woolfe, G. és *McDonald, A. D.:* J. Pharmacol. Exp. Ther. 80, 300 (1944).

Semmelweis Orvostudományi Egyetem Gyógyszertani Intézet Budapest, és Debreceni Kossuth Lajos Tudományegyetem Szerves Kémiai Tanszék

A 14-HIDROXIAZIDOMORFIN FARMAKOLÓGIÁJA

KNOLL JÓZSEF, az MTA levelező tagja, FÜRST ZSUZSANNA, az orvostudományok kandidátusa, és MAKLEIT SÁNDOR a kémiai tudományok doktora.

Közlésre érkezett: 1975. II. 5.

Kimutattuk, hogy a 6-dezoxi-6-azido-dihidroizomorfin (azidomorfin) az eddig ismert leghatékonyabb fájdalomcsillapító a félszintetikus morfinszármazékok között és analgetikus hatásához képest feltűnően alacsony a tolerancia és dependencia kapacitása (Knoll 1973, Knoll és mt. 1971, 1973/a, b). Az állatkísérletekben észlelt előnyös tulajdonságok emberen is bizonyítást nyertek: az azidomorfin a morfinnál 40—50-szer hatékonyabb fájdalomcsillapítónak bizonyult (Rétsági és Schwarzmann 1973) és tartós adagolás után sem lehetett nalorfinnal elvonási tüneteket precipitálni (Rétsági és mt. 1974). Mivel félszintetikus morfinszármazékok előállítása során bebizonyosodott, hogy hidroxil gyök szubctituciója a C14 helyen jelentősen növeli a hatásszélességet (Seki 1965), előállítottuk a 14-OH-azidomorfint és farmakológiai hatásait azidomorfinnal, valamint a szerkezetileg legszorosabb hasonlóságot mutató morfinszármazékokkal, a hidromorfonnal és oximorfonnal hasonlítottuk össze.

Módszerek

Toxicitás. Mindkét nemű, 120—150 g súlyú Wistar patkányokon, illetve 18—22 g súlyú egereken végeztük kísérleteinket. A vizsgálandó anyagokat patkányoknak 5 ml/kg egereknek 10 ml/kg volumenben adagoltuk. 48 órás elhullást vettünk figyelembe. Az LD 50 értékeket Litchfield — Wilcoxon grafikus módszerével számítottuk ki.

Fájdalomcsillapító hatás vizsgálata.

a) *Meleg lemez teszt.* Woolfe és McDonald (1944) eljárását alkalmaztuk Pórszász és Herr (1950) módosításában. Kísérleteinket 56 °C-os lemezen végeztük. Meghatároztuk a vegyületek beadása előtt és s. c. kezelésnél 30 perccel a beadást követően a fájdalmi reakció (talpak fújása, ill. nyalása) lappangás idejét. Maximális hatásnak (100%) tekintettük, ha a reakcióidő a kontroll érték 2,5-szeresére nyúlt meg. Minden dózist legalább 10 tagból álló patkánycsoporton vizsgáltunk meg és az ED 50-t dózishatásgörbék alapján számítottuk ki.

b) *Farokelrántás teszt.* D'Amour és Smith (1941) eljárását alkalmaztuk.

A farokelrántás lappangási idejét a vegyületek beadása előtt és s. c. beadása után 30 perccel mértük. A vizsgált vegyületet akkor tekintettük hatékonynak, ha az állat a kontroll reakcióidő kétszerese alatt sem rántotta el farkát. Minden dózist legalább 10 patkányon vizsgáltunk. Az ED 50-et dózishatásgörbék alapján számítottuk ki.

c) *Vonaglás teszt.* van der Wende (1956) módszerét Witkin és mt. (1961), valamint Koster és Anderson (1963) módosításában alkalmaztuk egéren. Minden dózis hatását legalább 10 egéren vizsgáltuk meg. 15 perccel a beadás után 0,6%-os ecetsav oldatot (60 mg/kg) injiciáltunk i. p. A jellemző vonaglási reakció a kontroll állatok 90%-án megfigyelhető. A vizsgált vegyületek beadása után az egereket az ecetsav beadását követő 20 percig tartottuk megfigyelés alatt. Analgetikus hatásnak tekintettük, ha ezen időszak alatt vonaglás nem lépett fel. Az egyes dózisok analgetikus hatását Hendershot és Forsaith (1959) szerint a következő képlet segítségével fejeztük ki:

$$\%\text{-os fájdalomcsillapító hatás} = 100 - \frac{\text{vonagló kezeltek } \%}{90\ \%} \times 100$$

Az ED 50 értékeket a dózishatásgörbék alapján számítottuk ki.

Köhögéscsillapító hatás vizsgálata. Gösswald (1958) módszerét alkalmaztuk patkányon. A köhögést 10%-os citromsav aerosol 3 perces belélegeztetésével váltottuk ki. A köhögés lappangási idejét megmértük 18 órával a vizsgálat előtt, ill. 30 perccel a vizsgálandó vegyület s. c. beadása után. Csak azokat a patkányokat alkalmaztuk a kísérletek során, amelyeknél a köhögési reakció lappangási ideje rövidebb volt, mint 60 sec. A kontroll lappangási idő 29,41 ± ±9,61 sec volt. Minden dózist legalább 10 állaton vizsgáltunk. Az ED 50-t Litchfield és Wilcoxon grafikus módszerével számítottuk ki.

Fizikális dependencia vizsgálata.

a) *Egéren.* Saelens és mt. (1972) „2 napos teszt"-jét alkalmaztuk. A vizsgálandó vegyület teljese adagját 7 emelkedő adagban i. p. injiciálva 26 óra alatt adtuk be, majd 2 órával az utolsó injekció után beadtunk 100 mg/kg naloxont i. p., amely az egereken dependencia kialakulása esetén ugrási reakciót precipitál. A dependencia súlyosságát az ugró egerek száma, ill. az egy egérre eső ugrásátlag mutatja.

b) *Patkányon.* Mindkét nemű, 90—120 g súlyú patkányokat naponta kétszer (reggel 9 és du. 15.30) a vizsgálandó vegyülettel kezeltünk 15 héten keresztül. Az utolsó injekció után 24 órával 2,5 mg/kg naloxon i. p. beadásával váltottuk ki az elvonási tüneteket, és Buckett (1964) pont-rendszere szerint értékeltük azokat.

c) *Majmon.* 6 tagból álló 7—8 kg súlyú, mindkét nemű Rhesus macacus majmokat 15 héten át kezeltünk naponta 2-szer s. c. morfinnal, ill. 14-OH-azidomorfinnal (9.30, ill. 16^h). Elvonási tüneteket 2,5 mg/kg nalorfinnal, ill.

naloxonnal váltottunk ki. A dependencia súlyosságát Seevers és Deneau (1963) szerint értékeltük.

Felhasznált anyagok. Morphin HCl (Alkaloida), nalorphin HCl (Chinoin) hydromorphon bázis (Alkaloida), oxymorphon bázis (Alkaloida), azidomorphin bázis (Alkaloida), naloxon HCl (Endo Lab.). Valamennyi bázist 5%-os foszforsavban oldottunk, majd az oldat pH-ját NaOH-val 6—7-re állítottuk.

Eredmények

Toxicitás. Az 1. táblázat mutatja, hogy s. c. adagolás mellett az azidomorfin egéren 11,6-szor, patkányon 6,5-szer bizonyult toxikusabbnak mint a 14—OH-azidomorfin, míg a hidromorfon egéren csak 2,3-szor, patkányon 1,5-szer toxikusabb, mint az oximorfon. A C14-hidroxiláció tehát még előnyösebb az azidomorfin, mint a megfelelő morfinszármazék esetében.

1. táblázat

A 14-OH-azidomorfin akut toxicitása egéren és patkányon azidomorfinnal, hidromorfonnal, ill. oximorfonnal összehasonlítva

	Toxicitás LD 50 mg/kg		
	Egér		
	i. v.	s. c.	p. os
Hidromorfon	69 (58,5—81,4)	120 (98,4—146,4)	280 (193,406)
Oximorfon	82 (71,8—93,4)	280 (245,6—319,2)	490 (449,5—53,1)
Azidomorfin	13 (10,8—15,6)	16 (13,3—19,2)	58 (51,8—65,0)
14-OH-azidomorfin	45 (32,3—59,8)	185 (135,0—253,4)	370 (322—436)

	Toxicitás LD 50 mg/kg		
	Patkány		
	i. v.	s. c.	p. os
Hidromorfon	—	110 (77,5—156,2)	—
Oximorfon	95 (83,3—108,3)	160 (88,8—288,0)	140 (110,0—177,8)
Azidomorfin	8,1 (7,7—10,4)	13 (11,7—19,0)	62 (49,2—73,2)
14-OH-azidomorfin	45 (31,0—65,2)	85 (75,2—96,05)	190 (112,7—252,7)

A zárójeles értékek a 95%-os megbízhatósági határt jelentik.

Analgetikus és köhögéscsillapító hatás.

Az azidomorfinhoz képest a 14-hidroxiazidomorfin fájdalomcsillapító hatásának erőssége nem változott (2. és 3. táblázat), de jelentősen fokozódott a köhögéscsillapító hatékonyság (3. táblázat). Az oximorfon hatékonyabb analgetikumnak bizonyult, mint a hidromorfon (2. és 3. táblázat). Az LD 50/ED 50 arányos összehasonlítása jól szemlélteti, hogy a 14-hidroxi-származékok jobb hatásszélességű vegyületek mint a nem hidroxilált származékok és ez a különbség a 6-azido-származékoknál szembetűnőbb (2. és 3. táblázat).

2. táblázat

A 14-OH-azidomorfin analgetikus hatása egéren, azidomorfinnal, hidromorfonnal ill. oximorfonnal összehasonlítva

	Meleg lemez teszt ED 50 mg/kg s. c.	Terápiás index LD 50 s. c. / ED 50 s. c.	Vonaglás teszt ED 50 mg/kg s. c.	Terápiás index LD 50 s. c. / ED 50 s. c.
Hidromorfon	0,160 (0,146—0,174)	750	0,210 (0,165—0,266)	571
Oximorfon	0,075 (0,060—0,086)	3733	6,122 (0,076—0,195)	2295
Azidomorfin	0,024 (0,012—0,045)	667	0,046 (0,038—0,054)	348
14-OH-azidomorfin	0,029 (0,020—0,040)	6379	0,042 (0,035—0,049)	4405

Tolerancia és dependencia. Azidomorfin analgetikus hatékonysága és fizikális dependencia kapacitása között jelentős mértékű disszociációt észleltünk (Knoll, 1973; Knoll és mt., 1971; 1973/a).

A 4. táblázat egéren mutatja a 14-OH-azidomorfin dependencia kapacitását morfinnal, azidomorfinnal, hidromorfonnal és oximorfonnal összehasonlítva. Az analgetikus hatékonysághoz viszonyítva morfinból a félszintetikus származékokhoz képest kis adagokat alkalmaztunk. Nagyobb morfin adagok dependenciát okozó hatását előzetesen leírtuk (Knoll és mt. 1973). Kitűnik a 4. táblázatból, hogy mind az azidomorfin, mind a 14-OH-azidomorfin dependencia kapacitása kisebb, mint a megfelelő nem azido származékoké.

Ugyanezt észleltük patkányon is. Egyik előző munkánkban összehasonlítottuk a tolerancia, ill. a fizikális dependencia kialakulását morfinnal, ill. azidomorfinnal kezelt állatokon (Knoll és mt., 1973). Jelen kísérletsorozatunkban erősen megnöveltük az azidomorfin napi adagját és hasonló nagy adagban adtuk a 14-OH-azidomorfint. A 15 hetes kezelési periódus alatt kifejlődött hatásokat összehasonlítottuk a kisebb fájdalomcsillapító hatású hidromorfon, ill. oximorfon adagokkal kezelt csoportokon kialakult effektusokkal.

Az 5. táblázat demonstrálja, hogy a kísérlet végére, az azidomorfin-származékok napi adagjai az analgetikus potenciált véve figyelembe 6-szor magasabbak voltak mint a megfelelő nem-azid analogoké. Kitűnik a táblázat adataiból, hogy nincs lényeges különbség az azidomorfin, ill. a 14-OH-azidomorfin tolerancia és dependencia kapacitása között. A fájdalomcsillapító hatékonyságban mutatkozó hatszoros dózis differencia ellenére lényegében azonos mértékű toleranciát észleltünk az azido, ill. a 6-oxo-származékokkal kezelt patkányokon. Még nagyobb eltérés mutatkozik az azidok javára a dependencia kapacitásban. A naloxonnal precipitált elvonási szindroma intenzitása az azidomorfin csoportban 2,6, a 14-OH-azidomorfin csoportban 2,2, azaz igen alacsony, ha figyelembe vesszük a többi értéket (morfiné 6,5, hidromorfoné 6,0, oximorfoné 6,8). Ha az értékelésnél számba vesszük, hogy a napi morfindózis 4-szer, a 6-oxo származékok összdózisa pedig 6-szor kisebb, a meleg

3. táblázat

A 14-OH-azidomorfin analgetikus és köhögéscsillapító hatása patkányon, azidomorfinnal, hidromorfonnal ill. oximorfonnal összehasonlítva

Vegyület	Meleg lemez teszt ED 50 mg/kg			Terápiás index LD50/ED50 s. c.	Farokelrántás teszt		Köhögés teszt	
	i. v.	s. c.	p. os		ED 50 mg/kg s. c.	Terápiás index	ED 50 mg/kg s. c.	Terápiás index
Hidromorfon	0,170 (0,149—0,193)	0,220 (0,191—0,253)	23,0 (18,4—28,7)	500	0,220 (0,166—0,290)	500	0,26 (0,21—0,31)	423
Oximorfon	0,065 (0,040—0,10)	0,080 (0,053—0,120)	13,5 (8,5—21,6)	2000	0,130 (0,087—0,192)	1231	0,058 (0,05—0,068)	2759
Azidomorfin	0,021 (0,011—0,037)	0,036 (0,019—0,066)	9,2 (6,0—12,9)	361	0,012 (0,0089—0,016)	1083	0,034 (0,027—0,042)	382
14-OH-azidomorfin	0,021 (0,011—0,040)	0,036 (0,023—0,054)	16,0 (12,3—20,4)	2361	0,029 (0,022—0,037)	2931	0,021 (0,017—0,026)	4048

4. táblázat

A 14-OH-azidomorfin fizikális dependencia kapacitása egéren, azidomorfinnal, morfinnal, hidromorfonnal, ill. oximorfonnal összehasonlítva („2 napos teszt" egéren)

Vegyület	Össz. dózis mg/kg i. p.	Össz. dózis*	Naloxon (100 mg/kg i. p.)	
		Analgetikus** ED 50	ugrásátlag	ugró/össz. egér
Morfin	35	20	0,5	1/10
	70	40	6,1	5/10
	105	80	6,8	6/10
	210	120	19,9	8/10
Hidromorfon	35	233	24,9	6/10
	70	466	16,0	14/19
	105	700	49,1	9/10
Oximorfon	35	573	45,3	10/10
	70	1147	30,0	14/15
	105	1721	37,7	10/10
Azidomorfin	35	1206	5,8	4/10
	70	2413	21,0	17/20
	105	3621	16,0	8/10
14-OH-azidomorfin	35	1346	9,6	4/10
	70	2602	0,0	15/20
	105	4038	19,7	6/7

* az összdózis beadása 26 óra alatt, 7 injekcióban, fokozatosan emelkedő adagban
** Meleg lemez

5. táblázat

A 14-OH-azidomorfin toleranciát, ill. fizikális dependenciát okozó hatása patkányon, azidomorfinnal, morfinnal, hidromorfonnal, ill. oximorfonnal összehasonlítva

Vegyület	Fájd. csill. ED 50 mg/kg s. c. (meleg lemez)	Napi dózis* n × ED 50		Tolerancia foka DR (hot plate)**	Dependencia*** foka Pontszám
		1.	85.		
		kezelési nap			
Morfin	4,6	4	30	28,0	6,5
Hidromorfon	0,22	2	20	7,8	6,0
Oximorfon	0,08	2	20	11,3	6,8
Azidomorfin	0,036	6	120	0,7	2,6
14-OH-azidomorfin	0,036	6	120	8,8	2,2

* Napi dózis, beadva két egyenlő részben s. c. 9,30, ill. 15,30
** A kezelés 14. hetében mérve

$$DR = \frac{ED50 \text{ (krónikusan kezelt állaton)}}{ED50 \text{ (kontroll állaton)}}$$

*** Az elvonási tüneteket a kezelés 86. napján 2,5 mg/kg naloxon i. p. beadásával váltottuk ki, a reggeli morfin adag helyett. Értékelés Buckett szerint (1964)

6. táblázat

A 14-OH-azidomorfin dependencia kapacitásának összehasonlítása morfinnal, majmon

Vegyület	Állatszám	Napi dózis		Precipitációra használt antagonista*	Elvonási tünetek intenzitása (állatszám)			
		1. nap	mg/kg Precipitáció előtti utolsó nap		enyhe	közepes	súlyos	nagyon súlyos
Morfin	3	3,0	3,0	nalorfin	—	—	1	2
	3	3,0	3,0	naloxon	—	—	—	3
14-OH-azidomorfin	3	0,05	1,75	nalorfin	—	1	1	1
	3	0,05	1,75	naloxon	—	1	1	1

* Az elvonási szindroma kiváltására a 86. napon 2,5 mg/kg antagonistát adtunk be a reggeli morfinadag helyett. Értékelés Seevers és Deneau (1963) szerint.

lemezen mért analgetikus hatékonyság alapján számítva, mint az azidomorfinoké, még szembetűnőbb az analgetikus és dependencia kapacitás disszociációja az azidomorfinok esetében.

A 14-OH-azidomorfin dependencia kapacitását majmokon is alacsonynak találtuk. A 6. táblázatban bemutatott kísérletsorozatban igen erősen megnöveltük a 14-OH-azidomorfin adagját, hogy a morfin és a 14-OH-azidomorfin fizikális dependenciát okozó hatása közötti különbséget jobban értékelhessük. A morfin dózisát 15 hetes kísérlet alatt naponta 2×3 mg/kg-ban rögzítettük. Ez a morfin adag s. c. adagolásánál mindössze 1,5-szerese a meleg lemezen mért analgetikus ED50 értéknek patkányon (Knoll és mt. 1973/b 2. táblázat). A 14-OH-azidomorfin adagját ezzel szemben folyamatosan emeltük napi $2 \times 1{,}75$ mg/kg-ig, a fájdalomcsillapító ED50 120-szorosáig. A 6. táblázat mutatja, hogy az elvonási tünetek intenzitása jóval magasabb volt a morfinnál kezelt majmokon, akár nalorfinnal, akár naloxonnal precipitáltunk. Ha tehát a 14-OH-azidomorfinnal olyan mértékű dependenciát akarunk elérni, mint a morfinnal kezelteken, akkor az analgetikus hatást véve alapul mintegy 100-szor nagyobb adagot kell belőle adnunk.

Megbeszélés

Az azidomorfin 14-hidroxilációja előnyös farmakológiai változásokhoz vezetett. A 14-OH-azidomorfin az azidomorfinhoz viszonyítva kisebb toxicitású, ugyanakkor azonos analgetikus és erősebb köhögéscsillapító hatású vegyület.

Azt a tényt, hogy a 14-OH-azidomorfin azonos erősségű analgetikum, mint az azidomorfin, úgy is magyarázhatjuk, hogy az azidomofinnál az azidocsoport bevitelével már elértük a maximális fájdalomcsillapító hatékonyságot. A 14-OH-azidomorfin emberen is az azidomorfinnal egyenértékű (a morfinnál 40—50-szer erősebb) analgetikumnak bizonyult. Bár az azidomorfinok analge-

tikus és dependencia kapacitása között jelentős disszociációt észleltünk, ezek kábítószerek, azaz ha adagjukat jelentősen felemeljük, valamennyi következménnyel számolnunk kell, amelyek a morfin, ill. az ismert félszintetikus származékok adagolásának már terápiás adagban is szükségszerű velejárói. Annak elkerülésére, hogy az adagokat egy nem kívánatos szint fölé emelhessék a klinikumban, célszerű az azidomorfinokat rymazoliummal (Probon, MZ-144) kombinálni. A rymazolium olyan nem-kábító fájdalomcsillapító, amely erősen fokozza az analgetikus, ugyanakkor antagonizálja az opiátok légzésdepresszív hatását (Knoll és mt, 1971/a, b, c, d) emellett mivel nagyobb adagokban vérnyomássüllyesztő hatással rendelkezik, meggátolja, hogy az azidomorfinok adagját egy határon túl emelhessék.

Összefoglalás

A 6-dezoxi-6-azido-14-hidroxidihidroizomorfin (14-OH-azidomorfin) fájdalomcsillapító hatását egéren és patkányon, köhögéscsillapító hatását patkányon, fizikális dependencia kapacitását egéren, patkányon és majmon vizsgáltuk. Azidomorfint, valamint morfint, hidromorfont és oximorfont használtunk referens anyagonként. A 14-OH-azidomorfin egéren 11,6-szor, patkányon 6,5-ször kevésbé toxikus, azonos erősségű fájdalomcsillapító és hatékonyabb köhögéscsillapító, mint az azidomorfin. Tolerancia és dependencia kapacitásuk azonos.

IRODALOM

Buckett, W. R.: Psychopharmacologia, **6,** 410 (1964).
D'Amour, D. E. és *Smith, D. L.:* J. Pharmac. exp. Ther. **72,** 74 (1941).
Eddy, N. B., Halbach, H. és *Braenden, O. J.:* Bull. Wld. Hlth. Org., **14,** 353 (1956).
Gösswald, R.: Arzneimittel-Forschung **8,** 550 (1958).
Hendershot, L. C. és *Forsaith, J.:* J. Pharmac. exp. Ther. **125,** 237 (1959).
Knoll, J., Fürst, Zsuzsanna és *Kelemen, K.:* Orvostudomány, **22,** 266 (1971).
Knoll, J.: Pharmacological Research Communications, **5,** 175 (1973/a).
Knoll, J., Fürst, Zsuzsanna és *Vizi, E. S.:* Pharmacology, **10,** 354 (1973/a).
Knoll, J., Fürst, Zsuzsanna és *Kelemen, K.:* J. Pharm. Pharmac. **25,** 929 (1973/b).
Knoll, J., Mészáros, Z., Szentmiklósi, P. és *Fürst, Zsuzsanna:* Arzneim. Forsch. **21,** 717 (1971).
Knoll, J., Fürst, Zsuzsanna és *Mészáros, Z.:* Ibid. **21,** 719 (1971).
Knoll, J., Fürst, Zsuzsanna és *Mészáros, Z.:* Ibid. **21,** 727 (1971).
Knoll, J., Magyar, K. és *Bánfi, D.:* Ibid. 21, 733 (1971).
Koster, H. és *Anderson, M.:* Fedn. Proc. Fedn. Am. Soc. exp. Biol. **22,** 248 (1963).
Lichtfield, J. T. és *Wilcoxon, F. J.:* J. Pharmac. exp. Ther. **96,** 99 (1949).
Pórszász, J. és *Herr, F.:* Kísérletes Orvostudomány, **2,** 295 (1950).
Rétsági, G. és *Schwarzmann, E.:* Orvostudomány, **24,** 359 (1973).
Rétsági, G., Schwarzmann, Éva, Bodrogi, J. és *Éckhardt, S.:* Orvostudomány **25,** 83 (1974).
Saelens, J. K., Granat, F. R. és *Sawyer, W. K.:* Arch. Int. Pharmacodyn, Ther., **190,** 213 (1972).
Seevers, M. H. és *Deneau, G. A.:* In: Physiological Pharmacology, pp. 565—640. Editors: Root, W. S. és Hoffmann, F. G. New York: Academic Press (1963).
Seki, I.: Ann. Sankyo Res. Lab., **17,** (1965).
Van der Wende, C. és *Margolin, S.:* Fedn Proc. Fedn. Am. Soc. exp. Biol. **15,** 494 (1956).
Witkin, L. B., Heuber, C. F., Galdi, F., O'Keefe, E., Spitaletta, P. és Plummer, A. J.: J. Pharmac. exp. Ther. **113,** 400 (1961).
Woolfe, G. és *McDonald, A. P.:* Ibid. **80,** 300 (1944).

Semmelweis Orvostudományi Egyetem Gyógyszertani Intézet, Budapest

AZ AZIDOMORFINOK SORSA A SZERVEZETBEN

KNOLL JÓZSEF, az MTA levelező tagja, MAGYAR KÁLMÁN, az orvostudományok kandidátusa, MAKLEIT SÁNDOR a kémiai tudományok doktora, ZÓLYOMI GÁBOR és ZSILLA GABRIELLA

Közlésre érkezett: 1975. II. 5.

Az azidomorfin és származékai előnyös farmakológiai spektrumának felfedezése a félszintetikus morfinszármazékok kutatásában új, gyakorlatilag hasznos útnak ígérkezik. Az azidomorfin állatkísérletekben a morfinnál 40-300-szor (Knoll és mtsai 1971; Knoll 1973; Knoll és mtsai 1973/a, 1973/b; Knoll és Zsilla 1974) emberen 40—50-szer (Rétsági és Schwarzmann 1973) erősebb. A morfinnál előnyösebb légzési, keringési és emésztőszervi hatása, valamint hatékonyságához képest feltűnően alacsony tolerancia és dependencia kapacitása teszik különösen figyelemreméltóvá a vegyületet.

Az erősen rögzített konformációjú (Roberts 1961; Ladik és Messmer 1962; Müller és Messmer 1963; Closson és Gray 1963; Jones és mtsai 1971), 3,8 Å hosszú, lineáris azido-csoport (Pauling és Brockway 1937; Cruickshank és mtsai 1972) kémiai természetében alapvetően különbözik azoktól a szubsztituensektől (—CH, —COH, — CO) melyeket az ezideig ismert származékokban találunk.

A 6-azido szubsztituációval megjelenő, erős agonista jellegű hatásváltozás, a C6 poziciónak a morfin-receptor agonista-komplex kialakulásában betöltött nagy szerepére utal és alapot ad a jelenlegi modellek (Beckett és Casy 1962, 1965; Porthogese 1965, 1966) átértékelésére.

Az azidomorfinok kedvező farmakológiai spektruma, egyben példa arra, hogy az azido-csoport általánosságban nagyobb figyelmet érdemel a gyógyszerkutatásban. Az azido-csoport 1970-ig a farmakológiai szempontból relevans irodalomban az azidomorfinon kívül (Bognár és Makleit 1968) alig jelentkezett (Hofmann és mtsai 1967; Allen és Kirby 1970), azóta növekszik iránta a figyelem (Winter és Goldstein 1972; Ramsay és mtsai 1972; Gorman és Ryan 1972; Mair és Stewens 1972; Ning és Sternbach 1973; Hyde-Wyatt 1973; Kamiya és mtsai 1973; Krebs 1973).

Az azido-csoport szervezeten belüli sorsára vonatkozóan adatot nem találtunk. A biotranszformációs lehetőségek ismeretében nem zárható ki az a lehetőség, hogy az azido-gyökről N_2 szakadjon le, így az azido csoportból erős kémiai reaktivitású nitrén képződhet (Mair és Stewens 1972), amint a 9 azidoakridinnel kapcsolatban ezt feltételezték, konkrét adat ilyen változásra azonban nincs. Saját kísérleteink azt mutatják, hogy az azidomorfinok esetében az

azidogyök legalább is a molekulák zöménél változatlan marad a szervezetben.

Jelen munkánk célja az azidomorfinok szervezetbeni sorsának (felszívódás, eloszlás, kiürülés, metabolizmus) leírása. Referens anyagnak a morfint használtuk. Különös figyelmet fordítottunk az azido-csoport szervezeten belüli sorsának vizsgálatára. Kísérleteinkben főleg a morfin és azidomorfinok radioaktív jelzett változatait használtuk.

Módszerek és anyagok

Vegyületek.

Jelzett vegyületek: N- ^{14}C-metilmorfin *(^{14}C-morfin)* 0,96 mCi/mmol; 6-deoxi-6-azido-(N- ^{14}C-metil)-dihidroizomorfin *(^{14}C-azidomorfin)* 9,65 mCi/mmol; 6-deoxi-6-azido- (7,8-^{3}H)-dihidroizomorfin *(^{3}H-azidomorfin)* 299,5 mCi/mmol; 6-deoxi-6-azido-14-hidroxi- (8-^{3}H)-dihidroizomorfin *(^{3}H-14-OH-azidomorfin)* 337 mCi/mmol; 6-deoxi-6-azido-(3-O- ^{14}C-metil)-dihidroizokodein bitartarát *(^{14}C-azidokodein)* 3,28 mCi/mmol; 6-deoxi-6-azido-(7,8-^{3}H)-dihidroizokodein bitartarát *(^{3}H-azidokodein)* 179,44 mCi/mmole; 6-deoxi-6-azido-(7,8- ^{3}H)-dihidroizoetilmorfin bitartarát *(^{3}H-azidoetilmorfin)* 142,0 mCi/mmol. A radioaktív vegyületeket a Gyógyszerkutató Intézet izotóp laboratóriumában Zólyomi Gábor szintetizálta.

Inaktív vegyületek: A kísérletekben használt valamennyi inaktív vegyületet a Tiszavasvári Alkaloida Gyártól kaptuk.

Oldatok készítése.

A morfint 5%-os sósavban, az azidomorfint és származékait 5%-os foszforsavban oldottuk, miután a pH-t 1 N NaOH-val 6-ra állítottuk be.

Kísérleti állatok.

Kísérleteinkben CFLP specifikációjú egereket (20 g) és CFY patkányokat (100 g) használtunk (LATI).

Egésztest autoradiográfia. Terhes egereknek (35—40 g) 5 μCi *^{14}C-azidomorfint* (4,045 mg/kg) adtuk be intravénásan, 0,2 ml térfogatban. Egy esetben 20 g-os hím egeret használtunk. A vegyület beadása után különböző idő elteltével (30 sec-től 24 óra) az egereket enyhe éternarkózisban szárazjéggel telített hexánba mártottuk (-75 °C). Ezután az állatokat órákon át —15 °C-on tartottuk, majd a beágyazást és metszést Ullberg módszerével végeztük (1954). Az egerekből —15 °C-on, sagittális irányban, Leitz 1300 típusú microtommal 20 μ-os metszeteket készítettünk olymódon, hogy a metszetek speciális ragasztószalagon rögzüljenek (Minnesota Mining and Manufacturing Co. No 810). A metszeteket —15 °C-on szárítottuk, majd néhány napos hidegkezelés

után szobahőmérsékleten tároltuk, később fényérzékeny filmhez (Geavert) szorítva exponáltuk. Megfelelő expozíciós idő után a filmeket előhívtuk.

A kísérletek egy részében hím patkányokat (100 g) használtunk. Az állatok 10 μCi ^{14}*C-morfint* (29,67 mg/kg), ill. ^{14}*C-azidomorfint* (3,24 mg/kg) vagy ^{14}*C-azidokodeint* (14,5 mg/kg) kaptak intravénásan. A kezelés után különböző idő elteltével az állatokat dekapitáltuk és a három különböző vegyülettel kezelt állat fejét egy blokkba ágyaztuk be, majd az előbbi módon metszeteket és autoradiogramot készítettünk. Ez a módszer lehetővé tette, hogy az állatok agyából közel azonos szinteket reprezentáló metszeteket készítsünk és azokat azonos expozíciós és előhívási procedurának vessük alá.

A radioaktivitás mennyiségi meghatározása a szövetekben.

20-g-os hím egereket 5, ill. 20 μCi jelzett anyaggal kezeltünk i. v. ill. p.o. A kezelés után, az állatokból éternarkózisban, szívpunkcióval vért vettünk. Ezután az állatokat dekapitáltuk és különböző szöveti mintákat vettünk. A pontosan mért vérmintákat, az egyik agyi féltekét, ill. 20—25 mg szöveti mintát folyadék-szcintillációs edényekbe helyeztük, 1 ml Soluene TM 100 (Packard) szövetoldószerrel feloldottuk és a radioaktivitást folyadék-szcintillációs módszerrel határoztuk meg (Intertechnique SL 40). A méréshez edényenként 10 ml toluolt használtunk, mely 0,5%-os PPO-t és 0,01%-os dimetil-POPOP-ot tartalmazott. Az abszolut aktivitást (dpm)/külső standard segítségével korrigáltuk. A komputeres készülék megfelelő programozás után a dpm értékeket automatikusan kinyomtatja. A radioaktivitást 5 állatból számított abszolut aktivitás átlagában $\pm$ S. E. adtuk meg.

A relatív megoszlási hányados meghatározása.

A vizsgálandó anyagokat 20 ml térfogatú üvegdugós csőbe helyeztük, mely 5 ml petrolétert és 5 ml 0,1 M-os foszfát-puffert tartalmazott (pH 7,2). A vizsgálandó anyagok koncentrációja 0,5 mg/ml volt, mely csövenként 5 μCi radioaktivitást tartalmazott. A megfelelő specifikus aktivitás beállításához a radioaktív anyagokat inaktív anyaggal hígítottuk. 20 perces rázás után (22 °C) a szerves- és vizes fázisból mintát vettünk és a radioaktivitást folyadék-szcintillációs módszerrel határoztuk meg. A petroléterben mért abszolút aktivitást a pufferben mérthez hasonlítottuk. Kiszámítottuk, a morfinhoz viszonyított relatív megoszlási hányadost is.

Az azidomorfinok szubcelluláris eloszlása.

100 g-os hím patkányokat 20 μCi ^{14}*C-morfinnal* (59,0 mg/kg), ill. ^{14}*C-azidomorfinnal* (6,47 mg/kg) vagy 30 μCi ^{3}*H-azidokodeinnel* (6,47 mg/kg) kezeltük intravénásan. A kezelés után 30 perc múlva a patkányokat dekapitáltuk, kivettük az állatok agyát, és üveghomogenizátorral (Potter) 0,25 M-os szacharózban 10%-os agyhomogenizátumot készítettünk.

A homogenizátumból a szubcelluláris frakciókat differenciál centrifugálással preparáltuk. A szubfrakciókból 0,1 ml-es minták aktivitását soluene kezelés után folyadék-szcintillációs módszerrel határoztuk meg. A különböző centrifugálási sebességeknél ülepedő radioaktivitás mértékét a kiindulási homogenizátum aktivitásához hasonlítva, százalékosan adtuk meg.

Kiürülési vizsgálatok

100 g-os hím patkányokat intravénásan kezeltünk a vizsgált morfinszármazékokkal. A kezelt állatokat 48 órán keresztül Simax anyagcsere ketrecben tartottuk és szeparáltan gyűjtöttük a patkányok székletét és vizeletét. A kiürített radioaktivitást folyadék-szcintillációs módszerrel mértük és kiszámítottuk a vegyületek kumulatív ürülését. Az ürülést a beadott dózis %-ában adtuk meg.

Demetilációs vizsgálatok.

A kísérletekhez 100—150 g-os hím patkányokat használtunk. Kísérletenként legkevesebb 5 állat májából 4 °C-on, 0,1 M-os foszfát-pufferben (pH 7,6), 30%-os homogenizátumot készítettünk (Potter). A homogenizátumot 4 °C-on, 9000 g-vel, 20 percig centrifugáltuk és a felülúszót használtuk a kísérletekhez (továbbiakban mikroszóma-preparátum). Az inkubációs közeg (Beckett és Morton 1966) mintánként 6 ml 0,1 M-os foszfát pufferben (pH 7,6) 100 μ mol nikotinamidot, 0,4 μmol NAD-t, 0,4 μmol NADP-t, 20 μmol glukóz-6-foszfátot 20 μmol $MgCl_2$-ot, 70 μmol szemikarbazidot, 10 μmol szubsztrátot és 2,0 ml máj szupernatánst (600 mg szövetből preparált) tartalmazott. Az inkubációt 37 °C-on, folyamatos rázás közben, levegő atmoszférában, 1 órán át végeztük. A reakciót 15 ml 30%-os TCA-val állítottuk le. A demetiláció során keletkezett formaldehidet ledesztilláltuk (Axelrod 1955) és mennyiségét kromotrópsavas eljárással mértük (Boyd és Logan 1942).

A formaldehid koncentrációját ismert mennyiségű formaldehidhez hasonlítva belső standard segítségével határoztuk meg. A demetilációs aktivitást μg HCHO/100 mg fehérje/óra) adtuk meg. A fehérjét Lowry és mtsai módszerével mértük (1951).

Radiokromatográfiás mérések. A vizsgálatokat ^{3}*H-azidomorfinnal* végeztük. Az elválasztás vékonyréteg kromatográfiával történt (Kiesel-gél GF_{254}). A futtató-szer ciklohexán:kloroform:dietilamin 5:4:1 arányú keveréke volt. A detektálást Packard-radiochromatogram scanneren végeztük.

Az azidomorfin és metabolitjainak infravörös (IR) spektroszkópiás analízise

A kísérletek egy részében a „Demetilációs vizsgálatok" c. részben leírt módon azidomorfint inkubáltunk patkánymáj mikroszóma-preparátummal. A reakciót forralással állítottuk le, majd centrifugálás után, pH 8-nál, 10%-os butanol-kloroformos extrakciót végeztünk. Az organikus fázist elpárologtat-

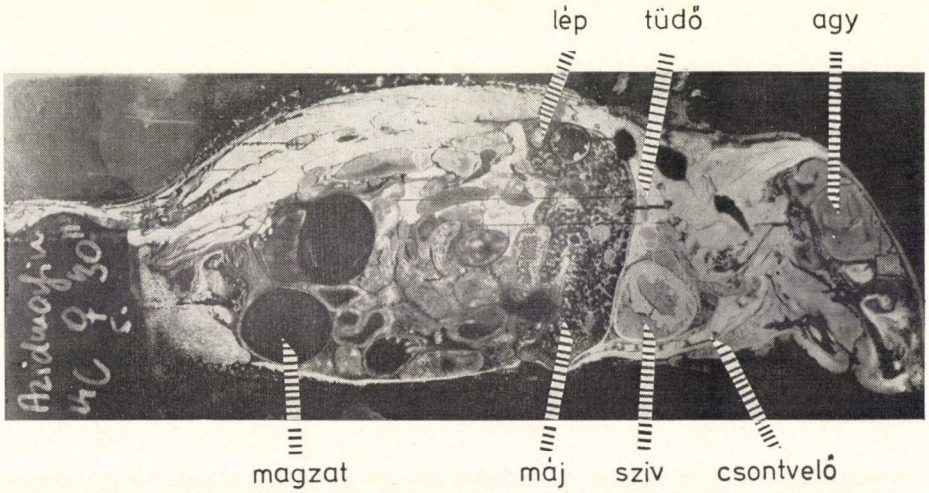
tuk, majd az azidomorfint (Rf = 0,54) és a nor-azidomorfint (Rf = 0,22) rétegkromatográfiás módszerrel választottuk el. Az anyagokat 10%-os butanol-kloroformmal leoldottuk a kromatogramtól, az oldószert elpárologtattuk és Zeiss UR 10 spectrométerrel, dikloretán oldatban vizsgáltuk az anyagok IR-spektrumát.

A kísérletek második részében a patkányokat azidomorfinnal, ill. 14-OH-azidomorfinnal kezeltük s. c. és 24 órán keresztül gyűjtöttük az állatok vizeletét. A vizelet β-glukuronidázos emésztése után (pH 5), az azidomorfint és a 14-OH-azidomorfint extraháltuk, kromatografáltuk, eluáltuk a kromatogramról és KBr pasztillában, Perkin-Elmer spektrométerrel vizsgáltuk az anyagok IR spektrumát.

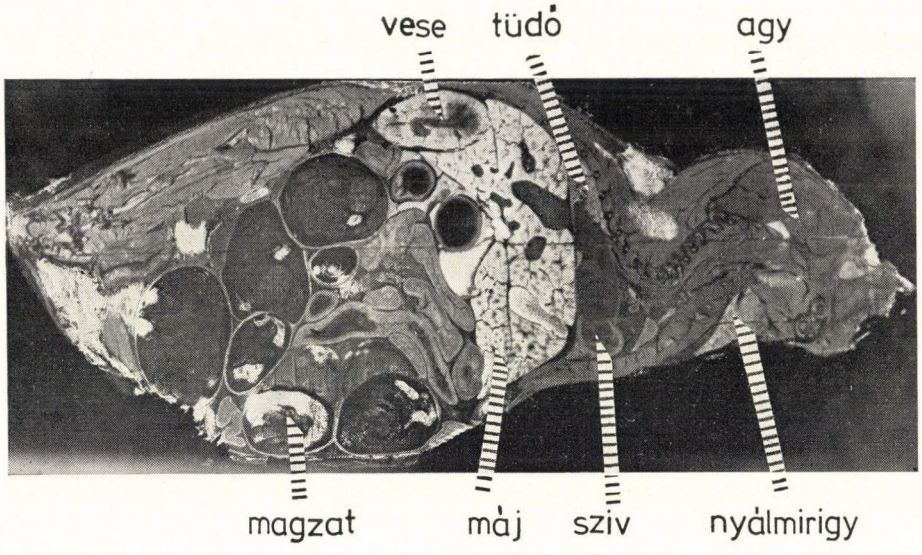
Eredmények és azok megbeszélése

Az azidomorfin eloszlását egérben az egésztest autoradiogramok szemléltetik (1—5. ábra). A vegyület gyorsan bejut a vérből a szövetekbe és már 30 másodperc múlva jelentős koncentrációt ér el a szervekben (1. ábra). Az azidomorfin a központi idegrendszerben is azonnal magas koncentrációt ér el, mely mintegy 20 percig meglehetősen magas marad (3. ábra). A vegyület beadása után 1, ill. 4 óra múlva az agy már szinte háttér aktivitást mutat (4—5. ábra). A szervek közül a máj, a lép, a tüdő, a vese és a barna-zsírszövet magas radioaktivitást tartalmaz.

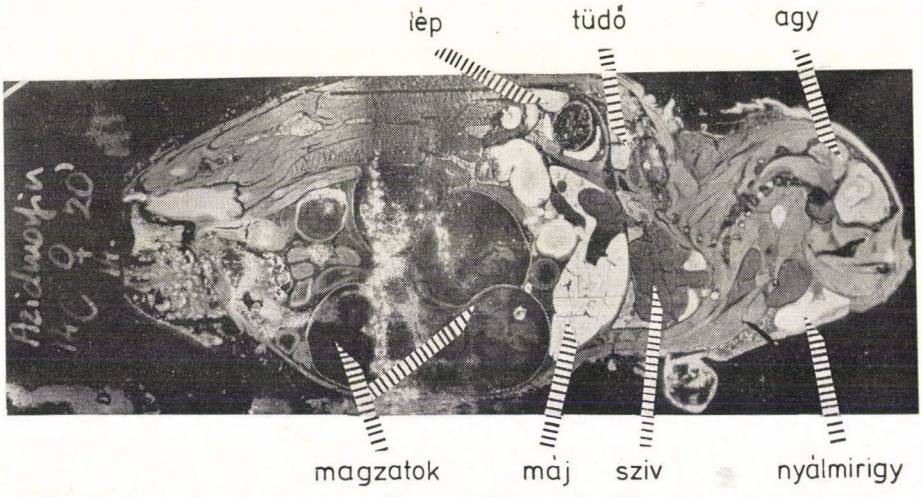
A terhes egerek autoradiogramjai jól szemléltetik a ^{14}C-azidomorfin *placenta penetrációját* is. Az azidomorfin vagy metabolitja átjut a placenta-barrieren, azonban a vizsgálati periódus minden időpontjában a magzati



1. ábra: Terhes egér egésztest autoradiogramja 0,5 perccel ^{14}C-azidomorfin i. v. beadása után (4,045 mg/kg; 5 μCi/állat; 0,2 ml térfogatban)



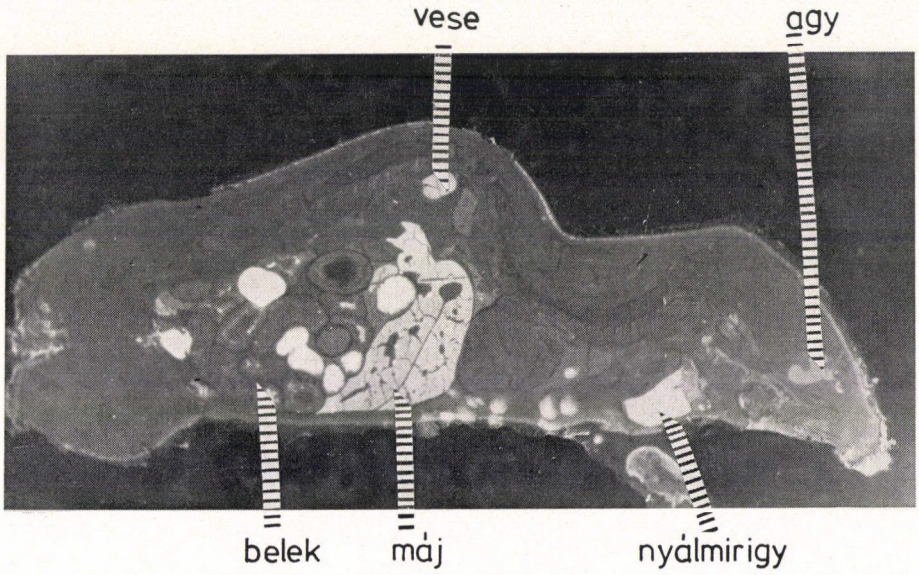
2. ábra: Terhes egér egésztest autoradiogramja 5 perccel ^{14}C-azidomorfin i. v. beadása után. Kísérleti körülmények az 1. ábránál.



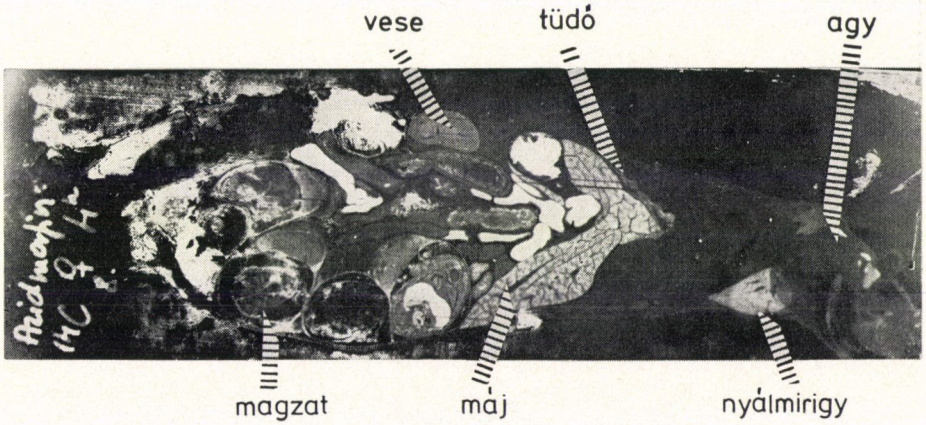
3. ábra: Terhes egér egésztest autoradiogramja 20 perccel a ^{14}C-azidomorfin i. v. beadása után. Kísérleti körülmények az 1. ábránál.

szövetek az anyai szöveteknél kisebb koncentrációban tartalmazzák. A beadást követően 30 másodperc múlva a magzati szövetek még háttér aktivitást mutatnak.

Az autoradiogramok az azidomorfin gyors ürülését mutatják. A vegyület beadása után 60 perc múlva a vegyület már kizárólag a kiürülési helyeken koncentrálódik (4. ábra).



4. ábra: Hím egér egésztest autoradiogramja 60 perccel a ^{14}C-azidomorfin i. v. beadása után. Kísérleti körülmények az 1. ábránál.



5. ábra: Terhes egér egésztest autoradiogramja 240 perccel ^{14}C-azidomorfin i. v. beadása után. Kísérleti körülmények az 1. ábránál.

Patkányagyak autoradiogramjai azt mutatják, hogy növekvő sorrendben a ^{14}C-morfin, ^{14}C-azidomorfin és ^{14}C-azidokodein penetrál jobban az agy-vérgáton (6.—7. ábra). A 4 órás autoradiogramon látható, hogy a vegyületek zöme kiürült a központi idegrendszerből, azonban jelentős mennyiség maradt a talamikus és hipotalamikus területeken (8. ábra).

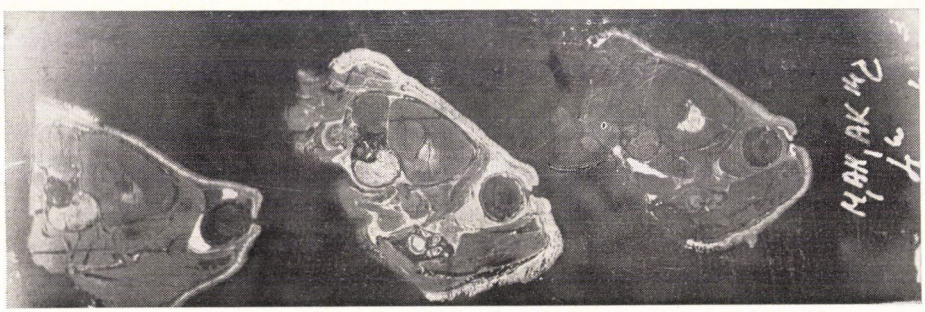
A kvantitatív szöveti meghatározások az egésztest autoradiogramokkal egybehangzóan azt mutatják, hogy a ^{3}H-azidomorfin i.v. beadás után, a máj

azidokodein azidomorfin morfin

6. ábra: Patkányagyak autoradiogramja 20 perccel ^{14}C-morfin (29,67 mg/kg), ^{14}C-azidomorfin (3,24 mg/kg), ill. ^{14}C-azidokodein (14,5 mg/kg) i. v. beadása után (10 μCi/100 g patkány, 0,2 ml térfogatban)

azidokodein azidomorfin morfin

7. ábra: Patkányagyak 60 perces autoradiogramja. Kísérleti feltételek a 6. ábránál.



azidokodein azidomorfin morfin

8. ábra: Patkányagyak 240 perces autoradiogramja. Kísérleti feltételek a 6. ábránál.

I. táblázat

A ^3H-azidomorfin szöveti koncentrációja egér szerveiben a vegyület i. v. beadása után

Idő	dpm/1,0 mg nedves szövet ±S. E.				
	vér	agy	máj	barna-zsírszövet	vese
0,5 perc	349±12	535±62	708± 69	2717±448	4659±356
1 perc	755±68	776±40	1145±274	1124±117	4071±363
5 perc	435±44	713±37	1371±138	989± 52	3572±162
10 perc	451±47	735±70	1136± 72	981±117	3237± 89
30 perc	211±12	301±18	366± 14	270± 11	1044± 98
60 perc	188±10	151±29	159± 10	164± 18	563± 73
2 óra	128± 9	33± 3	116± 4	89± 5	173± 3
4 óra	119±15	15± 2	76± 6	78± 3	169± 9
24 óra	139±15	18± 3	109± 9	80± 7	170± 10
48 óra	133±12	13± 1	54± 5	88± 11	87± 7

Dózis: 260 μg/kg; 5 μCi/20 g egér
Az értékek 5 állat adatainak átlagát jelentik ± S. E.

II. táblázat

A ^3H-14-OH-azidomorfin szöveti koncentrációja egér szerveiben a vegyület i. v. beadása után

Idő	dpm/1,0 mg nedves szövet ± S. E.				
	vér	agy	máj	barna-zsírszövet	vese
0,5 perc	8709±620	707±46	1723±234	1462±76	11 880±1158
1,0 perc	4416±290	945±31	2299±146	1744±134	5 339±800
5,0 perc	3336±545	1169±138	5277±1338	2152±201	5 308±809
10,0 perc	4855±143	946±111	5042±744	1152±67	6 046±1132
30,0 perc	313±22	326±25	1416±28	289±13	1 645±37
60,0 perc	228±13	86±3	892±39	141±5	920±65
2 óra	72±4	18±0,91	412±43	85±8	325±21
4 óra	55±2	12±0,83	335±18	85±4	217±10
24 óra	69±4	8±0,61	154±7	50±7	108±8
48 óra	57±2	6±0,84	103±5	47±4	63±4

Dózis: 1,0 mg/kg; 5 μCi/20 g egér (A radioaktív anyagot inaktív anyaggal 4× -re hígítottuk)
Az értékek 5 állat adatainak átlagát mutatják ± S. E.

kivételével minden szervben már az első másodpercekben elérte legmagasabb koncentrációját, melyet a szintek gyors csökkenése kísért (I. táblázat). Tanulmányoztuk a ^3H-14-OH-azidomorfin eloszlását az egereken, a vegyület i. v. beadása után. Az eredményeket a II. táblázat mutatja. A ^3H-14-OH-azidomorfin az azidomorfinhoz hasonlóan igen jól penetrál a szövetekbe, koncentrációi valamelyest magasabbak is az azidomorfinénál, azonban a vegyület eliminációja is intenzívebb. Az agyi szintekből számított felezési idő az azidomorfin esetében 25,3, a 14-OH-azidomorfinnál 14,6 percnek adódott.

Kísérleteinkben tanulmányoztuk a morfin és az azidomorfin *orális felszívódását* egereken. Mértük különböző idővel a vegyületek beadása után a vér és az agyszövet radioaktivitását. Az eredményeket a vérben a III., az agyszövetekben a IV. táblázat mutatja.

III. táblázat

A morfin és azidomorfinok vérkoncentrációja egérkísérletekben a vegyületek p. o. beadása után

Idő, perc	ng/1,0 mg vér ± S. E.				
	^{14}C-morfin 286,7 mg/kg	^{14}C-azidomorfin 32,36 mg/kg	^{3}H-14-OH-azido-morfin 32,36 mg/kg	^{3}H-azidokodein 32,36 mg/kg	^{3}H-azidoetilmorfin 32,36 mg/kg
15	68,72±16,83	6,17±0,79	9,89±1,66	14,56±2,58	26,91±1,24
30	79,81±17,65	9,07±2,17	63,25±17,92	66,08±2,47	31,84±7,65
60	140,91±26,2	29,66±4,67	39,65±0,99	51,14±4,24	29,53±8,85
120	85,83±20,45	11,32±3,32	8,82±0,96	25,31±8,19	6,20±1,11
240	66,98±15,51	14,23±1,21	23,76±4,55	27,24±6,93	6,99±1,51
1440	33,16±5,21	3,77±1,11	9,34±2,32	18,79±4,0	7,02±1,92

A vegyületeket gyomorszondával adtuk be 0,5 ml térfogatban. A rádioaktív koncentráció 20 μCi/20 g egér volt.

A ^{3}H-jelzett vegyületeket inaktív anyaggal hígítottuk az azidomorfin farmakológiai dózisára.

Az értékek 5 állat adatainak átlagát jelentik ± S. E.

IV. táblázat

A morfin és azidomorfinok agyi koncentrációja egérkísérletekben a vegyületek p. o. beadása után

Idő, perc	ng/1,0 mg nedves szövet ± S. E.				
	^{14}C-morfin 296,2 mg/kg	^{14}C-azidomorfin 32,36 mg/kg	^{3}H-14-OH-azido-morfin 32,36 mg/kg	^{3}H-azidokodein 32,36 mg/kg	^{3}H-azidoetilmorfin 32,36 mg/kg
15	2,81±0,27	0,93±0,13	1,93±0,21	4,97±0,87	4,21±0,37
30	7,36±1,20	2,85±0,45	1,71±0,51	5,0 ±1,16	14,36±0,64
30	4,41±0,27	2,64±0,13	2,47±1,18	3,98±0,45	2,52±0,48
120	6,28±1,20	3,11±0,45	2,04±0,22	4,89±0,28	2,37±0,24
240	4,81±0,13	1,60±0,16	1,17±0,22	3,99±1,19	1,45±0,19
1440	2,41±0,04	0,51±0,10	1,20±0,24	1,45±0,27	1,26±0,22

A vegyületeket gyomorszondával adtuk be 0,5 ml térfogatban. A radioaktív koncentráció 20 μCi/20 g egér volt.

A ^{3}H jelzett vegyületeket inaktív anyaggal hígítottuk az azidomorfin farmakológiai dózisára.

Az értékek 5 állat adatainak átlagát jelentik ± S. E.

V. táblázat

A morfin és az azidomorfinok relatív megoszlási hányadosai

Vegyületek	Megoszlási hányados $\frac{\text{konc. petroléterben}}{\text{konc. pufferben}}$	Relatív oldékonyság petroléterben
^{14}C-morfin	0,0018	1
^{14}C-azidomorfin	0,0021	1,16
^{3}H-14-OH-azidomorfin	0,0051	2,83
^{3}H-azidokodein	0,3696	205,33
^{3}H-azido-etilmorfin	1,1139	618,83

Hőmérséklet: 32 °C; foszfát puffer: 0,1 M, pH 7,2.

VI. táblázat

A morfin, azidomorfin és azidokodein szubcelluláris megoszlása patkányagyban 30 perc múlva a vegyületek i. v. beadása után

Üledék (g × idő)	A kiindulási homogenizatum radioaktivitásának %-os ülepedése±S.E		
	^{14}C-morfin	^{14}C-azidomorfin	^{3}H-azidokodein
500 × 10 perc sejtmag, mielin, sejttöredék	13,43±3,9	12,59±0,7	19,33±6,3
12,000 × 15 perc mitochondrium, mielin, idegvégződések	14,53±4,3	23,25±0,6	19,81±2,7
100 000 × 60 perc mikroszomális frakció	6,28±1,6	9,78±0,8	15,00±0,6
230 000 × 5 óra molekulasúly > 70 000	4,46±1,9	5,60±1,8	7,31±1,4
230 000 × 5 óra supernatáns, molekulasúly g > 70 000	61,79±6,8	47,33±1,4	32,12±3,5
Visszanyerés	100,49	98,55	93,57

Dózis: ^{14}C-morfin, 59,0 mg/kg; ^{14}C-azidomorfin, 6,47 mg/kg; ^{3}H-azidokodein, 6,47 mg/kg
A radioaktív dózis: 20 μCi/100 g patkány. A ^{3}H-azidokodeint inaktív anyaggal hígítottuk.
Az agyat 0,25 M-os szacharózban homogenizáltuk.
A kísérletek száma 4.

VII. táblázat

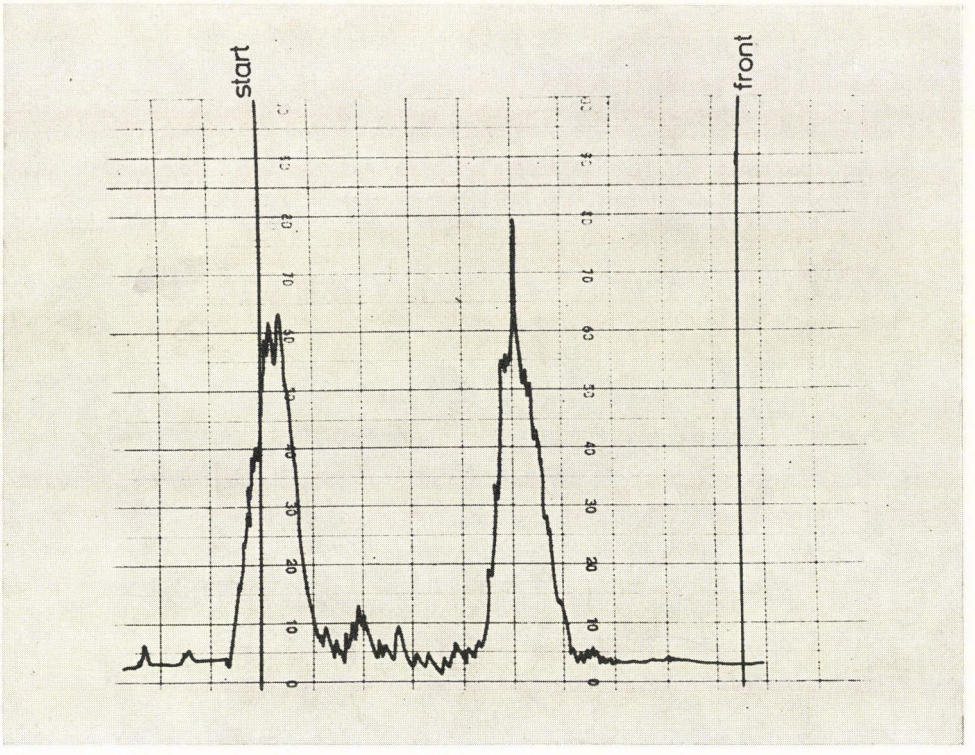
A morfin és azidomorfinok kumulatív ürülése

Idő óra	^{14}C-morfin 53,34 mg/kg	^{14}C-azidomorfin 6,47 mg/kg	^{3}H-14-OH-azidomorfin 1,37 mg/kg	^{3}H-azidokodein 1,37 mg/kg	^{3}H-azidoetil-morfin 1,37 mg/kg
Vizelet					
0—2	7,38	5,16	39,87	5,87	27,05
0—4	26,48	31,09	45,59	54,50	31,49
0—24	64,57	59,79	80,62	72,17	63,83
0—48	87,76	88,75	93,32	89,71	88,29
Széklet					
0—48	1,42	2,53	5,02	3,46	4,52
Az ürített összmennyiség:	89,18	91,28	98,34	94,17	92,81

Az értékek az ürített mennyiséget mutatják a beadott dózis %-ában. A ^{14}C-jelzett vegyületekből 20, a ^{3}H-jelzettekből 40 μCi izotópot adtunk patkányonként (100 g).
A ^{3}H-jelzett vegyületeket inaktív anyaggal hígítottuk a ^{3}H-azidoetilmorfin dózisára.

Annak ellenére, hogy a vegyületek specifikus aktivitása jelentősen eltért egymástól, a farmakológiai és a radioaktív dózis a morfin kivételével valamennyi alkalmazott vegyületnél azonos volt. A morfin esetében csak a radioaktív dózis egyezett a többiével. Ennek elérése céljából a triciált azidovegyületeket inaktív vegyülettel hígítottuk az azidomorfin dózisára.

A III. táblázat azt mutatja, hogy a morfin és azidomorfin kb. egyforma sebességgel szívódik fel a gyomor-béltraktusból, hiszen a beadás utáni 15. perc-

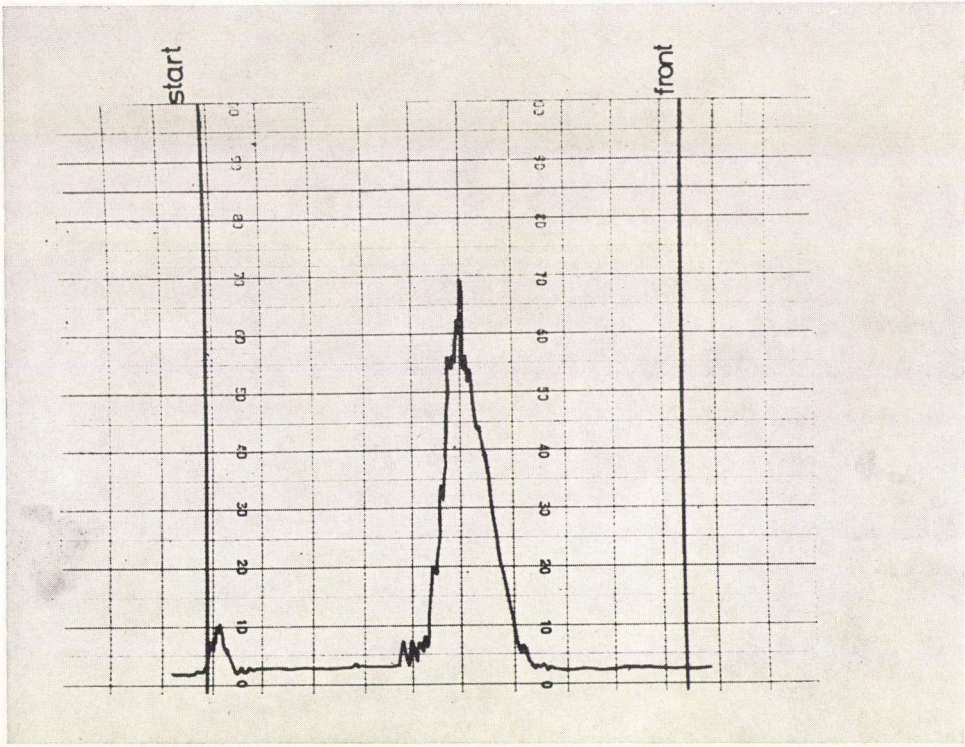


9. ábra: Azidomorfinnal kezelt (2 mg/kg s. c.) patkányvizelet radiokromatogramja. A vizeletet 24 órán át gyűjtöttük. Vékonyréteg kromatogram (Kiesel-gel G_{254} 0,3 mm). Oldószer: ciklohexan: kloroform: dietilamin = 5 : 4 : 1. Azidomorfin: $R_f = 0{,}54$. Azidomorfin-glukuronid: $R_f = 0{,}02$. Lineáris regisztrálás: 1×10^4 cpm.

ben a morfin-azidomorfin dózisában meglevő különbség arányában alakult a vérkoncentráció is. A vizsgált többi azidomorfinszármazék felszívódásának intenzitása azonban meghaladja a morfinét. A 15. percben mért vérszintekből számítva az 5 vegyület felszívódási intenzitásának morfinhoz viszonyított aránya a következő: morfin: azidomorfin: 14-OH-azidomorfin: azidokodein: azidoetilmorfin = 1:0,8:1,4:2,1:3,3.

A IV. táblázat az 5 vegyület orális felszívódása esetében mutatja ugyanezen állatokban az agyi koncentrációkat. Az összes azidovegyület agyi penetrációja jobb mint a morfiné. A 15. perces értékekből a következő arányossági tényezők számíthatók az 5 vegyületből: morfin:-azidomorfin: 14-OH-azidomorfin: azidokodein: azidoetilmorfin = 1:3,3:6,8:17,6:14,9.

A morfinalkaloidok felszívódása és agyi penetrációja valamint *lipoidoldékonyságuk* között összefüggés található. Petroléterben mért relatív megoszlási hányadosaikat az V. táblázat tartalmazza.



10. ábra: Azidomorfinnal kezelt, glukuronidázzal emésztett patkányvizelet radiokromatogramja. A patkányokat 2 mg/kg azidomorfinnal kezeltük s. c. A béta-glukuronidázos emésztés pH-5-nél történt (24 óra, 20000 Fismann egység). A kromatográfiás eljárás körülményei a 9. ábránál.

A morfin, azidomorfin és azidokodein *szubcelluláris eloszlását* a fő szöveti frakciókban a VI. táblázat mutatja. Az azidomorfin és az azidokodein koncentrációja a fő szubcelluláris frakciókban magasabb a morfinénál, míg a felülúszó frakció a morfinból tartalmaz többet (61,79%). Ennél a centrifugálási sebességnél, az alkalmazott időtartam alatt a haemoglobin (molekulasúly 67 000) szintén leülepedett. Az azidomorfin és az azidokodein intenzívebb kötődése a mikroszomális frakcióhoz — melyet máj mikroszomális frakcióban is tapasztaltunk — indirekt módon azt jelenti, hogy az azido-vegyületek metabolikus átalakulásának jobb az esélye.

A morfin, az azidomorfin és származékai a *vizeleten keresztül ürülnek* a patkányok szervezetéből. A beadott dózis 30—50%-a az első 4 órában kiürül és kb. 90% található a 48 órás gyűjtött vizeletben. 48 óra alatt a vegyületeknek csupán 2—5%-a ürült a széklettel (VII. táblázat).

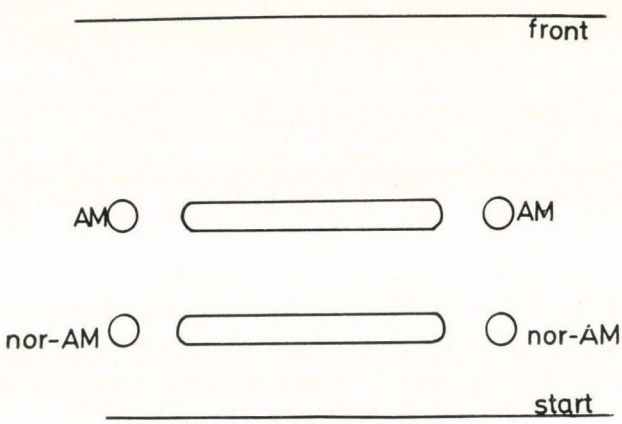
A metabolitok radiokromatográfiás analízise azt mutatja, hogy a 2 mg/kg azidomorfinnal s. c. előkezelt patkányok vizeletében változatlan azidomor-

VIII. táblázat

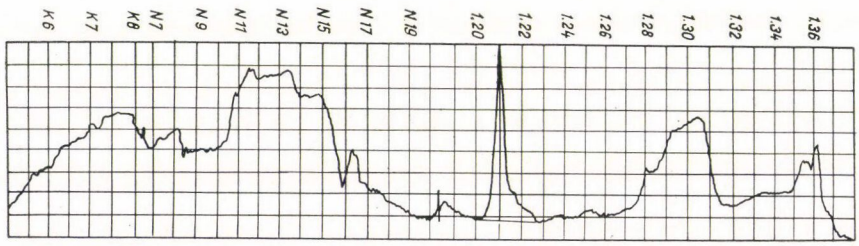
Az azidomorfin N-demetilációja patkánymáj mikroszóma-preparátum hatására

Az azidomorfin konc. M.	HCHO/μg/100mg fehérje/óra
$2{,}17 \times 10^{-4}$	14,7±3,0
$5{,}42 \times 10^{-4}$	18,0±4,5
$1{,}08 \times 10^{-3}$	25,2±5,1

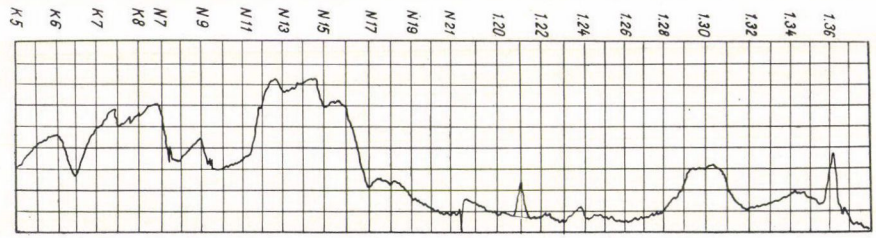
A kísérletek száma 4.



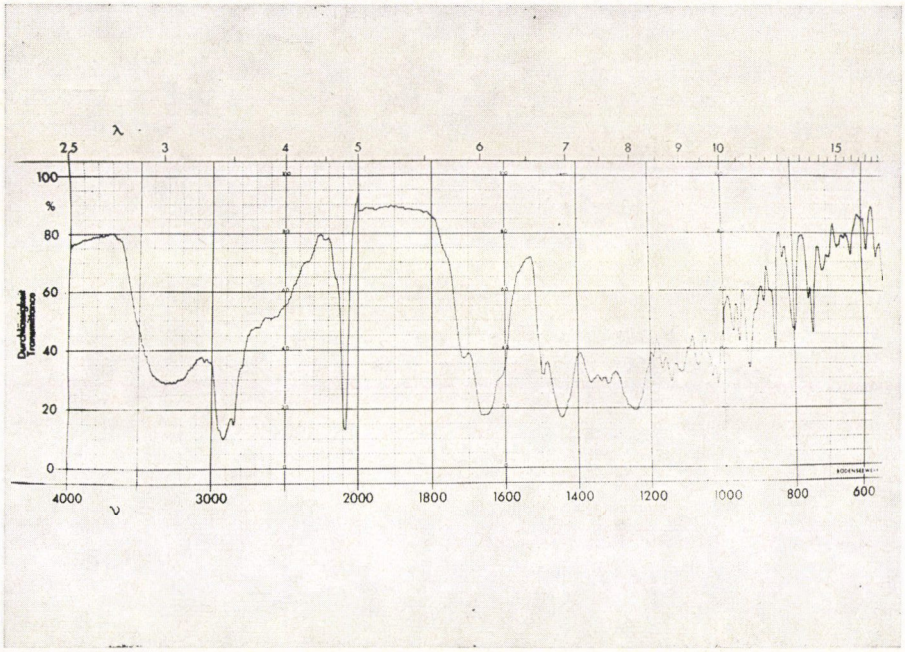
11. ábra: A N-demetilációs közeg extraktumának kromatogramja. Az inkubáció patkánymáj mikroszómával, azidomorfin szubsztrát mellett, 37 °C-on, 1 órán át történt. Kísérleti körülmények a 9. ábránál.
Norazidomorfin: $R_f = 0{,}22$; azidomorfin: $R_f = 0{,}54$.



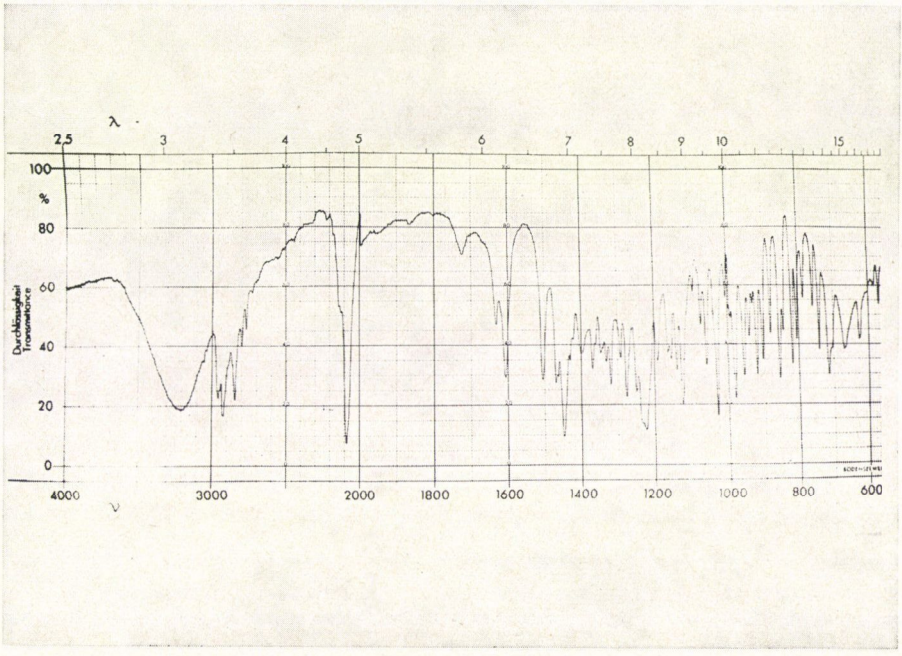
12. ábra: Az N-demetilációs közegből extrahált azidomorfin IR spektruma.



13. ábra: Az N-demetilációs közegből extrahált norazidomorfin IR spektruma.



14. ábra: Azidomorfinnal kezelt (2 mg/kg s. c.) patkányvizelet extraktumából nyert azidomorfin IR spektruma.



15. ábra: 14-OH-azidomorfinnal kezelt (60 mg/kg s. c.) patkány vizelet extraktumának IR spektruma.

fin és annak glukuronid konjugátuma ürül (9. ábra). A 10. ábrán látható, hogy a 0,02 Rf-ü vegyület kizárólag azidomorfin-glukuronid, mivel β-glukuronidázos emésztés után ez a folt megszűnik a kromatogramon.

A VIII. táblázat az *azidomorfin N-demetilációjának* intenzitását mutatja májmikroszóma preparátum hatására. A májmikroszómális frakció extraktumában vékonyréteg kromatográfiával változatlan azidomorfint (Rf = 0,54) és norazidomorfint (Rf = 0,22) találtunk (11. ábra).

A mikroszomával emésztett és a kezelt patkányok vizeletéből kivont azido-vegyületek *IR analízisei* azt mutatták, hogy az azidomorfinnál és a 14-OH-azidomorfinnál az azido-csoportra jellemző karakterisztikus jel 2120 cm^{-1}-nél megmaradt a spektrumban. A 12. ábra az azidomorfin, a 13. ábra a norazidomorfin IR spektrumait mutatja mikroszómával inkubált azidomorfin extraktumából. A 14. és 15. ábrán kezelt állatok vizeletéből extrahált és kromatográfiásan tisztított azidomorfin és 14-OH-azidomorfin IR spektruma látható. Az IR analízisek nem zárják ki az azido-csoport kismérvű átalakulását, azonban nem tudtuk kimutatni a 6-amino-dihidromorfint a vizeletben. A farmakológiai vizsgálatok is ellene szólnak az ilyen irányú nagymérvű átalakulásnak, mivel a 6-amino-dihidromorfin hatástalanabb fájdalomcsillapító az azidomorfinnál mind i. v., mind intraventrikuláris alkalmazás esetén.

Az IR analízisek tehát azt bizonyítják, hogy az azido-szubsztitució a C6 helyen olyan struktúrához vezet, mely megvédi az azido-csoportot, legalábbis a molekulák zömében, az átalakulástól. A metabolizmus vizsgálatok azt mutatják, hogy az azidomorfinok esetében a fő metabolitikus út mint a morfinnál (Way és Adler 1960, 1962; Way 1968) a glukuronid-konjugáció és az N-demetiláció. Az előbbi a fontosabb út a morfin típusú vegyületek inaktiválásában és egyben jobban elősegíti a vegyületek intenzív ürülését is.

Összefoglalás

Kísérleteinkben az azidomorfin és származékainak szervezeten belüli sorsát vizsgáltuk a morfinnal összehasonlítva. A vizsgálatokhoz a vegyületek radioaktiv-jelzett módosulatait használtuk.

Az egésztest autoradiográfiás vizsgálatok azt mutatták, hogy az N-^{14}C-metil-azidomorfin intravénás beadása után gyorsan bejut a szövetekbe. A vegyület vagy metabolitja, átjut ugyan a placenta barrieren, a magzati szövetek azonban az anya szöveteinél kisebb koncentrációban tartalmazzák az azidomorfint. A patkányagyak autoradiográfiás analízise azt bizonyítja, hogy a morfin és azidomorfin szorosan kötődik a talamikus és hipotalamikus területekhez.

A kvantitatív vizsgálatok az egésztest autoradiogramokkal egybehangzó adatokat szolgáltattak. Az azidomorfinok magas koncentrációt érnek el a központi idegrendszerben és gyorsan kiürülnek onnan. A morfin és azidomorfia

egyformán szívódik fel a gyomor-béltraktusból, míg a 14-OH-azidomorfin, azidokodein, azidoetilmorfin felszívódása gyorsabb. Az azido-vegyületek agyi penetrációja is jobb mint a morfiné. Az azidomorfin és azidokodein nagyobb koncentrációban kötődik a mikroszomális frakcióhoz, mint a morfin. Valamennyi vizsgált vegyület a vesén keresztül ürül és a beadott dózis 90%-át találtuk meg a 48 órán át gyűjtött vizeletben. Ugyanezen időtartam alatt csak 2—5% ürült a széklettel.

Az azidovegyületek fő metabolitikus útja a glukuronid konjugáció és az N-demetiláció. Az infravörös spektroszkópiás vizsgálatok azt mutatták, hogy az azido-csoport változatlan marad a szervezetben.

IRODALOM

Allen, R. M. és *Kirby, C. W.:* Chem. Comm. 1346 (1970).
Axelrod, J.: J. Pharmac. exp. Ther. **114,** 430 (1955).
Beckett, A. M. és *Casy, A. F.:* Progr. Med. Chem. **2,** 43 (1962).
Beckett, A. M. és *Casy, A. F.:* Ibid. **4,** 171 (1965).
Beckett, A. H. és *Morton, D. M.:* Biochem. Pharmac. **15,** 937 (1966).
Bognár, R. és *Makleit, S.:* Acta Chim. Hung. **58,** 203 (1968).
Boyd, M. J. és *Logan, M. A.:* J. biol. Chem. **146,** 279 (1942).
Closson, W. D. és *Gray, H. B.:* J. Am. Chem. Soc. **85,** 290 (1963).
Cruickshank, D. W. J., Filippini, G. és *Mills, O. S.:* J. C. S. Chem. Comm. 1 (1972).
Gorman, M. és *Ryan, C. W.:* Cephalosporins and penicillins. Academic Press, N. Y. 1972.
Hofmann, L. M., Wagner, H. A. és *Jacobs, R. S.:* CA **66,** 84302 (1967).
Hyde-Wyatt, R.: C. A. 79, 49678 (1973).
Jones, D. N., Wyse, K. J. és *Kime, D. E.:* J. Chem. Soc. (c) 763 (1971).
Kamiya, T., Saito, Y., Hashimoto, S. és *Seki, H.:* CA **78,** 136624 (1973).
Knoll, J.: Pharmac. Res. Commun, **5,** 175 (1973).
Knoll, J. és *Zsilla, Gabriella:* Biochem. Pharmacol. **23,** 745 (1974).
Knoll, J., Fürst, Zsuzsanna és *Kelemen, K.:* Orvostudomány **22,** 226 (1971).
Knoll, J., Fürst, Zsuzsanna és *Kelemen, K.:* J. pharm. pharmac. **25,** 929 (1973/a).
Knoll, J., Fürst, Zsuzsanna és *Vizi, E. S.:* Pharmacology, **10,** 354 (1973/b).
Krebs, R.: CA **78,** 71663 (1973).
Ladik, J. és *Messmer, A.:* Acta Chim. Hung. **34,** 7 (1962).
Lowry, H., Rosenbough, N. J., Farr, A. A. és *Randall, R. J.:* J. biol. Chem. **193,** 265 (1951).
Mair, A. C. és *Stewens, M. F. E.:* J. Chem. Soc. Perkin I. 1611 (1972).
Müller, A. és *Messmer, A.:* ibid. **38,** 35 (1963).
Ning, R. Y. és *Sternbach, L. M.:* J. Med. Chem. 16, 879 (1973).
Pauling, L. és *Brockway, L. O.:* J. Am. chem. Soc. **59,** 13 (1937).
Porthogese, P. S.: J. Med. Chem. **8,** 609 (1965).
Porthogese, P. S.: J. Pharm. Sci, **55,** 865 (1966).
Ramsay, G. H., Bodin, N. O. és *Hansson, E.:* Arzneim.-Forsch. **22,** 1962 (1972).
Rétsági, G. és *Schwarzmann, Éva:* Orvostudomány, **24,** 359 (1973).
Roberts, J. D.: Chem. Ber. 94, 274 (1961).
Ullberg, s.: Acta Radiol. (Stockholm) Suppl. **118,** 1 (1954).
Way, E. L.: Proc. Ass. Res. neiv. ment. Dis. **46,** 13 (1968).
Way, E. L. és *Adler, T. K.:* Pharmacol. Rev. **12,** 383 (1960).
Way, E. L. és *Adler, T. K.:* The Biochemical Disposition of Morphine and its Surrogates. World Health Organisation, Geneve (1962).
Winter, B. A. és *Goldstein, A.:* Mol. Pharmacol. **6,** 601 (1972).

Semmelweis Orvostudományi Egyetem I. sz. Kórbonctani Intézet, Budapest

RADIOSPEKTROSZKÓPIA AZ ORVOSTUDOMÁNYBAN

ELEK GÁBOR és LAPIS KÁROLY, az MTA levelező tagja

Közlésre érkezett: 1975. II. 5.

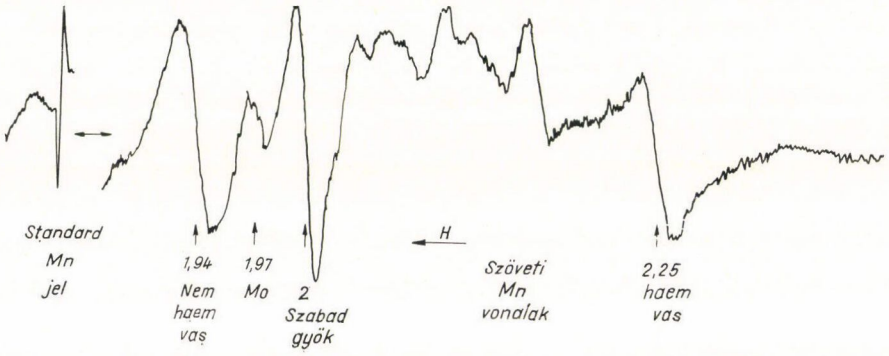
Rádióhullámokkal mindennap találkozunk — mondhatni születésünk óta. A második világháború alkalmazási területüket nagyon kibővítette (radar), kezelésüket hozzáférhetővé és egyszerűvé tette. A rádióhullámokat spektroszkópiai módszerként kezdték használni, olyan módon, ahogyan már régen használjuk a látható fényt vagy a röntgen és infraveres sugarakat (Carrington és McLachlan, 1967). A különböző frekvenciájú rádióhullámok az anyagban különbözőképpen nyelődnek el, tehát velük is abszorpciós spektrumot kaphatunk, akárcsak a látható fénnyel. Ha a maximális abszorpciót ν frekvenciájú elektromágneses sugárzás esetén észleljük, úgy az abszorbeáló részecske energiaállapota $h\nu = \Delta W$ energiával változott meg, ahol h a Planck-féle állandó. A ΔW energiaváltozás a látható fény esetén 0,1—10 elektronvolt (eV), míg a radiospektroszkópiában 10^{-1}—10^{-3}eV. Ez annyit jelent, hogy a radiospektroszkópiával a minta energiaszintjeinek igen finom szerkezetét vizsgálhatjuk meg.

Ilyen kis energiaszintek például azért alakulhatnak ki, mert a mintát alkotó elemi részek mágneses tulajdonságokkal rendelkeznek. Ezen alapszik a két legelterjedtebb radiospektroszkópiás módszer. Az atommag és az elektron kis mágneses dipólusként is elképzelhető. Ha mágneses dipólusok kerülnek állandó (permanens) mágneses térbe, helyzetüktől függően különböző energiájuk van. Ez a „különböző energia" kicsiny energiaszinteket, különböző energiaállapotokat jelent. Az alacsonyabb energiájú állapotokban általában több részecske helyezkedik el, mint a magasabbakon. A rádióhullámú energia akkor nyelődik el a mintában, ha bizonyos részeket képes magasabb energiaállapotba emelni. (Szemléletes példa: megváltoztatja a kis mágnesek helyzetét a mágneses térben.) Ehhez azonban szükséges, hogy a minta permanens mágneses térben legyen, továbbá, hogy az elektromágneses hullámok (rádióhullámok) kvantumai ($h\nu$) éppen akkorák legyenek, mint azok az energiaszintkülönbségek (βH), melyeket a permanens mágneses tér (H) a mintában létrehoz. Ezt fejezzük ki az alábbi egyenlőséggel:

$$h\nu = g\beta H \qquad (1)$$

Ebben az egyenletben h és β univerzális állandó, β az elemi mágnesezés egysége (a Bohr-magneton). A g ugyancsak állandó, azonban nem univerzális, csak a mintától függ és értéke arra jellemző. Függetlenül változtathatjuk tehát ν-t vagy H-t. A spektrométereket úgy építik meg, hogy e két mennyiség közül az egyik változzon, az abszorpciót e változó függvényében mérik, ezért a spektrum abszcisszáján is e változó szerepel. Ha ν állandó (azaz $h\nu$ is), a műszerben H meghatározott értékénél kapunk abszorpciót (azaz rezonanciát). Erre az értékre g is jellemző, ezért az abszcissza g egységekben is skálázható (1. ábra).

A mintában szereplő mágneses dipólusok lehetnek atommagok. Néhány ilyen mágneses momentummal (spin $\neq$ o) rendelkező magot mutat az I. táblázat. A mag-paramágnesség energiaátmeneteinek kimutatásával az ún. magmágneses rezonancia foglalkozik (Nuclear Magnetic Resonance = NMR, ld. Neszmélyi és Radics 1967). Frekvenciatartománya 10—100 MHz, melyhez



1. ábra: Egér máj ESR-spektruma. A szövetet frissen formába nyomták, lefagyasztották a folyékony levegő hőmérsékletére és a spektrumot regisztrálták (ld. Elek és mtsai 1974). Az abszcisszán a lineárisan csökkenő mágneses tér (→) van ábrázolva, a nyilakhoz írt szám a g érték. A spektrumvonalak a rezonanciagörbék differenciálhányadosai

I. táblázat

Néhány atommag mágneses momentuma (Würtrich 1974 nyomán)

Izotóp kémiai jele	Magspin $h/2\pi$ többszörösében	%-os előfordulás	Relatív érzékenység, azonos számú magra számítva, állandó térerősségnél	NMR frekvencia x. 10 kgauss
^{1}H	1/2	99,98	1,000	42,57
^{2}D	1	0,015	$9{,}65\times10^{-3}$	6,53
^{13}C	1/2	1,11	$1{,}59\times10^{-2}$	10,70
^{14}N	1	99,63	$1{,}01\times10^{-3}$	3,08
^{15}N	1/2	0,37	$1{,}04\times10^{-3}$	4,31
^{17}O	5/2	0,04	$2{,}91\times10^{-2}$	5,77
^{33}S	3/2	0,74	$2{,}26\times10^{-3}$	3,27

10—20 ezer gauss erősségű mágneses teret kell alkalmazni, úgy ahogy azt az (1) egyenlet meghatározza. Mágneses momentuma van a szabad elektronnak is, ez a momentun a magénál. Mivel az elektronspin $\pm$ o jóval nagyobb, rezonanciájának kimutatására 3—15 ezer gauss mágneses teret és 10—40 GHz frekvenciát használnak. Ez a módszer az Elektron Spin Rezonancia (ESR), vagy Elektron Paramágneses Rezonancia (EPR, Radics és Neszmélyi 1967).

Ha egy paramágneses centrum minden környezetben pontosan ugyanazon a frekvencián abszorbeálna, legfeljebb viszonylagos mennyiségét lehetne a mintában meghatározni a spektrum intenzitása alapján. Egyfajta paramágneses centrum abszorpciója valóban jellemző frekvenciatartományban következik be, azonban nem mindig pontosan ugyanott. Ennek az az oka, hogy a paramágneses centrum környezetével is kölcsönhatásban áll. A környezet itt a minta többi paramágneses elektronját, vagy atommagját jelenti, melyek szintén kialakítanak egy mágneses teret. Ez a belső mágneses tér az általunk alkalmazott külső mágneses térhez hozzáadódik. Ezért a rezonancia spektrumvonal helyzete (a rezonancia frekvenciája, vagy a mágneses térerősség értéke, v vagy H) függ attól, hogy a kérdéses centrum milyen mintában van, a molekula melyik részén helyezkedik el. A paramágneses atommagok esetén ezt a jelenséget *kémiai eltolódásnak* nevezik és felhasználják vegyületek szerkezetének vizsgálatában. A környezet, a minta felépítésének hatása okozza az ún. *anizotrópia* effektusokat is. A mágneses tér ugyanis bizonyos irányt jelöl ki, melyhez képest a mérendő minta helyzete különféle lehet. Az anizotrópia effektus azt jelenti, hogy a spektrum változik a minta irányításától függően. A környezettel való mágneses kölcsönhatás magyarázza továbbá a spektrum *hiperfinom szerkezetét*. Ezen azt értjük, hogy egyfajta paramágneses momentum több abszorpciós vonalat is adhat, ha környezetében egy másik momentum van. Ezeket az alapjelenségeket használja fel a mágneses rezonancia spektroszkópia a vegyületek szerkezetének vizsgálatában (Hedvig és Zentai 1969). Ezért lehet az NMR a kémiában izomerek arányának megállapítására, vegyületek azonosítására, tehát analitikai célra használt eszköz. A biológiai hatású szerves vegyületek kutatásán túlmenően sajátos biokémiai alkalmazási területe is van: vizsgálható vele a fehérjemolekulák konformációja (Würtrich 1974.).

Az orvosi alkalmazást nagyon megkönnyíti, ha a módszerrel vizsgálható nativ (élő vagy biopsiás) szövet is. A látható fénnyel végzett spektroszkópia erre alkalmatlan, de felhasználható pl. a röntgensugárzás, mert az élő szöveteken áthatol. A rádióhullámok is áthatolnak a szöveteken, de hullámhosszuk az előbbieknél jóval nagyobb, mm, cm, vagy éppen dm nagyságrendű. A nagy hullámhossz miatt ilyen elektromágneses hullámok nem használhatók leképzésre, nem lehet velük finom képet készíteni, használatukból emiatt nem fejlődhet ki morfológiai módszer. A másik szükséges feltétel, hogy a biopsiás

mintában ne legyen sokféle centrum, mert csak így érhetjük el, hogy azok spektruma nem vetül egymásra, nem zavarják egymás független vizsgálatát. Ellenkező esetben ugyanis csak izolált, tiszta anyagokat vizsgálhatnánk, mint a látható vagy infraveres fénnyel végzett spektroszkópiában.

Ez az utóbbi feltétel is teljesül az ESR spektroszkópiában. Az élő szövetben ugyanis nagyon kevés olyan elektron van, melynek mágneses momentuma kimutatható. Mágneses momentuma ugyanis csak a kémiai kötésben részt nem vevő, úgynevezett párosítatlan elektronnak van. Egy vegyérték mindig elektron *párt* jelent, melynek 2 elektronja egymás spinjét semlegesíti és mágneses rezonanciát nem okoz. 1 g szövetben kb. $0{,}1-3 \times 10^{15}$ spin mutatható ki. A szövetben tagolt spektrum figyelhető meg (1. ábra). A spektrum $g = 2$ helyén látható a párosítatlan elektronnak megfelelő vonal. A párosítatlan elektronok elsősorban a mitokondrium oxidációs láncában, vagy a növényi kloroplasztban fordulnak elő és a sejtlégzés, fotoszintézis egyes lépéseiben vesznek részt (Swartz, Bolton és Borg 1972, Commoner és Hollocher 1960).

Azokat a vegyületeket, melyek kémiai kötésben részt nem vevő párosítatlan elektront tartalmaznak — szabadgyököknek nevezzük. A szabadgyökök többsége — éppen a párosítatlan elektron miatt — nagyon reakcióképes, rövid élettartamú vegyület. Ezért átmeneti termékként fordulnak elő bizonyos kémiai reakciókban, vagy olyan hatások következtében jönnek létre, melyek vegyületeket törnek szét, fragmentálnak. Ezért keletkeznek szabadgyökök — ionok mellett — ionizáló sugárzás hatására. Nem kivétel ez alól az élő szervezet sem, röntgensugárzás után a szövetek szabadgyök-koncentrációja átmenetileg megemelkedik, elsősorban a sugárérzékeny szöveteké (Kenny és Commoner 1969, Floyd és mtsai 1973). Melyek a keletkező elsődleges szabadgyökök, milyen további reakciókban vesznek részt, hogyan károsítják az élő szövetet, lehet-e és milyen úton csökkenteni ezt a károsítást — e kérdések tanulmányozása a sugárhatás, sugártherápia szempontjából gyakorlati jelentőségű. Ezért ezeket modell körülmények között, kísérletesen is vizsgálják, és e vizsgálatok bizonyos szakaszában az ESR gyakran használt kísérleti módszer (Wyard és Cook 1969). A lágy szövetekből a szabadgyökök gyorsan eltűnnek, de aránylag hosszabb ideig maradnak meg a csontszövetben. Ezért a csontok ESR spektrumából következtetni lehet a szervezetet ért sugárdózisra, vagy tanulmányozni lehet ilyen módszerrel a pathológiás elmeszesedést (Ostrowski és mtsai 1970, 1972).

Azok a kémiai átalakulások, melyekben átmeneti lépésként szabadgyökök keletkeznek, elsősorban oxidációs reakciók. Ezért figyelhetők meg szabadgyökök fiziológiásan is a mitokondriális oxidoredukciós folyamatokban, ezért növekszik meg mennyiségük a sejtekben ionizációs sugárzás vagy más behatás után oxigén hatására (Swartz 1973, Elek és mtsai 1974). Oxidációs folyamatok lezajlanak a mikroszomális rendszerekben is, bizonyos gyógyszerek (pl. barbiturátok) alakulnak át ezen az úton. A szervezetbe került kancerogén

anyagok átalakulási folyamatai is oxidoredukciós lépéseken át mennek végbe, részben éppen a mikroszomális rendszerekben (urethán). Számos kancerogén anyag lebomlása szabadgyökök keletkezésével kapcsolatos, másokban pedig a szabadgyökök már eleve jelen vannak (dohányfüst, Swartz 1972). Fordítva nem áll ez — a szabadgyökök nem valamennyien kancerogének, hiszen szabadgyökök előfordulnak növényi táplálékokban és gyógyszerek lebomlási termékeiként is (Borg 1972). Nem bizonyított még, hogy a kancerogén anyagok átalakulási termékei közül éppen a szabadgyökök lennének felelősek a biológiai hatásosságért. Ismernünk olyan adatokat is, melyek szerint a szabadgyökkoncentráció nemcsak a karcinogenezis, hanem a tumornövekedés kezdeti szakaszában is elér egy maximumot (Emanuel 1973, Swartz és munkatársai 1972, Baglei és Sidorik 1970).

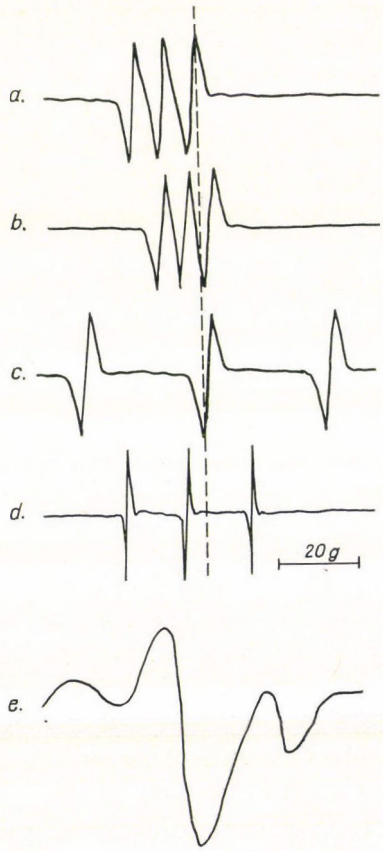
A tumorszövet spektrumában hiányozhat, vagy kevésbé intenzív néhány olyan rezonanciavonal, melyek a normális szövetben a g = 2 vonal mellett helyezkednek el (g = 2,25; 1,94; Dodd 1973; Elek és mtsai, előkészületben). Ezek olyan fémek vegyületeiből származnak, melyekben a belső elektronhéj telítetlen, tehát a párosítatlan elektron nem a vegyértékhéjon helyezkedik el. Ezeket nevezzük paramágneses fémeknek, fémkomplexeknek. Ilyen fém pl. a vas, réz, mely paramágneses abszorpciót okozhat a különböző légzőfermentekbe épülve. E megfigyelések klinikai felhasználhatósága még nem kidolgozott (Swartz és mtsai 1973/a.).

Az elmúlt évtizedek során a könnyen előállítható és kristályosítható humán haemoglobin számos molekuláris vizsgálat tárgya volt. Néhány haemoglobin variáns fehérjeláncának aminósav sorrendje is ismert, s tudjuk hogy az eltérést egyetlen, vagy néhány aminósav megváltozása is okozhatja, A radiospektroszkópiás módszerekkel nyomon követhető, hogy ez az eltérés milyen változást okoz a funkcióban. A számos ismert szabadgyök közül néhány. ugyanis olyan felépítésű, hogy élettartama hosszú, nem vesz részt kémiai reakciókban. Elsősorban a nitroxidgyökök között találtak ilyen ún. stabilis szabadgyököket (Rozantzev 1970). Ezek a haemoglobinmolekulák meghatározott pontjára kötve, mint egy kis indikátor vagy szonda jelzik, hogy környezetükben mi történik. A szabadgyök ugyanis az oldatban bizonyos sebességgel mozog, még akkor is, ha egy nagy fehérjemolekulához van kötve. A fehérjemolekula lassítja, vagy meg is szüntetheti ezt a mozgást, például akkor, ha a szabadgyök a molekula mélyébe csúszik, a fehérjeláncok körülveszik. A mozgás *sebessége* (forgás) az ESR spektrum vonalszélességéből megbecsülhető *(korrelációs idő)*. Mivel a nitroxidgyök spektruma anizotróp (a szabadgyök helyzetétől függően változik, 2. ábra), a spektrumból sokszor azt is meg lehet állapítani, hogy a szabadgyök bizonyos koordinátákhoz viszonyítva milyen helyzetben merevedett meg. Az oxigenálódás során a haemoglobin molekula szerkezete megváltozik, mintegy kitágul. Megváltozik az egyes molekularészletek térbeli helyzete, és ezt a beépített szabadgyökök jelzik (Ho és mtsai 1973).

II. táblázat

Emberi szövetek spin-rács (T_1) relaxációs ideje
(Az adatok Bowée és mtsai 1974, Damadian és mtsai 1974 közleményeiből valók)

Szövetminta	T_1 m sec	
	Normális szövet	Infiltráló primer vagy áttétes carcinoma
Tüdő	788±63	1110±57
Emlő	367±79	1080±82
Gyomor	765±75	1238±109
Nyirokcsomó	720±63	1004±56
Máj	570±29	832±12
Méhnyakcsatorna	827±26	1101
Desztillált víz	2300	



2. ábra: Nitroxid-gyök spektruma. a és *b* esetben a molekulához rendelt koordináta rendszer x és y tengelye, *c* esetben z tengelye párhuzamos a külső mágneses tér irányával, *d* eset az oldatban megfigyelt (kiátlagolódott) spektrum. Ha az oldatot megfagyasztják, tehát megszűnik a szabadgyök mozgása, az *e* spektrumot nyerjük.

A szabadgyökökkel történő jelzésnek ezt a módját, amikor a jelzéssel nem a lokalizációt határozzuk meg (hiszen azt előre ismerjük), hanem a makromolekula konformációjának, szerkezetének változását a jelzés környezetében — *spinjelzések* nevezzük. Ezt a módszert membránok mozgékonyságának vizsgálatára is fel lehet használni. Ismertek adatok, melyek szerint a malignus sejtek hártyájának „viszkozitása" (hajlékonysága) nagyobb a megfelelő normális sejtekénél (pl. a leukémiás sejt membránjáé nagyobb a fehérvérsejtekénél, Inbar és mtsai 1974). A spinjelzés korrelációs idejének mérésével tehát vizsgálhatók membránok, szupramolekuláris struktúrák is (Belágyi 1973). A spinjelzés ígéretes módszer lehet biológiailag aktív molekulák támadáspontja környezetének vizsgálatában is, pl. gyógyszerekhez kapcsolva (Borg 1972, Elek és mtsai 1972). A szabadgyökök maguk is rendelkeznek biológiai hatással (Borg 1972, Emanuel és mtsai 1969) és munkahipotézis, hogy citostatikumok biológiai hatékonyságát úgy növeljék, hogy szabadgyököt kapcsolnak hozzájuk (Emanuel 1973).

Az első táblázat atommagjai közül legkönnyebben vizsgálható a hidrogén atommag. Az NMR vizsgálat ezért legtöbbször proton mágneses rezonancia. A biológiai minták protonjainak többsége a vízben fordul elő, a szövet víztartalmához kötött. Protonrezonanciával vizsgálják a szöveti víztartalom *relaxációs idejét*. A legújabb adatok szerint a normális szövet és a megfelelő malignusan elfajult szövet relaxációs ideje különbséget mutat. A különbség olyan mértékű, hogy felmerült a diagnosztikus felhasználás lehetősége is (II. táblázat) (Damadian és mtsai 1973, 1974; Hollis és mtsai 1973).

A relaxációs idő fogalmának megértéséhez arra kell visszaemlékeznünk, hogy a rezonanciajelenség úgy jön létre, hogy az abszorbeálódó radiofrekvenciás energia a mágneses momentumok egy részét magasabb energiaállapotba emeli. A magasabb energiaállapotban levő részecskék azonban visszatérnek az alacsonyabb energiaállapotba és fölös energiájukat környezetüknek adják át. Az energiaátadásnak ezt a folyamatát *relaxációnak* nevezzük. A relaxiációs idő a nagyobb energiaállapot *élettartamának átlagos értéke*. A protonra vonatkozóan a relaxációs idő az az időállandó, mely alatt az alkalmazott mágneses tér irányához képest rendezett magmágnesség egyensúlyi állapotba kerül, tehát irányítottsága újra statisztikus lesz. T_1 a termikus relaxáció, vagy spin-rács relaxáció, amikor a fölös energia úgy adódik át, hogy a minta hőenergiájává alakul.

A legutóbbi vizsgálatok szerint nemcsak a tumorok, hanem az embrionális szövet (Inch és mtsai 1974, Tompa és mtsai 1974) vagy a regeneráló szövet (Iyima és mtsai 1973, Inch és mtsai 1974) relaxációs ideje is hosszabb a kifejlett normális szöveténél. Legnagyobb a tiszta víz relaxációs ideje, ezért feltételezték, hogy a relaxációs idő növekedését az okozza, hogy a differenciálatlan szövet víztartalma nagyobb a differenciáltabbénál (Bowée és mtsai 1974, Inch és mtsai 1974). De felmerült az is, hogy a jelenség a megnövekedett zsír-

tartalomra vezethető vissza, tulajdonképpen a lipidek protonjainak nagyobb relaxációját mérjük (Inch és mtsai 1974). Ma még az sem ismert, hogy a szövetek relaxációs ideje miért rövidebb, mint a tiszta vizé. Magyarázatként felvetették, hogy a jelenséget a szöveti folyadékban előforduló ionok okozzák (Damadian és mtsai 1973). Pontos összehasonlítások szerint azonban a szöveti folyadék iontartalmának többszörösére lenne szükség, ha csak ez lenne a magyarázat. Ezért fel kell tételezni, hogy a makromolekulákhoz és a membránokhoz kötődött víz csökkent relaxációs ideje is hozzájárul a hatáshoz (Fung 1974). A tumorok T_1-ének növekedése nem az extracellularis vízből ered, mert a malignus sejtek a normális sejteknél szövettenyészetben is magasabb relaxációs időt mutattak (Bowée és mtsai 1974, Hollis és mtsai 1973), (II. táblázat).

A diagnosztikus felhasználás számos problémát vet fel. Erről nem is beszélhetünk addig, amíg ezt a módszert össze nem hasonlították a majd egy évszázada használt morfológiai módszerekkel. Kétségtelen, hogy gyorsabb lehet, mint akármilyen morfológiai módszer és értékeléséhez nem szükséges. sokéves hisztológiai tapasztalat, ami a morfológiai vizsgálat alapfeltétele. Anyagszükséglete már most is alig haladja meg pl. a fagyasztott metszet készítéséhez szükséges anyagét. Azonban sokkal drágább mint a hisztológiai elt járások. Hogy ezekkel sikeresen versenyezhessen, valami előnnyel kell rendelkeznie, pl. szükséges lenne, hogy biztosabban lehesen megítélni a betegség prognózisát. Ezért figyelemreméltóak azok a kísérletes adatok, melyek szerin egy szerv relaxációs ideje már akkor megnövekszik, amikor még csak egy területen vannak benne mikroszkópikus áttétek (Damadian és mtsai 1973, Floyd és mtsai 1974 Hollis és mtsai 1973). Meg kell azonban jegyeznünk, hogy semmit nem tudunk, arról, hogyan változik a relaxációs idő a daganatokon túl menően egyéb pathológiás állapotokban. Lehetséges, hogy fiziológiás állapotokban is ingadozik a szövetek relaxációs ideje, pl. a méhnyálkahártyáé párhuzamosan a menstruációs ciklussal (Smidt és mtsai 1973). Vizsgálatokra tehát tág lehetőség nyílik.

A rádióspektroszkópiás műszerek azonban ma még költséges, drága készülékek. Beszerzésük csak akkor indokolt, ha olyan alapprobléma merült fel, mely nélkülük nem oldható meg és a vegyészek, vagy biológusok ilyen készülékeket igényelnek. Ez a helyzet gyógyszergyárakban, sugárbiológiai intézetekben alakulhat ki. Az ilyen műszer sikeres működésének feltétele, hogy ne okozon nehézséget bizonyos vegyületek előállítása, pl. ESR esetében a szükséges szabadgyökök szintézise. Ez a feltétel elsősorban fizikai-kémiai intézetekken belül biztosított. Ma még a készülékek típusa is gyorsan fejlődik. Hazai körülmények között nem lehet szó arról, hogy azonnal be kell szerezni nagy cégek legmodernebb készülékeit. Az ilyen spektroszkópiai méréseknek azonban feltétele az, hogy legyen olyan környezet, vagy személyzet, mely a készülékeken nemcsak javításokat, hanem a célnak megfelelő kisebb átalakításokat is képes végrehajtani. Számos esetben szükség lehet a spektrum matematikai

feldolgozására, mely számítógépet is igényelhet. A radiospektroszkópia műszereinek költségei és anyagigénye körülbelül az elektronmikroszkópéhoz hasonló. A radiospektroszkópia azonban az elektronmikroszkópnál annyival nehezebben alkalmazható módszer, hogy elméleti alapjai nem kapcsolódnak a morfológiához, melynek az orvosi-biológiai gondolkodásban hagyományai vannak. Másrészről sikeres műveléséhez bizonyos mikrofizikai fogalmak ismerete hozzátartozik. Ezek a feltételek ma még ritkán teljesülnek egyetlen munkahelyen. Ezért gyakori, hogy nemcsak különböző képzettségű, hanem más munkahelyen dolgozó szakembereknek kellene együttműködniük. Kölcsönös jóindulatra van szükség, hogy ilyen irányú munka eredményes legyen.

A radiospektroszkópia tehát fizikai vizsgálati módszer, melyet a biológia területén a gyorsan fejlődő biofizika és molekuláris biológia (helyesebben „szubmolekuláris biológia", Ernst 1974) alkalmaz. Az általa használt egyes fogalmak már a harmincas években kialakultak (Chance 1961), bár a módszer csak 1945-ben született meg. Biológiai alkalmazásának jelentőségét a hatvanas években ismerték fel (Commoner és Hollocher 1960, Szent-Györgyi 1960) és napjainkban próbálkoznak orvosi alkalmazásával. Ma még egyetlen radio-spektroszkópiás módszerről sem állíthatjuk, hogy az orvostudományban annyira hasznos és mindennapos lesz, mint például a röntgensugárzás. Az azonban már bizonyos, hogy a biológia új módszerrel gazdagodott, és az általa nyert adatok ismereteinket számos alapvető kérdésben gazdagították és megválaszolandó új kérdéseket vetettek fel.

IRODALOM

Boglei, E. A., és *Sidorik, E. P.*: Vop. Onkol. (Moszkva) **16**, 95 (1970).
Belágyi, J.: Acta Biochim. Biophys. Acad. Sci. Hung. **8**, 275 (1973).
Borg, D. C.: ESR applied to free Radicals of Physiological, Pharmacological and Biochemical Interest. In: Biological Applications of ESR, ed. H. Swartz. Wiley, Interscience, New York, London (1972). VII. 265—350.
Bowée, W., Huisman, P., Smidt, J. J.: Nat. Cancer Inst. **52**, 595 (1974).
Chance, B., in: Free Radicals in Biological Systems. Academic Press, New York—London (1961). pp. 8—29.
Commoner, B., Hollocher, T. C.: Proc. Nat. Acad. Sci. USA **46**, 405 (1960).
Carrington, A., McLachlan, A. D.: Introduction to Magnetic Resonance. Harper, London (1967), oroszul Mir, Moszkva, (1970).
Damadian, R., Zaner, K., Hor, D. Di Maoi, Th.: Proc. Nat. Acad. Sci. USA **71**, 1471 (1974).
Damadian, R., Zaner, K., Hor, D. Di Maoi, T., Minkoff, L., Goldschmidt, M.: Ann. N. Y. Acad. Sci. **222**, 1048 (1973).
Dodd, N. F. J.: Brit. J. Cancer **28**, 257 (1973).
Elek, G.: Szabadgyökök vizsgálata néhány biologiai rendszerben. Kandidátusi értekezés. Bp. 1974.
Elek, G., Turcsányi, B., Holland, R., Ladányi, L.: Acta Biochim. Biophys. Acad. Sci. Hung. **9**, 15 (1974).
Elek, G., Sajgó, M., Grigorian, G. L. Chibrikin, V. M., Keleti, I.: Acta Biochim. Biophys. Acad. Sci. Hung. **7**, 119 (1972).
Elek, G., Lapis, K., Rockenbauer, A., Tibay, T.: Csirke hepatoma és májszövet ESR spektruma. Acta Biochim. Biophys. Acad. Sci. Hung. Közlés alatt.
Emanuel, N. M.: Ann. N. Y. Acad. Sci. **222**, 1010 (1973).
Emanuel, N. M., Lipcsina, L. P., Pelevina, L. T., Lipatova, T. E.: Dokl. Akad. Nauk Sz.Sz.Sz.R. **124**, 1157 (1959).

Ernst J.: MTA Biol. Oszt. Közl. **17,** 1 (1974).
Floyd, R. A., Bronsdon, A., Commoner, B.: Ann. N. Y. Acad. Sci. **222,** 1077 (1973).
Floyd, R. A., Leigh, I. S., Chance, Br., Miko, M.: Cancer Res. **34,** 89 (1974).
Fung, B. M.: Biochim. Biophys. Acta (Amst.) **362,** 209 (1974).
Hedvig, P., Zentai, G.: Microwave Study of Chemical Structures and Reactions. Akadémiai Kiadó. Budapest. (1969). Magyarul: Műszaki Kiadó (1965).
Ho, C., Lindstrom, T. R., Baldassare, J. J., Bren, J. J.: Ann. N. Y. Acad. Sci. **222,** 21 (1973).
Hollis, D. P., Economon, J. S., Parks, L. C., Eggleston, J. C., Saryan, L. A., Czeisler, I. L.: Cancer Res. **33,** 2156 (1973).
Inbar, M., Shinitzky, M., Sachs, L.: FEBS letters **38,** 268 (1974).
Inch, W. R., McCredie, J. A., Knispel, R. R., Thompson, R. T., Pintar, M. M.: J. Nat. Cancer Inst. **52,** 353 (1974).
Iyima, N., Saito, S., Yoshida, Y.: Physiol. Chem. Phys. **5,** 431 (1973).
Kenny, P., Commoner, B.: Nature **223,** 1229 (1969).
Neszmélyi A., Radics L.: MTA Biol. Oszt. Közl. **10,** 251 (1967).
Ostrowsky, K., Dziedzic-Goclanska, A., Stachowicz, V., Michalik, I.: Histochemie **32,** 344 (1972).
Ostrowsky, K., Dziedzic-Goclanska, A., Michalik, J., Stachowicz, W.: Experientia **26,** 822 (1970).
Radics L., Neszmélyi A.: MTA Biol. Oszt. Közl. **10,** 329 (1967).
Rozantzev, E. G.: Svobodnie Iminoksilnie Radikali. Himija, Moszkva (1970). Angolul: Plenum Press, New York, (1970).
Szent-Györgyi, A.: Introduction to a submolecular biology. Academic Press. New York. (1960).
Smidt, K., Breitmaier, E., Aeikens, B., Zeiger, K. H., Knüttel, B.: Z. Krebsforsch. **80,** 209 (1973).
Swartz, H. M.: Toxic Oxygen Effects. International Review of Cytology, Academic Press, New York–London. **35,** 321 (1973).
Swartz, H. M.: Cancer Res. **15,** 227 (1972).
Swartz, H. M., Mailer, C., Ambegaonkar, S., Antholine, W. E., McNellis, D. R., Schneller, S. J.: Cancer Res. **33,** 2588 (1973).
Swartz, H. M., Ambegaonkar, S., Antholine, W., Koniezny, M., Mailer, C.: Ann. N. Y. Acad. Sci. **222,** 989 (1973/a).
Swartz, H. M., Bolton J. R., Borg, D. C. (eds.). Biological Application of Electron Spin Resonance. Wiley Interscience, New York–London, (1972).
Tompa, K., Lapis, K., Elek, G.: Nem közölt adatok.
Würtrich, K.: Experientia, **30,** 557 (1974).
Wyard, S. J., Cook, J. B.: Solid State Biophysics. Ed. Wyard, S. J. Mc Graw–Hill C. New York–London (1969). pp. 61–103.

Ára: 27,— *Ft*

TARTALOMJEGYZÉK

Korényi-Both András, Lapis Károly és Kelemen Gabriella: Vázizomkárosodások patkányban immunglobulinok hatására (Finomszerkezeti vizsgálatok) 1

Makói Zita, Szőke Zsuzsa, Sasvári Lajos, Gegesi Kiss Pál és *Popper Péter:* A per vias naturales és a császármetszéssel született újszülöttek első felsírásának összehasonlítása. 13

Donáth Tibor, Léránth Csaba és Ungváry György: Adatok a vese velőállományának beidegzéséhez. 21

Petrányi Győző, Iványi Pavel és Hollán Zsuzsa: A HL-,A valamint vércsoportrendszerek (Rh. ABO) és az immunreaktivitás genetikai kapcsolata. 27

Sz. Szalay Katalin, Bácsy Ernő és Stark Ervin: Mellékvesesejt kálium és nátrium tartalom kísérletes hyper- és hypoaldosteronizmusban. Meghatározás elektronsugár-röntgen mikroanalysissel. 43

Benedeczky István és Bolla Kálmán: Ismételt Sanegyt kezelés hatása patkány mellékvesevelő ultrastruktúrájára. 55

Takács Lajos, Bencsáth Pál és Szalay László: A renalis natrium ürítés idegi szabályozásának kérdéséről. 61

Knoll József, Makleit Sándor, Friedmann Tamás, Hársing L. Gábor és Hadházy Pál: Az azidomorfin és származékainak hatása a keringésre, légzésre és a köhögésre. 89

Knoll József, Zséli János, Rónai András és Vizi E. Szilveszter: Az azidomorfin és származékainak hatása a bélmotilitásra. 97

Knoll József, Fürst Zsuzsanna, és Makleit Sándor: A 14-hidroxiazidomorfin farmakológiája. 103

Knoll József, Magyar Kálmán, Makleit Sándor, Zólyomi Gábor és Zsilla Gabriella: Az azidomorfinok sorsa a szervezetben. 111

Elek Gábor és Lapis Károly: Radiospektroszkópia az orvostudományban. 129

Megjelent: 1975. VII. 25.

Index: 26.615

ORVOSTUDOMÁNY

SZERKESZTI: KNOLL JÓZSEF

26.
KÖTET

A MAGYAR TUDOMÁNYOS AKADÉMIA V. ORVOSI TUDOMÁNYOK OSZTÁLYÁNAK KÖZLEMÉNYEI

3–4.
SZÁM

AKADÉMIAI KIADÓ, 1975

ORVOSTUDOMÁNY

A Magyar Tudományos Akadémia V. Orvosi Tudományok Osztályának Közleményei

A SZERKESZTŐ BIZOTTSÁG TAGJAI:

BABICS ANTAL, ERNST JENŐ, GEGESI KISS PÁL, HAYNAL IMRE, KERPEL—FRONIUS ÖDÖN, MISKOLCZY DEZSŐ, ZSEBŐK ZOLTÁN

FŐSZERKESZTŐ
KNOLL JÓZSEF

TECHNIKAI SZERKESZTŐ
KNOLL BERTA

SZERKESZTŐSÉG: 1085 BUDAPEST, ÜLLŐI ÚT 26.
KIADÓHIVATAL: 1363 BUDAPEST, ALKOTMÁNY UTCA 21.

Az Orvostudomány változó terjedelmű füzetekben jelenik meg. Négy füzet alkot egy kötetet. Évenként általában egy kötet jelenik meg.

*Az Orvostudomány*ban az Osztály rendezvényein elhangzott előadások, az Osztály tagjainak eredeti vagy összefoglaló közleményei, továbbá az MTA saját intézeteinek közleményei jelennek meg. Kéziratok a következő címre küldendők:

Orvostudomány
1085 Budapest VIII., Üllői út 26.

A közlésre el nem fogadott kéziratokat a szerkesztőség lehetőleg visszajuttatja a szerzőhöz, de felelősséget a beküldött kéziratok megőrzéséért vagy továbbításáért nem vállal.

Az Orvostudomány előfizetési ára kötetenként 60 forint. Megrendelhető belföldre az Akadémiai Kiadónál (1361 Budapest Alkotmány u. 21. Pénzforgalmi jelzőszámunk 215—11488.), külföldre a „KULTÚRA" Könyv és Hírlap Külkereskedelmi Vállalatnál (1389 Budapest Postafiók 149. Pénzforgalmi jelzőszám: 218-10990 sz.) vagy annak külföldi képviseleteinél és bizományosainál.

A Magyar Tudományos Akadémia V. Orvosi Tudományok Osztálya a következő idegen nyelvű folyóiratokat adja ki:

1. *Acta Chirurgica*,
2. *Acta Medica*,
3. *Acta Microbiologica*,
4. *Acta Morphologica*,
5. *Acta Paediatrica*,
6. *Acta Physiologica*.

E lapok hivatottak a magyar orvostudományok eredményeinek legjavát a külfölddel megismertetni.

A cikkek orosz, német, angol vagy francia nyelven jelennek meg a szerző kívánsága szerint, összefoglaló pedig további egy, ill. két nyelven. A dolgozatot magyar vagy a megfelelő idegen nyelven a következő címre kell beküldeni:

Acta Chirurgica szerkesztősége, 1082 Budapest VIII., Üllői út 78/b.
Acta Medica szerkesztősége, 1083 Budapest VIII., Szigony u. 43.
Acta Microbiologica szerkesztősége, Országos Közegészségügyi Intézet, 1097 Budapest IX., Gyáli út 4.
Acta Morphologica szerkesztősége, Szövet- és Fejlődéstani Intézet, 1091 Budapest IX., Üllői út 93.
Acta Paediatrica szerkesztősége, 1083 Budapest VIII., Bókay J. u. 53.
Acta Physiologica szerkesztősége, 7642 Pécs, Rákóczi u. 80. Élettani Intézet.

KELLNER BÉLA

1904—1975

1975. július 17-én elhunyt Kellner Béla akadémikus, az Onkopathológiai Kutató Intézet megalapítója és volt igazgatója. Halálával a magyar orvostudományt súlyos csapás, és hosszú ideig pótolhatatlan veszteség érte. Elvesztettük személyében a magyar daganatkutatás nemzetközileg elismert, nagy tekintélynek örvendő, kiemelkedő képviselőjét, a magyar pathológia köztiszteletben álló nagy egyéniségét, a hazai tudományos közélet fáradhatatlan munkását. Az élettől való hirtelen megválása tanítványait és jelenlegi közvetlen munkatársait is megdöbbentően váratlanul érte. Halála előtt alig pár héttel több tanítványával és munkatársával, és más orvoskollegákkal is lelkesen beszélt készülőben levő, a daganatok hisztopathológiai diagnosztikájáról írandó könyvéről. Ma is fülemben csengenek szavai, melyekben vázolta, hogy művében egységbe próbálja ötvözni mindazt, amit a daganatok hisztogenezise, diagnosztikája tekintetében a klasszikus hisztológiai vizsgáló eljárások mellett az új, modern módszerek, hisztokémiai és elektronmikroszkópos vizsgáló eljárások révén megismertünk.

Kellner Béla 1904-ben egy kis Baranya megyei faluban, Dályokon született. Fiatal éveit a második világháborúig zömében Pécsett töltötte, s ott szerezte meg orvosi diplomáját is (1929). Szellemi qualitásaival és szorgalmával kiérdemelte, hogy már medikusként is a pécsi tanári kar akkori egyik legnagyobb egyénisége, Entz Béla professzor intézetében dolgozhassék. Ez meghatározó jelentőségűvé vált életében, s pályafutásában, mert Entz professzor nemcsak a pathológia tudományába vezette be, hanem a mélyen demokratikus és

humanista gondolkodású professzor intézetében többedmagával Kellner Béla is mintegy oltalmat kapott a Horthy rendszerben, a számára egyre nehezebbé váló időszakban. Tudjuk, hogy ennek ellenére őt e nehéz időkben nem kevés sérelem és mellőzés érte. Ezekről ugyan nem igen beszélt, csak Entz professzor igaz ember voltáról, mélységes humanizmusáról hallottuk őt többször, nagy hálával megnyilatkozni.

Kellner Béla fiatal orvosként a pathológia egyik legnehezebb területével, a daganatkutatással jegyezte el magát. Fiatalkori kutatásainak értékét és színvonalát fémjelzi, hogy 1936-ban, 32 éves korában az akkori rendszerben sem lehetett megtagadni tőle, hogy munkássága alapján magántanárrá habilitálják. Alkotóerejének és tevékenységének kibontakozási lehetőségét számára a felszabadulás hozta meg. Előbb a Szabolcs utcai Kórház kórboncnok főorvosa lett, majd rövid idő múlva, 1947-ben a Debreceni Tudományegyetem Orvosi Karára nevezték ki kórboncnok professzornak. Itt nagy intenzitással folytatta és szélesítette ki ifjú éveiben elkezdett kutató munkáját. Daganatkutatási tevékenységében, s intézetének fejlesztésében ekkor már nemcsak kórboncnoki tapasztalataira, széles orvosi és általános műveltségére támaszkodhatott, hanem a bécsi Freund professzor Biokémiai Intézetében szerzett ismeretekre is. Szenvedélyes tudományszeretete, dinamikus egyénisége hamarosan tehetséges fiatalok egész seregét vonzotta intézetébe, és rövid néhány éven belül nagy intenzitással és színvonalasan dolgozó, produktív iskola alakult ki körülötte. Energiáját pedig korántsem csak intézetének fejlesztésére és kutató munkájára fordította, hanem az Egyetem demokratikus átszervezésében és a hazai tudományos közéletben is egyre több és nagyobb feladatokat vállalt.

Kutatási tevékenysége két problémakörre irányult. Első témája a daganatok növekedés- és terjedésmódjának, az áttétképzés folyamatának megismerésére irányult. E vizsgálatai abból a felismerésből indultak ki, hogy a daganatok fejlődésében az áttételek megjelenése döntő fordulatot jelent. Vizsgálatai során megállapította, hogy az elsődleges daganat szöveti szerkezetének bizonyos jellemzői alapján következtetni lehet az áttétképződés megindulására, illetve áttételek jelenlétére vagy hiányára. Vizsgálatai tehát a tumorok progressziós fokának minél pontosabb megállapítására irányultak, mert mint pathológus tisztában volt vele, hogy csakis annak ismeretében lehet viszonylag megbízható prognosztikus következtetések birtokába jutni, helyes therápiás eljárásokat kidolgozni és az alkalmazott eljárások eredményességét objektíven összehasonlítani.

Immár Budapesten az általa alapított (1954) Onkopathológiai Kutató Intézetben humán anyagon tett megállapításai nyomán munkatársaival a metastasis képzés mechanizmusainak tisztázására és az áttétképződés — elsősorban cytostatikumokkal történő — gátlására kiterjedt szisztematikus kísérletes vizsgálatokat végzett. E vizsgálatok során évtizedek alatt gyűjtött is-

mereteket és tapasztalatokat „Die Ausbreitung des Krebses. Invasion und Metastasierung" (1971) című monográfiájában foglalta össze. Erre már akkor került sor, mikor elszenvedte az életben kapható legnagyobb csapást: elvesztette felnőtt fiát, egyetlen gyermekét olyan betegség miatt, melynek leküzdésére az apa egész életét áldozta. Mérhetetlen bánatában és fájdalmában csak a munkában talált némi megnyugvást; így, ilyen körülmények között született ez a rendkívül gazdag ismeretanyagot felölelő, hézagpótló mű, melyből pathológus és klinikus csakúgy, mint a kísérletes daganatkutató, gazdagon meríthet ismereteket és gondolatokat gyakorlati orvosi munkájához és további kutatásaihoz egyaránt.

Másik témája a daganatok kísérletes chemotherápiája volt. Nagy szerepe volt abban, hogy a nagymúltú magyar gyógyszervegyészet termékeinek daganatnövekedés-gátló hatás szempontjából való kivizsgálása rendkívül megbízható és korszerű módon történt. A hatásosság megállapítása mellett ő és iskolája mindig nagy gondot fordított és fordít arra is, hogy a hatásosnak bizonyult szer hatásmódját is minél alaposabban megismerjük. Csakis így születhettek olyan eredmények, melyek nyomán több hatásos gyógyszer, pl. Degranol, Zytofenton, Dibromdulcit került itthon és külföldön forgalomba.

Kellner Béla az Entz iskolából magával hozta a tanítás szeretetét, diákjai szerették dinamikus és kritikus előadásmódját, megérezték szenvedélyes szakma- és tudományszeretetét. A debreceni katedrától történő megválás után is megtalálta a módját, hogy tárgyi tudását és tapasztalatát közkinccsé tegye. Korábban is, de főként mint az OTKI onkopathológiai tanszékének vezetője, onkológiai továbbképző előadássorozatok keretében olyan előadásokat tartott, amelyek eseményszámba mentek.

A mindannapos diagnosztikus tevékenységet különösen szerette és abból mindvégig kivette részét; a kórszövettani diagnosztikát a kutatómunka elé helyezte, s erre nevelte tanítványait is. Mindig figyelmeztetett a kórszövettani diagnózisok súlyára, s következményeire, hogy a klinikum és a metszetekben látható elváltozások ismeretében diagnózisunkban sohase mondjunk se többet, se kevesebbet, mint amennyit tiszta lelkiismerettel vállalni lehet s ne szégyelljük elismerni, hogy tudásunk véges. Szerette, ha a consiliumok során egy-egy eset megítélését illetően vitatkoztunk vele, a vita nyomán még elmélyültebben foglalkozott az esettel, s ha azután némelykor a tanítvány véleménye bizonyult helyesnek, nem egyszer látszott rajta, hogy kifejezetten örült annak. A daganat-diagnosztika egyik legnehezebb területén, a malignus lymphomák diagnosztikája területén szerzett gazdag tapasztalatairól a munkatársaival írt, német nyelven is megjelent, klinikopathológiai szemléletű „A nyirokcsomók daganatai" című könyvében számolt be.

Energiájából mindvégig bőven jutott a szakmai közélet számára, s szakmapolitikai feladatok ellátására. Az évtizedek során betöltött nagyszámú funkciói közül csak néhányat említek. Hosszú éveken át vezetőségi tagja volt

a Magyar Pathológusok Társaságának, elnöke volt a Magyar Onkológus szakcsoportnak, ill. társaságnak, a Magyar Tudományos Akadémia és Egészségügyi Minisztérium Onkológiai Bizottságának és a Tudományos Minősítő Bizottság Elméleti Orvosi Szakbizottságának. Utóbbi feladat felelősségteljes ellátására különösen sok időt és energiát fordított.

A magyar tudományos közélet és a kormányzat elismeréssel adózott Kellner Béla oktató, továbbképző, kutató és tudománypolitikai tevékenységének. A Magyar Tudományos Akadémia levelező (1948), majd rendes (1973) tagjává választotta. A Magyar Köztársasági Érdemrend V. fokozata, (1949), a Magyar Népköztársasági Érdemrend IV. fokozata (1950), Kiváló Orvos (1956), a Munka Érdemrend arany fokozata (1964), Állami Díj II. fokozata (1966) és sok más kitüntetésben részesült; több neves külföldi orvosi társaság is tagjává választotta.

Szakmai és tudománypolitikai tevékenysége mellett Kellner professzort tehetsége, szorgalma és roppant munkabírása képessé tette arra is, hogy az emberi szellem alkotásainak széles spektrumát is áttekintse, különösen gazdag irodalmi és képzőművészeti ismertekkel rendelkezett. Szocialista társadalmunk fejlődését gondosan analizáló és azt elősegítő tudós volt.

Mint főnök, munkatársaival szemben csakúgy, mint önmaga iránt, igényes volt. Olykor hirtelen indulatában ha munkatársait meg is bántotta, ha ez igazságtalanul történt, az legjobban őt emésztette és vette magának a fáradságot, hogy akár bocsánatot is kérjen. Zárkózott természete miatt emberi jósága igazán csak akkor bontakozott ki, ha egy-egy munkatársa nagyobb bajba került; ilyenkor szinte atyai szeretettel állt melléje.

Nagyműveltségű, puritán, tiszteletet keltő egyéniség volt, aki sokat töprengve alkotta meg véleményét és foglalt el elvi álláspontot s véleményét, nézeteit úgynevezett „kényes" kérdésekben is mindig nyiltan kifejtette.

Búcsúzik tőle a magyar pathológusok nagy családja, a Magyar Onkológusok Társasága, búcsúzik tőle nagyszámú tanítványa, akiknek mindegyike úgy törekszik bizonyítani, hogy méltó tanítómestere bizalmára, hogy képességeinek és energiájának teljes latbavetésével törekszik legjobb lelkiismerete szerint ellátni a ráeső feladatot, legyen az kórbonctani osztály vezetése, laboratóriumi kutatómunka, kutatóintézet igazgatása, vagy egyetemi tanszék vezetése.

Budapest, 1975. december 22.

Dr. Lapis Károly

Semmelweis Orvostudományi Egyetem I. sz. Gyermekklinika, Budapest

AZ AKADÉMIA SZEREPE AZ ORVOSTUDOMÁNY ÉS AZ EGÉSZSÉGÜGY FEJLŐDÉSÉBEN*

GEGESI KISS PÁL akadémikus

Közlésre érkezett: 1975. V. 8.

A Magyar Tudományos Akadémia hazánkban a legfelsőbb tudományos testület. Mint ilyen nemcsak részt vesz a tudományos kutatások országos irányításában, hanem tagjainak munkásságával közvetlenül műveli a tudományokat és a tudományok művelésére intézeteket tart fenn, egyetemi tanszékeken tudományos csoportokat támogat. Akadémiánk tehát kétféle módon is hat az országos tudományos életre. Egyrészt értékeléssel mint katalizátor tagjait, saját intézeteit, továbbá másokat, más testületeket, szervezeteket is aktivizál, másrészt tagjai, intézetei közbejöttével mintegy példamutatóan közvetlen tudományos munkát végez.

Az Akadémiánk ekkénti tevékenysége kiterjed a hazai tudományos élet egészére és így az orvostudományokra és az orvostudományokon át a hazai egészségügyre is.

Az egészségügy az emberrel közvetlenül foglalkozó bizonyos gyakorlati tevékenységek és egyben bizonyos tudományok egészét és egységét foglalja magában. Talán nincsen még egy terület, amelyben az elmélet és a gyakorlat annyira össze lenne fonódva, mint az egészségügyi tevékenységekben. Mind az ún. elméleti tudományos munkákban, mind az ún. egészségügyi mindennapi gyakorlatban az elmélet és a gyakorlat úgyszólván folyamatosan hat egymásra. A betegágynál felmerült és látszólag csak konkrét emberre vonatkozó megfigyelések egészen általános jellegű orvosi, sőt biológiai elméleti problémák felvetését indíthatják. És hasonlóan a legelvontabbnak látszó elméleti fiziológiai, biofizikai, biokémiai, pathológiai vagy akár psychológiai kutatások eredményei egyik napról a másikra konkrét gyógyító, vagy betegség bajmegelőző szerepre tehetnek szert.

Az egészségügy éppen azért nagyon bonyolult, mert az ember, aki a foglalkozásának közvetlen tárgya, ugyancsak nagyon bonyolult. Sőt azt mondhatjuk, hogy az ember bonyolultsága alig tekinthető át. Ez azt is magával hozza, hogy az orvostudományokkal — talán helyesebben kifejezve az egészségtudományokkal — való bármilyen foglalkozáskor mindenekelőtt szükséges pontosan fogalmazni.

* Az MTA fennállásának 150 éves jubileuma alkalmából tartott közgyűlési osztályülésen 1975, május 6-án elhangzott előadás.

Nem véletlenül használom az orvostudományok kifejezést, tehát a többes számot. Az orvostudomány mint egész — különösen a legutóbbi félévszázad alatt rendkívüli differenciálódáson ment át. Az áttekinthetőség kedvéért az orvostudományokat két nagy csaportba szokás osztani: 1. elméleti, experimentalis orvostudományokra, és 2. klinikai orvostudományokra. Mind a két átfogó nagy csoport több részre tagolódik.

Az elméleti jellegűek között vannak: a) morfológiai jellegűek, és b) funkcionállis jellegűek. Bár jól tudjuk, hogy bizonyos szinten a két formáció között alig vonható határ. A klinikai orvostudományok között pedig vannak: a) a meglevő egészséget védő, b) bajt, betegséget megelőző, c) közvetlenül gyógyító, járványokat leküzdő, d) a közvetlen gyógyulás utáni rehabilitációs problémákkal foglalkozó tudományszakok.

Mind a két nagy tudomány-csoportnak és a hozzájuk tartozó szűkebb szakterületeknek kibontakozott egyrészt az egyed-emberrel, az individuummal foglalkozó része, másrészt kibontakozott az ember környezetének az egészségre ható tényezőivel foglalkozó része. Éspedig kibontakoztak mind a természeti, mind a társadalmi jellegű környezetnek az egyes emberre és a különböző embercsoportokra ható kedvező és kedvezőtlen tényezőivel foglalkozó szakok.

Mivel a mai történelmi szakaszban az ember az ontogenezis folyamán biológiai és társadalmi hatások egybeszövődő érvényesülése közben érik és fejlődik, a fentiekben érintett orvostudomány-területek mindegyikének kutatása közben figyelembe kell venni mind a biológiai, mind a társadalmi tényezőket. Figyelembe kell venni ezek egymásra hatását az embernek a magzati élettől kezdve a megszületésen át a csecsemő-, a gyermek-, az ifjú-, a felnőtt-, az öregedő- és az öreg életkorszakaiban egyaránt, amikor e korok egészségállapotának és betegségfolyamatainak, állapotainak sajátosságait kutatjuk.

A magzati és az újszülött életszakban levő egyed úgyszólván tisztán biológiai jellegű lény és ebben az életszakban az érvényesülő környezeti hatások tisztán természeti jellegű hatások. Ilyen hatásokra halad előre a testi szervezet érése a filogenezisben beprogramozódottak törvényszerűségeit követve. A csecsemőkortól kezdve viszont az ontogenezis előrehaladásával mind jelentősebb és jelentősebb a szerepük mind az érésben, mind a fejlődésben a társadalmi jellegű környezeti hatásoknak.

A felnőtt emberré válás útjának tudományos kutatásakor tehát nemcsak a klasszikusan értelmezett orvosi kutatásokra van szükség, hanem ezek mellett elengedhetetlen bizonyos társadalmi tudományok — elsősorban a psychológia, a pedagógia, a szociológia — orvostudományi szempontból való művelése is. Elengedhetetlen ez, mert a csecsemő korszaktól kezdődve mind az egészségállapot, mind a betegségi folyamatok és állapotok milyensége egyaránt függ szomatiko-psychés és psycho-szomatikus mozgásirányú egészséges és kóros hatásoktól.

Ezeket figyelembe véve azt kell mondanunk, hogy a mai korszerű orvos-

tudományok eredményes művelése hármas pillér egységén kell nyugodjon. Egyrészt minden orvostudományi kutatásnak biológiai kiindulásúnak kell lennie. Számításba kell vennie, hogy a ma létező egyed ember is a létezés életfolyamatának szerves, kiszakíthatatlan része. A kutatás tehát az egyedet ne a biológiai folyamatból kiszakítva szemlélje, hanem mindig vegye számításba a filogenezisen belül a human genetikát: az öröklési, a veleszületett tényezőket. Az egyed ember ma is olyan valami, aki az ősök által kialakított, megszerzett morfológiai és fiziológiai tulajdonságokat, képességeket, készségeket, adottságokat bizonyos fokig és bizonyos formában veleszületetten magával hozza az egyedi életéhez. Az lehet, hogy a veleszületetten magával hozottak nem közvetlenül a megszületés után, hanem valamelyik későbbi életszakban manifesztálódnak, de ez a lényegen nem változtat.

Ez a biológiai tényező azonban csak az egyik pillér, amit a korszerű kutatásban számításba kell venni. A második pillér az a tény csoport, hogy a ma élő ember csak társadalmi környezettel funkcionálisan szoros egységet alkotva tud egyéni életében kibontakozni, az egyén csak ekként tudja az adott lehetőségein belül önmagát megvalósítani, megfogalmazni. A mai ember életét ui. ugyanis, mind testi-szervezeti, mind psychés életét, *megszületésétől kezdve* folyamatosan társadalmi környezet, valamilyen közösség alakítja. Külső társadalmi hatásra épül be, felnőtti közösség építi be — tudatosan és nem tudatosan, akarva és nem akarva az új egyén idegrendszere működésébe azokat a programokat, azt az életcélt, azt az értékelő rendszert, azt a világ modellt, azt az „élet értelme" modellt, amelyek később élete folyamatát, mintegy a kibernetika törvényszerűségei szerint vezérlik.

Félreértések elkerülése végett röviden foglalkoznunk kell azzal, hogy az éppen most szóban levő közösség az egyedi élet kezdet kezdetén csak az egyénből saját magából és az anyából (a gondozóból) áll. A környezet, mint hatástényező csak az egyedi élet későbbi szakában bővül. Fokozatosan kezd eredményesen hatni mint környezet a család egésze, majd még később a családon kívüli közösségek, mint környezethatások: a bölcsőde, a napközi, az óvoda, az iskola, majd a felnőttségben a munkahely. Mindezekkel egybe szövődve az élet bizonyos szaka után érvényesül, mint környezethatás a mindennapi társadalmi élet: az utca, a játszóterek, a közlekedés, a kereskedelem, az üdülési, a kulturálódási, a hírközlési, a szórakozási helyek mindennapi élete, mint hatástényezők. Bár lényegében a család maga is formájában és élete tartalmában egyaránt függvénye a társadalom milyenségének, mégis a fiatal egyed szubjektuma számára jogosan különítjük el mint hatástényezőket: a családot és a családon kívüli társadalmat.

Az említett környezetek, emberi és tárgyi közösségek a legfiatalabb életkortól kezdve folyamatosan közvetlenül vagy közvetve hatnak az egyedre. E környezetek létezéséből fakadó jelenségek, mint „ingerek" az egyed idegrendszerét, szervezetét ingerületbe-izgalomba hozzák. A szervezet egésze műkö-

désének rendszere, ezzel együtt a psychikumát is magában foglaló személyisége az ekként keletkezett ingerületeknek-izgalmaknak belső és külső egyedi feldolgozása nyomán alakul ki. Ekként válik függvényévé az egyén szervezeti működésének rendszere, valamint személyisége a környezeti, a társadalmi folyamatos ráhatásoknak.

Az orvostudományok eredményes korszerű művelésének harmadik pillére abból adódik, hogy a mondottakon túl a mai ember, a szóban levő egyed az általános emberin belül egy bizonyos, csupán egyetlen egyszer létező, mindenki mástól eltérő, a közösségben élve is elkülönült különös egység, különös individuum is. Egyéni élete történelmi egyediségéből kifolyólag egybizonyos összefüggésű, csupán őt jellemző szubjektív emlékanyag van beépülve az idegrendszerébe, a szervezetébe, a psychikumába, a személyisége egészébe. Ez az egyéni szubjektív emlékanyag, a sajátos emlékvilág részben mint statikum, részben mint dinamizmus befolyásolja az egyént a mindennapok életének élésében. A tudományos kutatásban ez az individualitás, ez a szubjektív létezési összefüggés mind a szervezeti működési rendszer, mind a psychikum, mind a személyiség egésze megnyilvánulásainak szempontjából csak egyénenként és egyénien közelíthető meg.

Ezt a szubjektív egyéni emlékvilágot, emlékanyagot tágabb értelemben kell felfogni, mint ahogyan általában szokták. Az emberi emlékvilágban nemcsak verbalizáltan intellektuális szféráról van szó. Szükséges — ha csak egészen vázlatosan is — érinteni az emlékvilág struktúráját.

Az egyéni emlékvilágnak, emlékanyagnak egyik részét, a statikai jellegű részt az egyedi élet folyamán a testi-szervezet morfológiás jellegű struktúrájára ható tényezők hozzák létre. Ilyen szempontból nézve statikai, morfológiai jellegű „emlékanyagok" pl. mindazok a hegek, mindazok a végleg megmaradó morfológiai elváltozások, amelyek a testi-szervezetben az egyedi korábbi kóros életfolyamatok folyamán keletkezett elváltozások következtében jöttek létre. Az ilyen morfológiai struktúra változás az egyed egyéni „emlékanyaga", mert hiszen egyénileg csupán őt jellemzően, speciálisan megszabja bizonyos élettani működések milyenségét. Gondoljunk pl. a keményen merev mitralis stenosisra, vagy valamilyen baleset következtében létrejött végtag-csonkolódásra, vagy myocardialis heg által létrehozott pitvar-kamrai vezetési blockra.

A dinámiaszerű „emlékanyagokat" a közvetlen funkcionállis jelleg határozza meg. E funkcionállis emlékanyag részben fiziológiai, részben psychológiai jellegű. A közvetlen funkcionális megnyilvánulású dinámiaszerű emlékek is szerveződhetnek rendszerré. Ezek a funkcionállis rendszerek szerveződhetnek a verbalizált tudatszférába mint összefüggő képzetek, fogalmak, érzetek. Szerveződhet az ilyen emlékanyag a nem verbalizált emocionális (érzelmi, indulati) szférába. Mindkét elhelyezkedésű emlékanyag, illetve mindkét emlékanyag forma mivel dinámia jellegű hatásában befolyásolhatja az egész személyiséget, annak magatartását, megnyilvánulásait, leterjedve a hatás egészen a vegetációs

sejti-szöveti működésig. *Fiziológiai* jellegű emlékanyagként tekinthetjük a különböző immunitásokat, allergiákat, hyperergiákat, külön kiemelve az autoimmun folyamatokat.

Az emberben az egyedi élete folyamán mintegy történelmileg felgyűlt és beépült egyéni szubjektív „emlékanyag" azt is befolyásolja, hogy egy aktuális pillanatban az egyedre ható „inger"-t — legyen az inger testi vagy psychés jellegű, legyen az fertőzés, vagy sérülés, sértés (testi vagy psychés sértés) — az egyednek össz-szervezeti működése, psychikuma, személyiségének egésze miként dolgozza fel, miként értékeli, miként kódolja, majd a belső feldolgozás eredményeként az ingerre miként „válaszol". Az orvostudományok műveléséhez azért szükséges ezt is figyelembe venni, mert hiszen a „betegség" is ilyen feldolgozás eredménye, ilyen „válasz".

Az a három nagy pillér tehát, amin a korszerű orvostudományi kutatások és egyben a korszerű egészségügy felépül, röviden összefoglalva a következő:
1. egyrészt az ember, akivel és akinek problémáival foglalkozunk, ma is alapjában biológiai jellegét megőrzött lény. Az ember minden megnyilvánulása — ekként egészsége és betegsége — ma is függ biológiai tényezőktől;
2. másrészt ugyanekkor ez a biológiai eredetű ember és problémái minél inkább halad az egyed ontogenetikus érése a felnőttség felé, annál inkább egybe vannak forrva a környezeti, társadalmi tényezőkkel;
3. és végül az ember és a mindenkori problémái (és így bajai, betegségei) szorosan függenek sajátosan egyéni szubjektív „emlékanyagától", emlékvilágától, saját egyéni élettörténetétől.

Ez a három tényező-csoport hatásában egybefonódva szabja meg azt a személyiségben felépült kibernetikai rendszert, ami vezérli, meghatározza azt a magatartást, azt a reagálási módot, ahogyan egybizonyos „betegséget" kiváltó ingerre a testi-szervezete, a psychikuma, a személyisége egésze válaszol: megbetegszik, majd meggyógyul. Ha e három tényező-csoportot orvosi fogalmakkal kívánom röviden jelölni: constitutio, aktuális conditio és aktuális személyiségről szólhatok.

Az ilyen szemléletű orvostudományi kutatások hazai kialakulásában és eredményes művelésében elévülhetetlen érdeme Akadémiánknak, hogy az 1949. évi átszervezéskor létrehozta az orvostudományok osztályát, ebbe az osztályba tömörítette az akkori haladó szemléletű és már korábban is kiemelkedő eredményeket elért tudósokat. Ekként az Akadémia az orvostudományokat beillesztette a tudományok egészének rendszerébe. Lehetővé tette, hogy a különböző tudományok közvetlen hatása érvényesüljön az orvostudományokra, másrészt az Akadémia egészén belül az Orvosi Osztály irányításával mégis mód legyen a tudományok egésze, „az universitas" szellemében az önmaga törvényszerűségeit érvényesíteni tudó orvosi kutató munkát végezni, illetve ilyen orvosi, egészségügyi szellemben irányítani a tudományos munka szervezési részét.

Ezen alapvetően elvi jellegű támogatás mellett azután további segítséget jelentett az orvostudományok műveléséhez és ezen át a magyar egészségügy fejlesztéséhez az Akadémia azon tevékenysége, hogy magyar és idegen nyelvű folyóiratokat és könyveket ad ki. A tudományos munka akkor lép ki az előkelő elefántcsont toronyból, mikor a kutatási eredmények a széles nyilvánosság elé kerülnek. A szakmai nagy nyilvánosság elé kerüléshez ad lehetőséget az Akadémia folyóirat- és könyvkiadása. Az elmúlt évtizedekben e folyóiratok és e könyvek segítségével mind a hazai, mind a külföldi orvosok, egészségügyi dolgozók úgyszólván első kézből tájékozódhattak a kutatási eredmények létrejötte és nyelvi megfogalmazása után aránylag nagyon rövid időn belül tudósaink kutatásairól. Így a szakemberek időveszteség nélkül felhasználhatták az eredményeket akár továbbkutatásra, akár a mindennapi gyakorlati munkában.

Ehhez a segítséghez úgyszólván közvetlenül kapcsolódik az Akadémiának tudományos összejövetelek rendezésére, illetve ilyenek támogatására irányuló tevékenysége. Valamint annak lehetővé tétele és szervezése, hogy a magyar kutatók külföldi kutatókkal, kutatóintézetekkel kapcsolatba kerüljenek, külföldi tudományos rendezvényeken résztvehessenek.

A könyv- és folyóiratkiadás, a hazai tudományos összejövetelek szervezése, a külföldi tudományos élettel való folyamatos kapcsolattartás tette lehetővé, hogy a magyar orvostudomány legjobb tradícióit követve ne szoruljon be valami méltánytalan provincializmus zsákutcájába, hanem folyamatosan értesüljön a világ legjobb tudományos eredményeiről és ugyanakkor tájékoztassa a világot saját tudományos élete milyenségéről. A mai, a korszerű tudomány művelése nem lehet elkülönült egyének munkája. Ma igazi komoly tudományos eredmény közösségi munka eredménye és a közösség nemcsak a hazai tudományos iskolákat jelenti, hanem az egész világ tudományos életét.

Akadémiánk további megemlítendő és kiemelendő segítsége az volt, hogy kialakítva a tudományos minősítési rendszert, hozzájárult a meglevő magyar orvosi iskolák megerősödéséhez és lehetővé tette új iskolák szerveződését. A tudományos élet — bármely területéről van szó — csak akkor nem stagnál, nem sorvad, ha vannak kiemelkedő vezető mesterek és ha vannak mellettük lelkes, tanulni vágyó tehetséges tanítványok. A fejlődés feltétele, hogy az iskolai közösségek megfelelő szervezettséggel rendelkezzenek és a mester is és a tanítványok is jó munkájuk elismerését, a biztos jövőt maguk előtt lássák. Ezen feltételeket teremtette meg a minősítési rendszer, és minden nehézség ellenére tovább kell ezt erősítenünk, hogy a jövőben is betölthesse a rendeltetését.

Végül meg kell említenünk azt a *közvetlen anyagi támogatást*, amit az Akadémia az orvostudományok műveléséhez és a tudományos eredményeken át közvetve a magyar egészségügy fejlesztéséhez adott. Túl azon, hogy az Akadémia két orvostudományi kutató intézetet hozott létre, egyetemi tanszékek, kórházak, egészségügyi intézmények az Akadémia jóvoltából értékes kutatási eszközökhöz, kutatói statusokhoz és a kutatáshoz elengedhetetlen fogyó eszközök

és anyagok beszerzési lehetőségéhez jutottak. Ez azokban az években, amikor az egészségügyi kormányzatnak úgyszólván még minden erejét az egészségügy talpra állítása, megfelelő szintre emelése kötötte le, olyan támogatást jelentett, ami nélkül elakadt volna minden orvostudományi kutató munka.

Ha befejezésül kissé a jövőbe is kívánunk nézni, úgy a jövőre vonatkozóan azt kérjük a szép jubileum alkalmával, hogy az orvostudományok a jövőben se kerüljenek az Akadémia érdeklődési körének perifériájára. Igaz ugyan, hogy az egészségügyi kormányzatnak most már komoly lehetőségei vannak az orvostudományok művelésének támogatásához, és az egészségügyi kormányzat látja is az egész magyar egészségügy fejlődése szempontjából a tudományos munka fontosságát, mégis a jövőben is elengedhetetlen, hogy az Akadémia kellő súllyal és érdeklődéssel foglalkozzék az orvostudományok problémáival, és éppen a röviden összefoglaltak értelmében a többi tudományágak egésze segítségével járuljon hozzá, hogy a magyar egészségügy fejlődése érdekében az orvostudományok még újabb és újabb eredményeket érhessenek el.

Semmelweis Orvostudományi Egyetem I. sz. Kórbonctani Intézet, Budapest

IV. MC-29 VÍRUSSAL CSIRKÉBEN KELTETT MÁJRÁKBÓL KIALAKÍTOTT TRANSPLANTÁLHATÓ HEPATOMA FINOMSZERKEZETI VONÁSAI*

LAPIS KÁROLY, az MTA levelező tagja

Közlésre érkezett: 1975. II. 27.

Bevezetés

Korábbi közleményeinkben leírtuk a csirkékben MC-29 vírusfertőzéssel előidézett májrákok biológiai, histológiai (*Lapis és mtsai* 1973.) és finomszerkezeti (*Lapis*, 1974.) sajátosságait. Ismertettük e vírussal előidézett májrákokból kialakított transplantálható csirkehepatoma növekedési sajátosságait és histológiai vonásait is (*Lapis és mtsai*, 1974., *Lapis és mtsai*, 1975.).

Jelen közlemény célja e transplantálható hepatoma finomszerkezeti vonásainak leírása az első 10 passage-ból származó szövetminták vizsgálata alapján, továbbá annak ismertetése, hogyan változtak a szóban forgó hepatoma finomszerkezeti vonásai két éves fenntartás folyamán, a sorozatos transplantációk során.

Anyag és módszer

Vizsgálatainkat MC-29 vírussal csirkékben előidézett primaer májrákokból (*Lapis és mtsai*, 1973.) kialakított transplantálható hepatoma törzsből (*Lapis és mtsai*, 1974., *Lapis és mtsai*, 1975.) vett szövetmintákon végeztük. A kialakított vírus eredetű átoltható hepatomából az első 15 passage mindegyikéből történt anyagvétel elektronmikroszkópos vizsgálatra. A továbbiakban pedig minden 5. továbboltás kapcsán vettünk szövetmintákat elektronmikroszkópos vizsgálat céljára. A hepatoma törzset Durhamben (North Carolina) 12 passage-on át tartottuk fenn, ezt követően a mélyfagyasztott állapotban félretett daganatszövetből Budapesten Hunnia hibrid csibékre történt az átoltás és e budapesti törzs sorozatos átoltással történő fenntartása során jelenleg az 58. passage-nál tartunk. Szövetmintákat az első 10 passage során intraperitoneálisan, subcutan és intramuscularisan oltott daganatokból egyaránt vettünk, a későbbiekben

* Szerző e helyen is köszönetét fejezi ki Professor J. W. Beardnek és D. Beardnek a Duke Medical Center (USA, North Carolina) Department of Surgery, Division of Experimental Surgery vezetőjének, illetve munkatársának, hogy laboratóriumukban 1972. folyamán meghívott visiting professzori minőségben dolgozhatott. Külön köszönet illeti őket azért is, hogy a szerző által ott kialakított hepatoma törzs Magyarországra történő áttelepítését elősegítették.

subcutan oltva tartottuk fenn a törzset. Közleményünkben a durhami első 10 passage-ból származó szövetmintákon tett megfigyeléseinkről és a budapesti törzs 44—58. átoltásból származó szövetmintákra vonatkozó megfigyeléseinkről számolunk be (I. táblázat). Palade (1952.) szerint, részben pedig 3,5%-os

1. táblázat

A közlemény tárgyát képező elektronmikroszkóposan tanulmányozott átoltható hepatomák táblázatos áttekintése

Csirketörzs	Passage száma	Oltás módja			Vizsgált hepatomák száma összesen
		Intra-peritoneális	Subcutan	Intra-muscularis	
Fehér leghorn	I.	2	4	2	
15 és	II.	2	2	3	
Shaver fehér	III.	1	2	2	
leghorn	IV.	1	2	1	
(Durham)	V.	2	3	2	46
	VI.	1	2	—	
	VII.	2	—	2	
	VIII.	2	—	—	
	IX.	1	1	1	
	X.	1	1	1	
Hunnia hibrid	XLIV.	—	3	—	
(Budapest)	XLVIII.	—	2	—	
	LI.	—	2	—	12
	LIV.	—	3	—	
	LVIII.	—	2	—	

glutaraldehidben és OsO_4-ben rögzített szövetminták elektronmikroszkópos célra történő feldolgozása korábbi (*Lapis*, 1974.) közlésünkben leírt eljárás szerint történt. Az uranyl acetát telített vizes oldatával 30 percig „festett", majd *Reynolds* (1963.) szerint ólomcitráttal kontrasztozott ultravékony metszeteket JEM 7 A és JEOL 100 B típusú elektronmikroszkóppal vizsgáltuk és fényképeztük.

Elektronmikroszkópos megfigyelések
A daganatsejtek finomszerkezeti vonásai az első néhány átoltás során

A transplantált tumor szorosan egymáshoz simuló polygonalis daganatsejtekből áll. A sejttesthez képest a sejtmagvak nagyok, alakjuk változatos: kerekded vagy polygonalis. A chromatinszegény sejtmagvak többségében erősen megnagyobbodott nucleolusok tűnnek szembe. Helyenként az intercellularis terekben vörösvérsejtek foglalnak helyet (1. ábra).

Az egymással szomszédos daganatsejtek között többnyire csak igen keskeny intercellularis rések húzódnak és a szomszédos sejtek párhuzamos lefutású sejtmembránján tagoltság, sajátos differenciálódás jelei hosszú szakaszokon nem mutatkoznak. Az első 10 passage során a transplantált tumorokban még

rendszeresen megfigyelhető volt elszórtan epecanaliculusszerű struktúrák kialakulása (2., 3. ábra). Olykor microvillusok is kiképződnek, máskor microvillusok ugyan nem alakulnak ki, de az intercellularis tér lacunaszerűen kitágult szakaszát a normál epecanaliculusokra jellemző desmosoma típusú sejtkapcsoló struktúrák zárják le. Szokatlanul tág epecanaliculusok is előfordultak (2. ábra), ezeket rendszerint több daganatsejt határolta, s a határoló sejtfelszínek rendszerint elsimultak s csak helyenként volt egy-egy abortív microvillus-csonk megfigyelhető. A szomszédos intercellularis terek felé az ilyen erősen tág epecanaliculusokat is desmosomák zárják le, bár azok egy része csökevényes fejlettségű. Az epecanaliculusokban csakúgy, mint az intercellularis terekben gyakran víruspartikulumok voltak megfigyelhetők kisebb-nagyobb számban (3., 4. a, b, c. ábra). Nem ritkán a vírusbudding képe is megfigyelhető volt (4. b, c. ábra). Olykor az epecanaliculusszerű formációk üregét finom filamentumok rendezetlen halmazaiból álló elektrondenz szálcsás anyag tölti ki és a víruspartikulumok ezen anyagba ágyazva foglalnak helyet (4. a. ábra).

Az első 10 passage során a daganatsejtek a májsejtekhez hasonlóan viszonylag bőséges és sejtorganellumokban gazdag cytoplasmával rendelkeztek. Nagy számban figyelhettünk meg változó alakú és nagyságú mitochondriumokat (5. ábra). A mitochondriumok matrixa csökkent elektrondenzitású, a cristaállomány fejlettsége egyugyanazon sejt mitochondriumaiban is meglehetősen eltérő. Némelyik mitochondriumban annak hossztengelyére verticalisan álló nagyszámú crista látható, másokban viszont alig néhány crista-csonk figyelhető meg. A cytoplasma a sok ribosoma és polysoma mellett bőségesen tartalmaz durvafelszínű endoplasmás reticulumot. A durvafelszínű endoplasmás reticulum változó hosszúságú és változó tágasságú tubulusok, cisternák formájában van jelen (5. ábra). Az endoplasmás reticulumnak a primaer májtumorokban oly gyakran észlelt mitochondriumokkal való társulása itt nem igen fordult elő, gyakori volt viszont a tubulusok, cisternák elágazódása. Egy-egy cisterna lacunaszerűen kitágult üregében néha lefűződött cytoplasma-részletek voltak megfigyelhetők. E lefűződött cytoplasma-részleteket a külső, üreg felé tekintő felszínén sima, míg a másik oldalán ribosomáktól fedett membrán határolta (5. ábra). Multivesicularis testecskék és lipidcseppek is rendszeresen előfordultak kisebb-nagyobb számban, olykor a cytoplasma körülírt területére halmozott formában. A Golgi készülék viszonylag fejlett és nagy kiterjedésű volt, s rendszerint a mag közelében helyezkedett el (6. a. ábra). A Golgi-zóna komponenseitől eltekintve simafelszínű membrán-struktúrákat nem észleltünk a daganatsejtekben. Glycogen granulumok ugyancsak nem fordultak elő. Előfordultak a daganatsejtekben kis számban különböző nagyságú nagy elektrondenzitású kerekded, ovális alakú microbodyk is (7. b. ábra). Ezek a biliaris pólus, illetve ahol ez nem alakult ki, a lateralis sejtfelszín közelében foglalnak helyet. Némely sejt cytoplasmájában egy-egy kisebb-nagyobb autophag vacuolum is előfordult, leépülőben levő sejtkomponensek maradványainak

megfelelő elektrondenz tartalommal (7. a. ábra). Olykor vírusparticulumok is felismerhetők voltak az autophag vacuolumokban. Máskor az intracellularis vírusparticulumok egyszerű elektronáteresztő, sejtdetritust nem tartalmazó vacuolumokban helyezkedtek el (7. c. ábra).

A daganatsejtek egy részében sajátos, hullámos lefutású elektrondenz membránok halmazából álló zárványszerű képlet is előfordult a cytoplasmában, rendszerint a mag közelében és az endoplasmás reticulum állománnyal szoros összefüggésben (5., 6. a., 9. ábra).

A daganatsejtek magva megnagyobbodott, chromatinszegény, a chromatinállomány egyenletes eloszlású. Az elektronáteresztő magban az interchromatikus granulumhalmazok jól felismerhetők (6. a. ábra). Feltűnő és állandó vonásuk e daganatsejteknek az erősen megnagyobbodott nagy elektrondenzitású nucleolus. A nucleolusok alakja meglehetősen változatos a transplantált hepatoma sejtjeiben (1., 2., 5., 6. a., 7. a. ábra). Állandó vonás viszont, hogy a hypertrophiás nucleolusokban a granuláris komponens erősen felszaporodott. A nucleolusok egy részében a nucleolonema fonatai is felismerhetők, olykor annak feltöredezése figyelhető meg (8. a., b. ábra). Rendszeres jelenség, hogy a nucleolus állományát világos, kisebb elektrondenzitású mezők szövik át; ezek invaginált karyoplasma-részletek átmetszeteinek felenek meg. Ritkán előfordulnak gyűrű alakú nucleolusok is. Transplantálható hepatomáinkban előfordultak két vagy többmagvú daganatsejtek is, ezek ultrastrukturális organizációja azonban lényegében megegyezett az egymagvú daganatsejtekével.

A daganatsejtek finomszerkezeti vonásai sorozatos átoltásokkal történő két éves fenntartás után.

A Hunnia hibrid csirkékre átvitt és sorozatos transplantációval több, mint két éve fenntartott daganattörzs morphológiai vonásainak alakulását általában minden 5. átoltásból történő mintavétellel és azok vizsgálatával követtük. Alábbiakban az utolsó félévben a 44—58. passage-okból származó minták elektronmikroszkópos vizsgálata alapján ismertetjük röviden, hogy változtak e vírus eredetű transplantálható hepatoma sejtjeinek ultrastrukturális vonásai a két éves fenntartás folyamán.

Ezen úgynevezett késői passage-okban a mag - plasma arány méginkább a mag javára tolódott el. A cytoplasma organellumokban elszegényedett, ultrastrukturális organizációja leegyszerűsödött. Legfeltűnőbb a durvafelszínű endoplasmás reticulum állomány jelentős megkevesbedése. Durva felszínű endoplasmás reticulum csak néhány rövid tubulus formájában fordul elő. Ezzel párhuzamosan viszont nagymértékben megnőtt a cytoplasma szabad ribosoma, de főként polysoma tartalma (9., 10. a., c., d., 11. a. ábra). A polysomák hajtű, vagy spirálszerűen meghajtott fonal mentén elhelyezkedő 6—8 granulumból

állnak (10. d. ábra). A mitochondriumok száma is megkevesbedett, a Golgi-zóna kisebb kiterjedésű (9., 10. ábra). A lipidcseppek száma nem változott, a microbodyk száma viszont csökkent a daganatsejtekben. Autophag vacuolumok valamivel gyakrabban fordulnak elő, mint az első 10 passage során. A sajátos hullámos lefutású elektrondenz membránok halmazából álló zárványszerű formációk a dedifferenciálódott daganatban is számos sejtben megfigyelhetők (9., 10. a. ábra). A mag és nucleolus organizációjában nem észlelhető lényeges változás a korábbi passage-ok daganatsejtjeinek magjához és nucleolusához képest (12. b. ábra).

A polygonális sejtek szorosan egymáshoz simulnak, a szomszédos sejtek plasmamembránjai párhuzamos lefutásúak. A sejtek között kisszámú, változó fejlettségű, tight junction típusú desmosomák laza összeköttetést biztosítanak (10. a., b. ábra). Az intercellularis tér körülírt tágulatai ugyan előfordulnak, epecanaliculusszerű képletek kialakulása azonban nem észlelhető. Vírusszerű particulumok az intercellularis térben kis számban a későbbi passage-ok során is megfigyelhetők (10. c. ábra).

Többmagvú daganatsejtek a későbbi passage-ok során is előfordultak a transplantált hepatomákban. E sejtek ultrastrukturális organizációja éppen úgy leegyszerűsödött és cytoplasmája éppen úgy elszegényedett organellumokban, mint az egymagvú daganatsejtek esetében (12. a. ábra) történt.

Az átoltható hepatomákban a vérellátást capillarizált sinusoidoknak vagy valódi capillarisoknak minősíthető vascularis hálózat biztosítja (9., 11. b. ábra). A kisgócos necrosisok gyakorisága a daganat úgynevezett késői passage-aiban gyakoribbá vált, s azt olykor a daganat gócos bevérzése kísérte. Elektronmikroszkóposan az unicellularis vagy kisgócos necrosisoknak megfelelően teljesen jól megőrzött finomszerkezetű, ép daganatsejtek szomszédságában az elhalt daganatsejtek helyén sejtdetritus elemei, különböző leépülőben levő sejtorganellumok, lipidcseppek, myelin figurák láthatók, s olykor kötőszöveti elemek; basalmembrán- és fibrinszerű anyag lerakódása, s helyenként collagen fibrillumok megjelenése is megfigyelhető (12. b. ábra).

Megbeszélés

A daganatos szövet biokémiai jellegzetességeinek tanulmányozására irányuló vizsgálatokban előszeretettel használják a transplantált hepatomákat (*Weber*, 1966., *Murray és mtsai*, 1968., *Moyer és mtsai*, 1970., *Weber*, 1973.). Lehetőség nyílik ugyanis annak összehasonlítására, hogy a hepatomáknál vizsgált paraméterek hogyan viselkednek az ép, nyugvó és regenerálódó májszövetben, valamint a máj praeblastomatosus elváltozásaiban, és ez az észlelt elváltozások értékelése, pathogenetikai jelentőségének megítélése szempontjából igen fontos (*Weber*, 1966., *Hruban és mtsai.* 1972.).

Nagyszámú különböző eredetű, spontán keletkező és különböző vegyszerekkel előidézett primaer májrákból kialakított átoltható hepatoma törzs létezik, közülük talán a Morris (*Morris és Wagner*, 1968.), Reuber (*Reuber*, 1961., Reuber, 1966.), Novikoff (*Novikoff*, 1957.), Yoshida (*Odashima*, 1964., *Yoshida*, 1956., *Yoshida*, 1957.) és Zajdela (*Augé és mtsai.* 1972.) hepatomák váltak legismertebbekké és legelterjedtebbekké. Különösen a Morris és Yoshida hepatomák esetében, azok különböző növekedési sebességű selectált vonalait is kialakították (*Usui*, 1967., *Moyer és mtsai.* 1970., *Urban és mtsai.* 1972.). Az eltérő növekedési sajátosságokkal rendelkező törzsekre vonatkozó összehasonlító vizsgálatok során egyértelműen megállapítást nyert, hogy a hepatomák növekedési sebességének fokozódásával együtt jár a tumorsejtek metabolikus folyamatainak, enzym patternjének és cytoplasma organizációjának leegyszerűsödése (*Bruni*, 1962., *Dalton*, 1964., *Porter és Bruni*, 1964., *Dalton*, 1965., *Weber*, 1966., *Usui*, 1967., *Moyer és mtsai.* 1970., *Hruban és mtsai.* 1972/a., *Malick*, 1972.). Ugyanakkor az is világossá vált azonban, hogy végeredményben minden hepatoma megőriz bizonyos individualitást — éspedig histológiai, finomszerkezeti és biokémiai vonások tekintetében egyaránt —, tükrözvén a kialakulásukban szerepet játszó individuális genetikai és a környezeti faktorok együttes meghatározó szerepét (*Weber*, 1966., *Hruban és mtsai*, 1972/a., *Hruban és mtsai*, 1972/b., *Weber*, 1973.).

A sokoldalúan tanulmányozott átoltható hepatomák között egy sincs, mely vírus eredetű májrákból származna. Éppen ezért egy vírus eredetű májrákból kialakított átoltható hepatoma törzsnek az egyéb eredetű, már sokoldalúan kivizsgált és jól ismert hepatomákkal történő többirányú összehasonlítása alapvetően fontosnak tekinthető.

Az MC-29 vírussal indukált primaer májtumorból (*Lapis és mtsai*, 1973., *Lapis*, 1974.) kialakított transplantált hepatoma (*Lapis és mtsai*, 1974., *Lapis és mtsai*, 1975.) első 10 passage-ban történő elektronmikroszkópos tanulmányozása révén elsősorban arra kerestünk választ, mennyiben ismerhető fel ultrastrukturális jegyek alapján a transplantálható tumor májrák eredete, sejtjeinek májsejt jellege.

Elektronmikroszkópos vizsgálataink szerint az első 10 passage során a szóban forgó transplantálható tumor májrák-eredete biztonsággal megállapítható. Legmegbízhatóbb jelnek e tekintetben epecanaliculusok jelenlétének kimutatása bizonyult. Csökevényes fejlettségű, abortív epecanaliculusok az első 10 passage során mindig fellelhetők voltak a daganatokban. Az epecanaliculusok észlelt elváltozásai lényegében azonosak voltak az epecanaliculusoknak primaer májrákokban megfigyelt és leírt (*Lapis és mtsai*, 1971., *Schaff és mtsai*, 1971., *Lapis*, 1974.) elváltozásaival.

A transplantált hepatomák, különösen a Morris-hepatomák többségében a sejtek polarizáltak, vagyis a sejtfelszínen eltérő differenciáltságú szakaszok: az epecapillarisokat határoló canalicularis, lateralis, valamint a vérerek felé

tekintő vascularis felszínszakasz különíthető el (*Hruban és mtsai*, 1972/b.). Valódi epecanaliculusra emlékeztető struktúrák kialakulását a késői passage-okban e tumorokban is ritkán észlelték (*Hruban és mtsai*, 1972/b., *Urban és mtsai*, 1972.). Morris hapatomákban az intercellularis terek kiszélesedett voltát jellemzőnek találták, s ezzel kapcsolatban sajátos microvillus-pinocytosis komplex előfordulásáról számoltak be (*Hruban és mtsai*, 1972/b.). Az ismertetett gyors növekedésű csirke-hepatoma az első 10 átoltás során még tartalmazott epecanaliculus jellegű struktúrákat, késői passage-aiban azonban felismerhető epecanaliculusok nem voltak megfigyelhetők. Az intercellularis terek szakaszos lacunaris tágulata ugyan előfordult, úgynevezett microvillus pinocytosis komplex kialakulását szórványosan észleltük, de az távolról sem volt olyan állandó, vagy gyakori jelenség, mint Morris hepatomában leírták (*Hruban és mtsai*, 1972/b.). Közös vonása viszont e csirke-hepatomának más ismert hepatoma törzsekkel (*Hruban és mtsai*, 1972., *Hruban és mtsai*, 1972/b.), hogy nincsenek benne sinusoidok. A daganatok vérellátását basalis membránnal rendelkező, úgynevezett capillarizált sinusoidoknak, de még inkább valódi capillarisoknak megfelelő képletekből álló vascularis hálózat biztosítja.

A sejtfelszín epecanaliculusok formálásában megnyilvánuló sajátos differenciálódása mellett bizonyos mértékig a tumorsejtek egyéb finomszerkezeti vonásai is hasznosíthatók azok májsejt-eredetének megállapításában. Dalton (1964, 1965.) a magasan organizált ergastoplasmát, a glykogenolysis területeit representáló simafelszínű endoplasmás reticulum mezők, típusos mitochondriumok, denz core-val rendelkező microbodyk és secretiós aktivitást mutató Golgi készülék jelenlétét tekinti ilyen vonásoknak.

Transplantált hepatománk sejtjei a korai passage-okban viszonylag bőségesen tartalmaztak durvafelszínű endoplasmás reticulumot, annak organizáltsága azonban távolról sem érte el a normális májsejtekben szokásos magas fokot, de még a primaer májtumorok differenciáltabb formáiban (*Lapis*, 1974.) észlelhető organizáltsági fokot sem. Ez érthető, a vizsgált tumor ugyanis a gyors növekedésű hepatomák közé tartozik, és más hepatomákra vonatkozó vizsgálatból már ismeretes, hogy organizáltabb ergastoplasma előfordulása csak a lassúbb növekedésű hepatomákra jellemző és általában a tumor növekedési rátája és a finomszerkezeti differenciáltság megtartottsága között fordított viszony áll fenn (*Bruni*, 1962., *Essner és Novikoff*, 1962., *Hoshino*, 1963., *Dalton*, 1964., *Porter és Bruni*, 1964., *Dalton*, 1965., *Novikoff és Biempica*, 1966., *Pitot*, 1969., *Moyer és mtsai*, 1970., *Hruban és mtsai*, 1972/a.).

Említést érdemel viszont, hogy a transplantált hepatomáink sejtjeiben az első 10 passage során a durva felszínű endoplasmás reticulum mennyisége nagyobb volt, mint a vírusindukált primaer májrákok differenciálatlanabb típusainak sejtjeiben (*Lapis*, 1974.). Érdekes ugyanakkor, hogy a durvafelszínű endoplasmás reticulum membránoknak a primaer májrákokban (*Lapis*, 1974.), sőt bizonyos átoltható hepatomákban is (*Hruban és mtsai*, 1972/a) megfigyelt

— mitochondriumokkal való szoros társulása e transplantálható hepatoma sejtjeiben nem alakult ki. Sima felszínű endoplasmás reticulumot transplantált hepatománk sejtjeiben nem észleltünk, több ismert transplantált hepatoma törzsben — kivéve a gyors növekedésű hepatomákat — viszont a sima felszínű endoplasmás reticulum frakció növekedését észlelték a normál májhoz képest (*Hruban és mtsai*, 1965., *Moyer és mtsai*, 1970., *Hruban és mtsai*, 1972/a.). Hangsúlyoznunk kell azonban, hogy eltérően a kémiai carcinogenekkel előidézett májrákoktól, (*Pitot és Peraino*, 1964., *Steiner és mtsai*, 1964., *Pitot*, 1969., *Smuckler és Arcasoy*, 1969., *Stenger*, 1970.) a sima felszínű endoplasmás reticulum szaporulatát átoltható hepatoma törzsünk kiindulását képező primaer májrákokban sem észleltük (*Lapis*, 1974.), és ezt a tumorok víruseredetével kapcsolatos eltérő pathogenesissel magyaráztuk. Microbodyk már az első néhány passage során is gyér számban fordultak elő a hepatoma sejtekben, ez szintén a daganat gyors növekedésével lehet kapcsolatos, mert a microbodyk hiányát más rapidan növő hepatomákkal kapcsolatban is kiemelik (Dalton, 1965.), míg a microbodyk komplex formáinak jelenlétét lassú növekedésű hepatomákra tartják jellemzőnek (*Essner és Novikoff*, 1962.). Fejlett és secretios aktivitásra utaló jeleket mutató Golgi-készülék jelenlétét főként a közepes növekedési sebességű hepatomákra tartják jellemzőnek (*Essner és Novikoff*, 1962., *Malick*, 1972.). Meglepő ezért, hogy a gyors növekedésű hepatománk sejtjeiben, legalábbis az első 10 passage során többnyire jól fejlett nagy kiterjedésű Golgizónát találtunk, igaz viszont, hogy secretios jeleket nem észleltünk bennük. A sorozatos átoltás során a Golgi-zóna csökevényessé vált, miként az más gyors növekedésű hepatomákra is jellemző (*Hruban és mtsai*, 1972/b., *Malick*, 1972.). Glycogent a hepatoma sejtekben nem észleltünk, de azt a vírussal indukált primaer májrákok sejtjeiben is csak elvétve és kis mennyiségben figyeltük meg (*Lapis*, 1974.).

Elektronmikroszkóposan számos átoltható hepatomában találtak glycogent, másokban viszont annak teljes hiányát észlelték. A glycogen — jelenléte esetén — a sima felszínű endoplasmás reticulummal szoros kapcsolatban áll és a daganatokban gyakrabban monoparticularis, mintsem rosetta formában fordul elő (*Hruban és mtsai*, 1972/a.). Általában úgy vélik, hogy főként a rapid növekedésű hepatomákból hiányzik a glycogen. Úgy látszik azonban, ez sem általánosítható törvényszerűség, mert a gyors növekedésű Novikoff ascites hepatoma sejtekben, cytoplasmában és magban egyaránt glycogen particulumok állandó jelenlétét mutatták ki (*Karasaki*, 1971.). Az átoltható hepatomák, úgy látszik, kifejezetten szeszélyesen viselkednek glycogen tárolás és glycogenolysis szempontjából, mert megfigyelték, hogy azonos hepatoma törzs sejtjeiből eltűnt, majd újra megjelent bennük a glycogen (*Hruban és mtsai*, 1972/a.). Carcinogen vegyületek adagolását követően is egészen eltérő módon változhat a máj glycogen tartalma (*Hruban és mtsai*, 1972/a.). E vírus eredetű hepatomák talán kedvezőbb objektumnak bizonyulnak a daganatos proliferáció és szénhidrát

anyagcsere változások összefüggéseinek tanulmányozására, mert ez esetben legalább a vegyszeres károsodás következményeivel nem kell számolnunk.

A daganatsejtekben korai és késői passage-okban egyaránt megtalálható elektrondenz, unduláló membránokból álló, cytoplasmatikus zárványtest genesisével és jelentőségével külön közleményben (*Schaff és mtsai*, 1975.) foglalkozunk.

A transplantált hepatoma sejtek magjának és nucleolusának szerkezete hasonló volt a vírussal indukált primaer májrákokra jellegzetesnek talált (*Lapis*, 1974.) sejtmagok és nucleolusok szerkezetéhez. A transplantált hepatomákban a nucleolust általában megnagyobbodottnak találták, s gyakran a hepatoma sejtekben több nucleolus jelenlétéről számolnak be (*Usui*, 1967., *Hruban és mtsai*, 1972/a., *Hruban és mtsai*, 1972/b., *Malick*, 1972.). A Morris hepatomáknál (*Hruban és mtsai*, 1972/a.) leírt úgynevezett spotted nucleolusok kialakulását, vagy a nucleolaris komponensek kifejezett segregációját esetünkben nem észleltük, jóllehet spotted nucleolusok kialakulását vírusfertőzött sejtekben egyébként is gyakori jelenségnek tartják (*Bernhard és Granboulan*, 1968.). A granularis komponens hepatománk nucleolusaiban észlelt túlsúlyra jutását kísérletes (*Smetana és mtsai*, 1968., *Unuma és mtsai*, 1968.) és emberi hepatocellularis rák sejtjeiben is leírták (*Smetana és mtsai*, 1972.), és azt a 45 S RNS rapidan burjánzó daganatokban észlelt felgyorsult átalakulásával magyarázták.

A más, gyorsan növő hepatomák sejtjeiben gyakran megfigyelt cytoplasma invaginatumok (*Hoshino*, 1961., *Karasaki*, 1970.) és a maghártya belső lemezének invaginációi e tumor sejtjeiben viszonylag ritkán fordulnak elő. A Novikoff hepatomában leírt intranuclearis canaliculusoknak (*Karasaki*, 1970.) és intranucleolaris tubularis struktúráknak (*Babai és mtsai*, 1969.) megfelelő képletek kialakulását nem észleltük.

Áttekintve e vírus eredetű hepatoma sejtjeinek ultrastrukturális vonásait, tapasztalataink abban összegezhetők, hogy az első néhány passage során a sejtek subcellularis organizációja még elég jellegzetes maradt ahhoz, hogy akár e epecanaliculusok jelenléte nélkül is támpontot nyújtson a tumorsejtek májsejt eredetének felismeréséhez. Legmegbízhatóbb jel azonban e tekintetben ilyenkor is az epecanaliculusok jelenléte, ha mégoly abortív, vagy alterált canaliculusok is azok. Epecanaliculusok jelenlétén kívül Dalton (1964., 1965.) szerint mindenekelőtt a sejtek gazdag durva felszínű endoplasmás reticulum állományát, fejlett Golgi-zóna, valamint microbodyk előfordulását tekinthetjük májsejt eredet további bizonyítékaiként.

A transplantált hepatomák sejtes összetétele már az első néhány passage során is — a primaer tumoroktól eltérően — meglehetősen homogénnek bizonyult. A sejtpopuláció homogénebb voltát az elsődleges májtumorokat alkotó sejtpopuláció nagyfokú változatosságával szemben más elektronmikroszkóposan tanulmányozott transplantálható hepatoma törzsekkel kapcsolatban is kiemelik (*Salomon és Jézéquel*, 1963., *Dalton*, 1964., *Dalton*, 1965., *Hruban*

és mtsai, 1965., *Locker és mtsai*, 1968., *Hruban és mtsai*, 1972/a., *Hruban és mtsai*, 1972/b.).

Két éven át tartó sorozatos transplantáció után a hepatomák finomszerkezeti vonásaiban lényeges változásokat észleltünk. Ezek közül az epecanaliculusok és desmosomák eltűnése a legszembetűnőbb. Ismeretes, hogy a malignus hámeredetű daganatokban a sejtkapcsoló struktúrák száma csökken, a csökkenés azonban nem egyforma mértékű a sejtkapcsoló struktúrák különböző típusai esetében (*Farquhar és Palade*, 1963., *Usui*, 1967., *Hruban és mtsai*, 1972/b., *Malick*, 1972., *Tremblay és Babai*, 1972.). A sejkapcsoló struktúrák megőrzöttsége, differenciáltsági foka és száma tekintetében a különböző emlős hepatoma törzsek között is lényeges különbségeket észleltek és kiemelték e struktúrák fontos szerepét a hepatomák morphológiai stabilitásának megőrzésében (*Campbell és Campbell*, 1971., *Hruban és mtsai*, 1972/b., *Kojima és Maekawa*, 1972., *Tremblay és Babai*, 1972.).

A sejtfelszíni specializálódás jelentős beszűkülése mellett a sorozatos transplantáció során a tumorsejtek cytoplasmájának ultrastrukturális organizáltsága is lényegesen leegyszerűsödött. A sejtek sejtorganellumokban elszegényedtek, különösen a durvafelszínű endoplasmás reticulum állomány nagymérvű megkevesbedése volt feltűnő, mely a szabad ribosoma és polysoma állomány felszaporodásával járt együtt. Morris és Reuber hepatomák esetében a szabad kötött ribosoma arány megnövekedéséről számoltak be (*Webb és mtsai*, 1964., *Webb és mtsai*, 1965., *Moyer és mtsai*, 1970.). A sorozatos passzálás folyamán ez esetünkben is bekövetkezett. Más hepatomákra vonatkozó vizsgálatok alapján úgy vélik, hogy a daganat növekedésének gyorsulása, fokozódó dedifferenciálódása, és a szabad ribosoma állomány megnövekedése között szoros kapcsolat van (*Moyer és mtsai*, 1970.). Ezzel a nézettel saját leleteink is összhangban állnak. A mitochondriumok számának megkevesbedése, a microbodyk számának további csökkenése és a Golgi-komplex megkisebbedése is a daganatsejtek dedifferenciálódása mellett szól. Kétéves passzálás után a hepatomák sejtes összetétele teljesen homogénnek és igen állandónak bizonyult. A tumorok olyan leegyszerűsödött ultrastrukturális organizáltságú sejtekből épülnek fel, melyeknél a cytoplasma ultrastrukturális vonásai már nemcsak hogy a normális májsejtek cytoplasmájának finomszerkezetére nem emlékeztettek, de nem hasonlítottak azok ugyanezen hepatomákat az első 10 passage során felépítő sejtekéhez sem. A mag és nucleolus szerkezete viszont a sorozatos passzálás során is lényegében változatlan maradt. A megnagyobbodott chromatinszegény sejtmagban az erősen megnagyobbodott elektrondenz nucleolus a vírussal keltett májrákok (*Lapis*, 1974.) és a belőle kialakított transplantálható hepatomák legállandóbb morphológiai vonásának bizonyult.

Vizsgálataink alapján megállapítható, hogy a szóban forgó tumor sorozatos transplantációja során a hepatoma sejtek fokozatos dedifferenciálódásának eredményeként e hepatoma törzsre jellemző, konstans, homogén sejtpopuláció

alakult ki. A sorozatos transplantáció után a tumort alkotó dedifferenciálódott sejtek olyan ultrastrukturális vonásokkal rendelkeztek, melyeket a rapidan burjánzó szövetek kizárólag struktúr proteineket szintetizáló sejtjeire írtak le jellemzőnek. (*Birbeck és Mercer*, 1961., *Mercer és Easty*, 1961.).

RNS tartalmú C típusú partikulumok kisebb-nagyobb számban a transplantált hepatomákban sorozatos átoltás után is mindig fellelhetők, éspedig hasonló lokalizációban, mint a primaer tumorokban és a budding jelensége a transplantált tumorokban is megfigyelhető volt. Vírusparticulumok megjelenését egyes transplantálható hepatoma törzsekben leírták (*Locker és mtsai*, 1968., *Hruban és mtsai*, 1972/a., *Hruban és mtsai*, 1972/b., *Mori és mtsai*, 1973.). A kimutatott particulumokról azonban korántsem bizonyították, hogy azoknak a transplantálható hepatoma törzs forrásául szolgáló primaer májrákok létrejöttében oki szerepe lett volna, inkább ún. passenger vírusoknak bizonyultak.

Az általunk kialakított átoltható hepatomának az adja meg a jelentőségét, hogy eddigelé, ez az egyetlen ismert vírus eredetű tumorból származó hepatoma (*Lapis és mtsai*, 1974., *Lapis és mtsai*, 1975.). Érdekességét csak fokozza, hogy benne az eredeti kóroki ágensek, az RNS tartalmú MC-29 vírusok reprodukálódnak. Előzetes tapasztalat szerint attól függően, hogy az átoltás egy napos vagy idősebb csirkékre történik, a daganat gyorsabban, vagy lassabban növekedik. Megvan tehát a lehetősége e hepatoma törzsből eltérő növekedési sebességű vonalak kialakításának is. Az egyik transplantált hepatomából transplantálható in vitro sejtvonal kialakítása is megtörtént (*Langlois és mtsai*, 1974.).

Reméljük, hogy e daganat finomszerkezeti vonásainak leírásával, valamint korábbi, a tumor növekedési sajátosságaira és a fénymikroszkópos sajátságaira vonatkozó közléseinkkel (*Lapis és mtsai*, 1973., *Lapis és mtsai*, 1974., *Lapis és mtsai*, 1975.) elősegítjük, hogy széles skálájú összehasonlító biokémiai vizsgálatok bontakozzanak ki ezen vírus eredete tekintetében jelenleg egyedülálló és ezért feltehetően érdeklődést kiváltó új átoltható hepatoma törzsre vonatkozóan.

Összefoglalás

Szerző ismerteti az MC-29 RNS vírussal csirkékben előidézett májrákból kialakított transplantálható hepatoma finomszerkezeti vonásait és annak változását sorozatos átoltással történő 2 éves fenntartás során.

Az első 10 passage során a daganat májrák-eredete még biztonsággal megállapítható a benne jelenlevő epecanaliculusok alapján, melyek ugyan kóros elváltozásokat mutatnak vagy abortív jellegűek, de jól felismerhetők. Ilyenkor a daganatsejtek sejtorganellumokban gazdagok, durva felszínű endoplasmás reticulumot bőven tartalmaznak, és fejlett Golgi készülékük van, cytoplasmájukban sok mitochondrium és lipidcsepp, s kevés microbody figyelhető meg, szabad ribosoma és polysoma állományuk is bőséges.

A sorozatos átoltás során a hepatoma sejtek erősen dedifferenciálódnak: epecanaliculusok még abortív formában sem fordulnak elő, a sejtek organellumokban elszegényednek; a durva felszínű endoplasmás reticulum állomány minimálisra csökken, megnő viszont a szabad ribosomák és polysomák mennyisége. A mitochindriumok és microbodyk száma megfogyatkozik, a Golgi-zóna is csökevényessé válik.

Az átoltható hepatoma törzs sejtes összetétele a két éves fenntartás során meglehetősen homogénné vált és állandósult. A daganatsejtek legállandóbb vonásának a megnagyobbodott chromatinszegény mag és a zömében granularis komponensből álló, elektrondenz hypertrophiás nucleolus bizonyult.

A sejtmag és nucleolus jellege a sorozatos transplantáció után is olyan maradt, mint amilyennek a vírussal keltett primaer májrákok sejtjeiben találták. C típusú vírusparticulumok a transplantálható hepatoma törzsben két éves fenntartás után is — gyérebb számban ugyan — de rendszeresen előfordulnak, és ritkán a budding jelensége is megfigyelhető volt.

IRODALOM

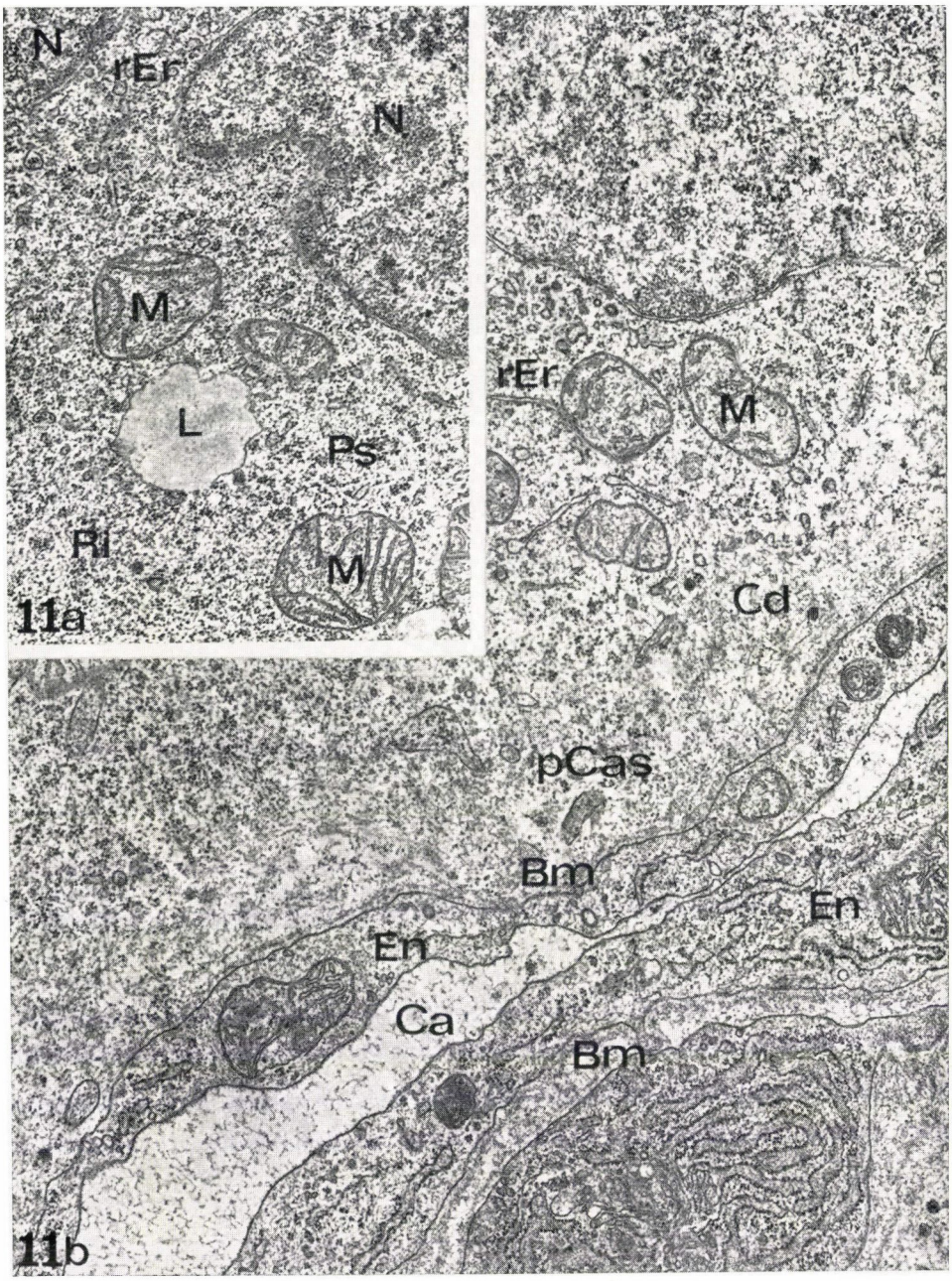
Augé, Claudine, David, S., és *Zajdela, F.*: C. R. Acad. Sci. Paris **275**, 2187. (1972).
Babai, F., Tremblay, G., és *Dumont, A.*: J. Ultrastruct. Res. **28**, 125. (1969).
Bernhard, W. és *Granboulan, N.*: Electron Microscopy of the Nucleolus in Vertebrate Cells. In: A. J. Dalton and F. Haguenau (eds.) The Nucleus, pp. 81—149. New York: Academic Press, Inc., 1968.
Birbeck, M. S. C., és *Mercer, E. H.*: Nature, **189**, 558. (1961).
Bruni, C.: Observations on the fine structure of slow and fast growing rat hepatomas. In: Internat. Congr. Electron Mic. (Breese SS, ed.) vol. 2, New York, Academic Press Inc., 1962. p. 13.
Campbell, R. D. és *Campbell, J. H.*: Results and problems in cell differentiation. (ed. J. Reinert and H. Ursprung) Vol. 2. p. 261. Springer-Verlag, Berlin, 1971.
Dalton, A. J.: An electron microscopical study of a series of chemically induced hepatomas In: Cellular Control Mechanisms and Cancer (Emmelot, P., Mühlbock, O., eds.) Amsterdam, Elsevier Publ. Co., pp. 211—229. 1964.
Dalton, A. J.: Correlation between Rate of Growth and Fine Structure of Hepatomas from Rats. In: Walter Burden (ed.) Primary hepatoma. University of Utah Press, Salt Lake City, 51—64. 1965.
Essner, E., és *Novikoff, A. B.*: J. Cell Biol. **15**, 289. (1962)
Farquhar, M. G., és *Palade, G. E.*: J. Cell Biol. **17**, 375. (1963).
Hoshino, M.: Exptl. Cell Res. **24**, 606. (1961).
Hoshino, M.: Cancer Res. **23**, 209. (1963).
Hruban, Z., Mochizuki, Y., Morris, H. P., és *Slesers, A.*: Lab. Invest. **26**, 86. (1972/a.).
Hruban, Z., Mochizuki, Y., Slesers, A., és *Morris, H. P.*: Cancer Res. **32**, 853. (1972/b.)
Hruban, Z., Swift, H., és *Rechcigl, M.*: J. Nat. Cancer Inst. **35**, 459. (1965).
Karasaki, S.: Cancer Res. **30**, 1736. (1970).
Karasaki, S.: J. Ultrastruct. Res. **35**, 181. (1971).
Kojima, K., és *Maekawa, A.*: Cancer Res. **32**, 847. (1972).
Langlois, A. J., Lapis, K., Ishizaki, R., Beard, J. W. és *Bolognesi, D. P.*: Cancer Res. **34**, 1457. (1974).
Lapis, K.: Orvostudomány **25**, 277. (1974.)
Lapis, K., Beard, D., és *Beard, J. W.*: Orvostudomány, **24**, 229. (1973).
Lapis, K., Beard, D., és *Beard, J. W.*: Orvostudomány, **25**, 151. (1974).
Lapis, K., Beard, Dorothy, és *Beard, J. W.*: Cancer Res. **35**, 132. (1975).
Lapis, K., Schaff, Zsuzsa, és *Sáfrány*, L.: Orvostudomány **22**, 163. (1971).
Locker, J., Goldblatt, P. J. és *Leighton, J.*: Cancer Res. **28**, 2039. (1968).

Malick, L. E.: J. Nat. Cancer Inst. **49,** 1039. (1972).
Mercer, E. H. és *Easty, G. C.:* Cancer Res. **21,** 52. (1961).
Mori, H., Hayashi, K., Kato, T., és *Hirono, I.:* Gann **64,** 79. (1973).
Morris, H. P. és *Wagner, B. P.:* Induction and transplantation of rat hepatomas with different growth rate. In: Methods in Cancer Research (Busch H. ed.) Vol. IV. New York, Academic Press, Inc., pp. 125—152. 1968.
Moyer, G. H., Murray, R. K., Khairallah, L. H., Suss, R. és *Pitot, H. C.:* Lab. Invest. **23,** 108. (1970).
Murray, R. K., Khairallah, L. és *Rogland, W.:* Int. Rev. Exp. Pathol. **6,** 229. (1968).
Nivokoff, A. B.: Cancer Res. **17,** 1010. (1957).
Novikoff, A. B., és *Biempica, L.:* Gann Monogr. **1,** 65, (1966).
Odashima, S.: Natl. Cancer Inst. Monograph **16,** 51. (1964).
Palade, G. E.: J. Exp. Med. **95,** 285. (1952).
Pitot, H. C.: Arch. Path. (Chicago) **87,** 212. (1969).
Pitot, H. C. és *Peraino, C.:* Endoplasmic reticulum and hepatocarcinogenesis. In: Biochemical Clinics. The Liver. Vol. 3. p. 139. New York, The Reuben H. Donnelley, Corp. 1964.
Porter, K. R. és *Bruni, C.:* Acta Un. Int. Cancer, **20,** 1271. (1964.)
Reuber, M. D.: J. Nat. Cancer Inst. **26,** 891. (1961).
Reuber, M. D.: Gann Monograph, **1,** 43. (1966).
Reynolds, E. S.: J. Cell Biol. **17,** 208. (1963).
Salomon, J. C. és *Jézéquel, Anne-Marie:* Ultrastructure des Hépatomes Experimentaux. In: Les Tumeurs Malignes du Foie Masson et Cie Éditeurs, Paris, 63—96. (1963).
Schaff, Zsuzsa, Lapis, K. és *Sáfrány, L.:* Virchows Arch. Abt. A. Path. Anat. **352,** 340. (1971).
Schaff, Zsuzsa, Lapis, K. és *Grimley, P. M.:* Morph. igazságü. orv. Szle. *15,* 166 (1975)
Smetana, K., Györkey, F., Györkey, P., és *Busch, H.:* Cancer Res. **32,** 925. (1972).
Smetana, K., Unuma, T., és *Busch, H.:* Exptl. Cell Res. **51,** 105. (1968).
Smuckler, E. A. és *Arcasoy, M.:* Int. Rev. Exp. Pathol. **7,** 305. (1969).
Steiner, J. W., Phillips, M. J., és *Miyai, K.:* Int. Rev. Exp. Pathol. **3,** 65. (1964).
Stenger, R. J.: Gastroenterology, **58,** 554. (1970).
Tremblay, G., és *Babai F.:* Exp. Cell Res. **74,** 355. (1972).
Unuma, T., Arendell, J. P., és *Busch, H.:* Exptl. Cell Res. **52,** 429. (1968).
Urban, J., Katrenbeck, J., Zimber, P., Timko, J., Lesch, R., és *Schreiber, G.:* Cancer Res. **32,** 1971. (1972).
Usui, T.: Gann, **58,** 229. (1967).
Weber, G.: Gann Monogr. **1,** 151. (1966).
Weber, G.: Biochemical Strategy of the Regenerating Liver Cell. In: III. Workshop on Experimental Liver Injury held in Freiburg, October 15—16, 1973. Abstracts of the main reports and invited discussion remarks, pp. 16—17.
Webb, T. E., Blobel, G., és *Potter, V. R.:* Cancer Res. **24,** 1229. (1964).
Webb, T. E., Blobel, G., Potter, V. R., és *Morris, H. P.:* Cancer Res. **25,** 1219. (1965).
Yoshida, T.: Ann. N. Y. Acad. Sci. **63,** 852. (1956).
Yoshida, T.: Virch. Arch. **330,** 85. (1957).

10/b. ábra. Subcutan oltott hepatoma, Hunnia hibrid csirkéken, 51. passage. Párhuzamos lefutású membránnal rendelkező két szomszédos sejt között csökevényes fejlettségű desmosoma típusú sejtkapcsoló struktúra biztosítja a kapcsolatot. Alapnagyítás: 6 700×. Végső nagyítás: 20 770×

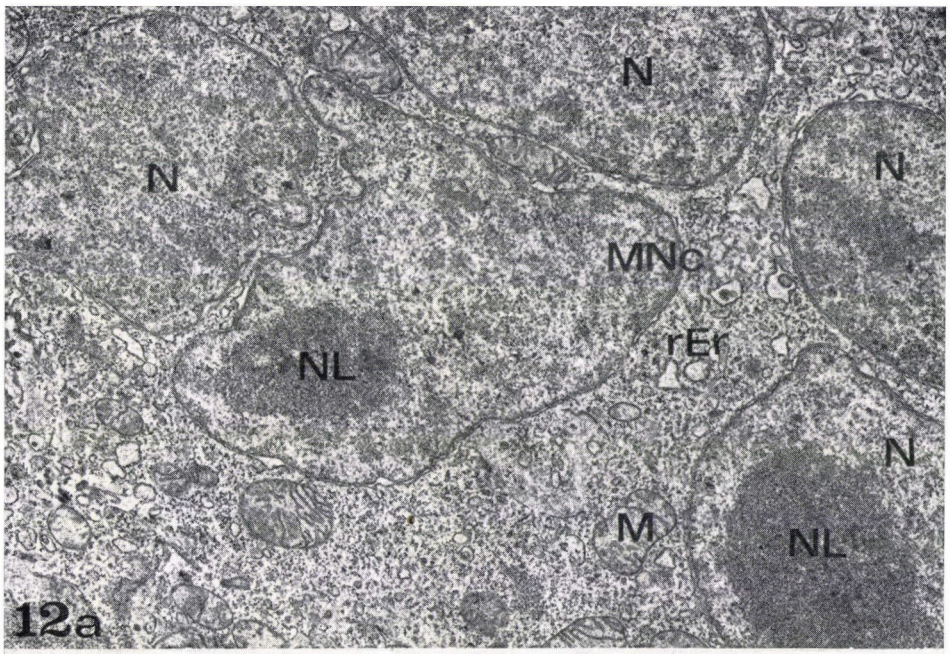
10/c. ábra. Subcutan oltott hepatoma, Hunnia hibrid csirkéken, 51. passage. A tágult intercellularis térben sejtdetritus elemei, C típusú vírus particulumok figyelhetők meg. A sejtek cytoplasmája bőven tartalmaz szabad ribosomát és polysomát, egy-egy kanyarulatos lefutású, durva felszínű endoplassmatikus reticulum (rEr) cysterna is megfigyelhető, továbbá zsírcseppek láthatók. Alapnagyítás: 5000×. Végső nagyítás: 15 500×

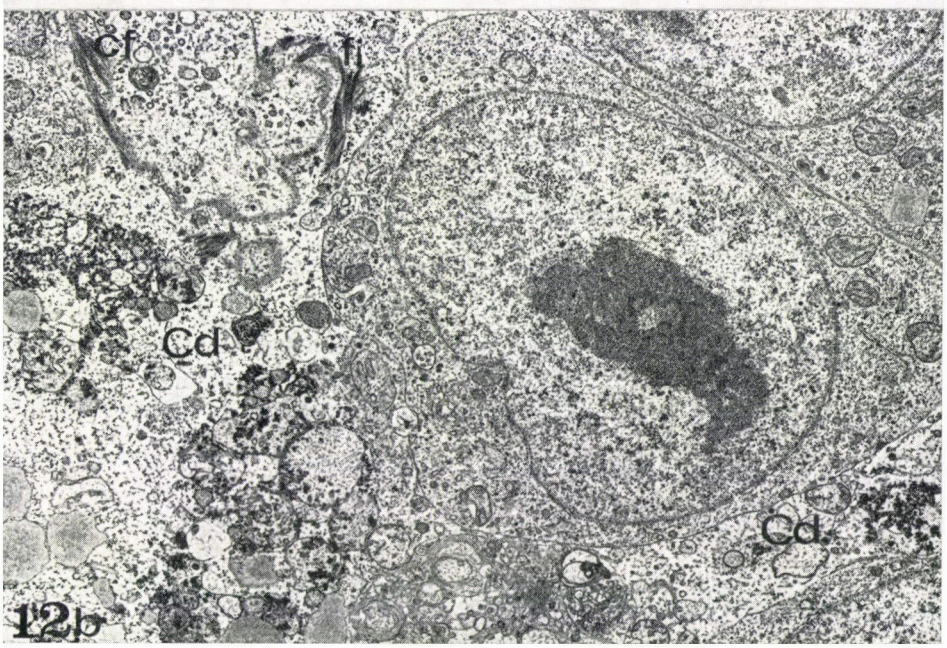
10/d. ábra. Subcutan oltott hepatoma, Hunnia hibrid csirkéken, 51. passage. A cytoplasma gazdag szabad ribosoma (Ri) és polysoma állománya nagyobb nagyítással. A polysomák (Ps) hajtű-, vagy spirálszerűen meghajlott fonal mentén elhelyezkedő, 6—8, olykor számosabb granulumból épülnek fel. Alapnagyítás: 6 700×. Végső nagyítás: 20 770×



11/a. ábra. Subcutan oltott hepatoma Hunnia hibrid csirkékben, 51. passage. A daganatsejtek cytoplasmája gazdag szabad ribosoma (Ri) és polysoma (Ps) állománnyal rendelkezik és kevés durva felszínű endoplasmás reticulumot (rEr) tartalmaz, mely tubularis megjelenésű. Mitochondriumok (M) mellett lipidcsepp (L) is megfigyelhető. A magfelszín karélyozott. Alapnagyítás: 5000×. Végső nagyítás: 15 500×

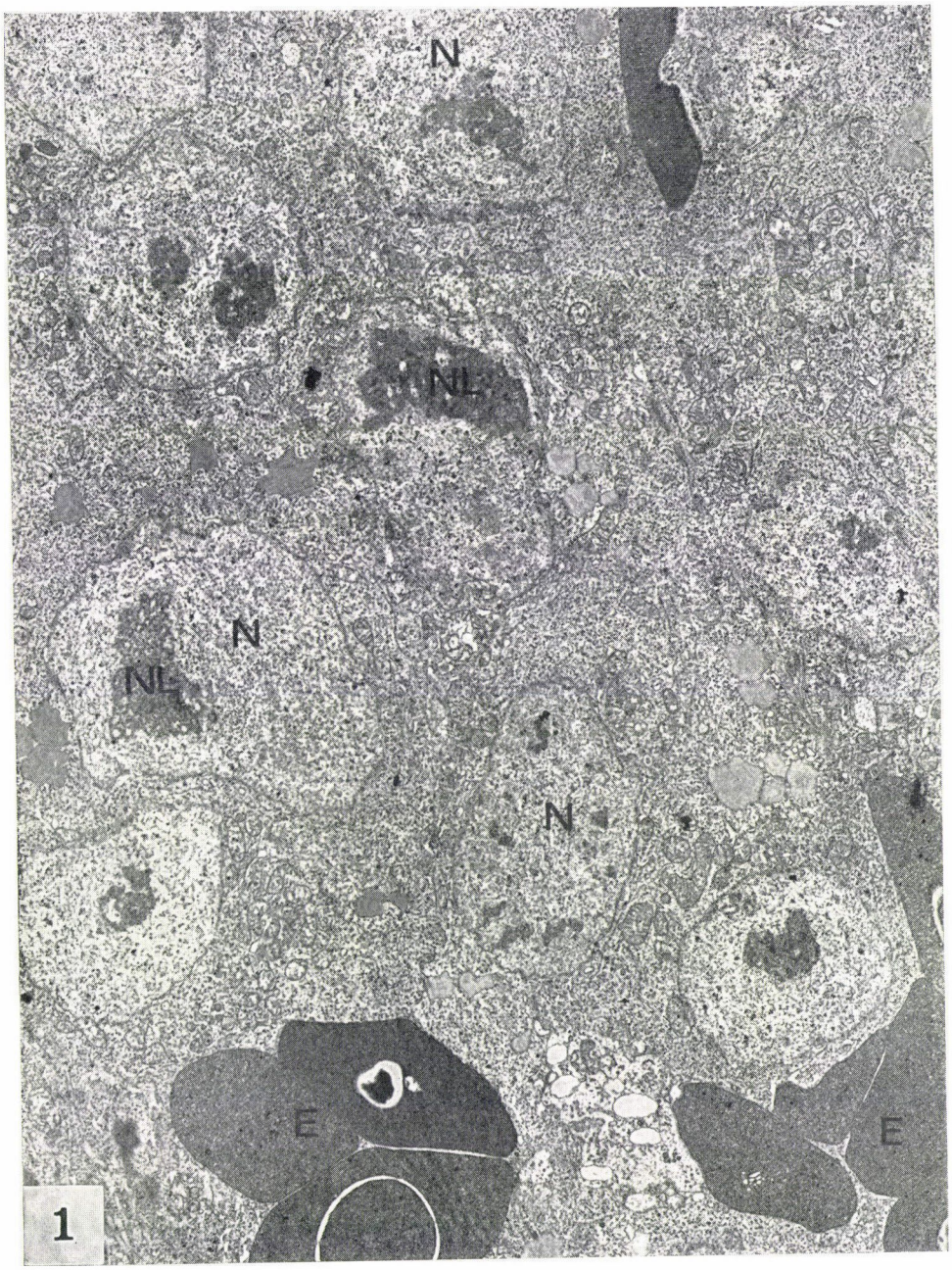
11/b. ábra. Subcutan oltott hepatoma Hunnia hibrid csirkékben, 51. passage. A basalmembrannal (Bm) rendelkező, ellapult endothel sejtekkel (En) bélelt capillarissal (Ca) szomszédos daganatsejt vascularis pólusán a plasmamembran elmosódott, a pericapillaris tér (pCas) sejttörmeléket (Cd) tartalmaz. A cytoplasmában a gazdag ribosoma (Ri) és polysoma (Ps) állományon kívül néhány mitochondrium (M) és durva felszínű endoplasmas reticulum cysterna (rEr) is megfigyelhető. Alapnagyítás: 6 700×. Végső nagyítás: 20 770×



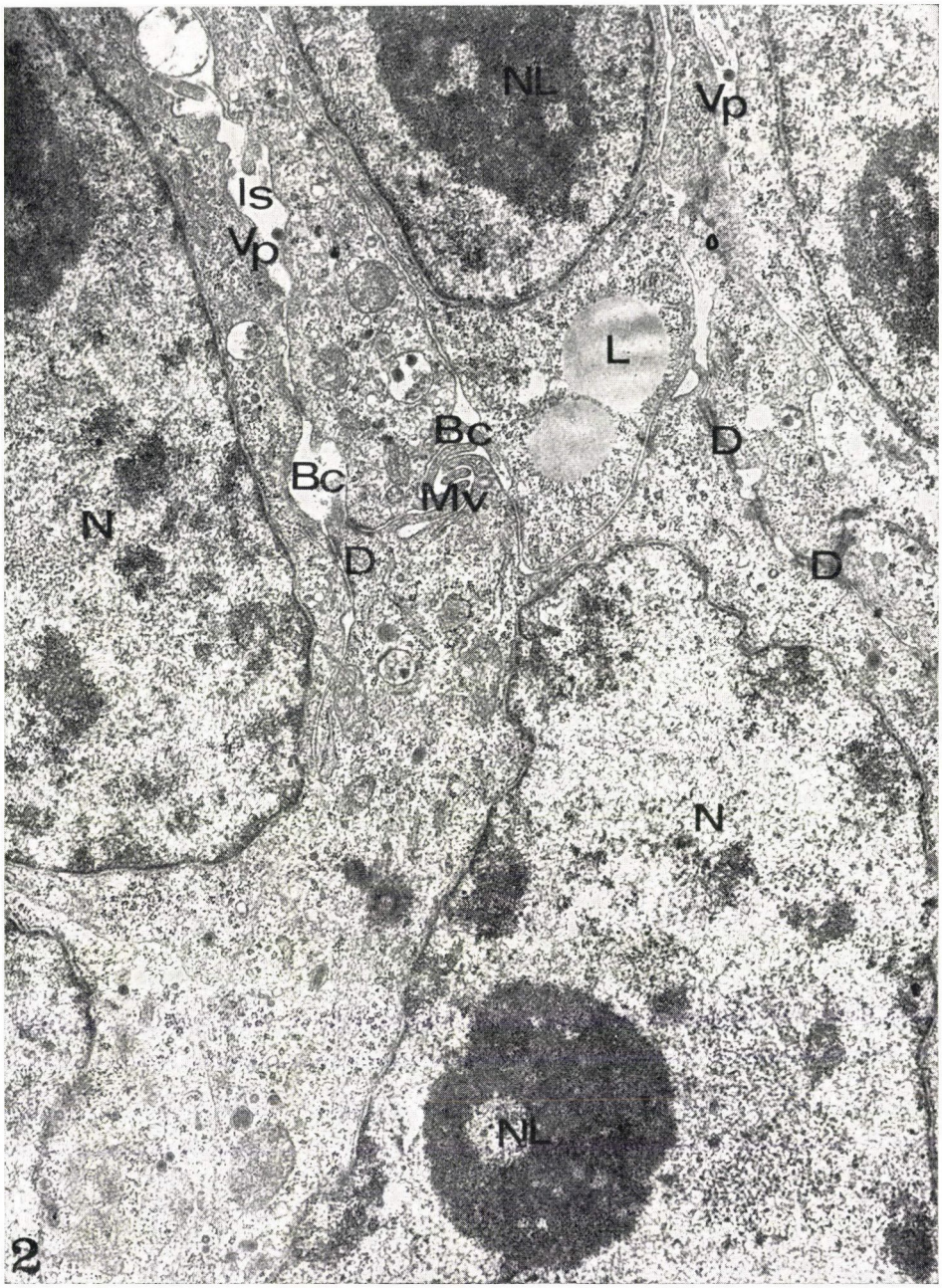


12/a. ábra. Subcutan oltott hepatoma Hunnia hibrid csirkéken, 51. passage. Több magvú daganatsejtek (MNc) részlete. A sejtmagvak (N) egy részében hypertrophiás elektrondenz nucleolus (Nl) látható, a cytoplasma bőséges szabad ribosoma és polysoma állománnyal rendelkezik, emellett benne elszórtan változó nagyságú mitochondriumok (M) és kis mennyiségben tubularis jellegű, durva felszínű endoplasmás reticulum (rEr) figyelhető meg. Alapnagyítás: 2 700×. Végső nagyítás: 8 370×

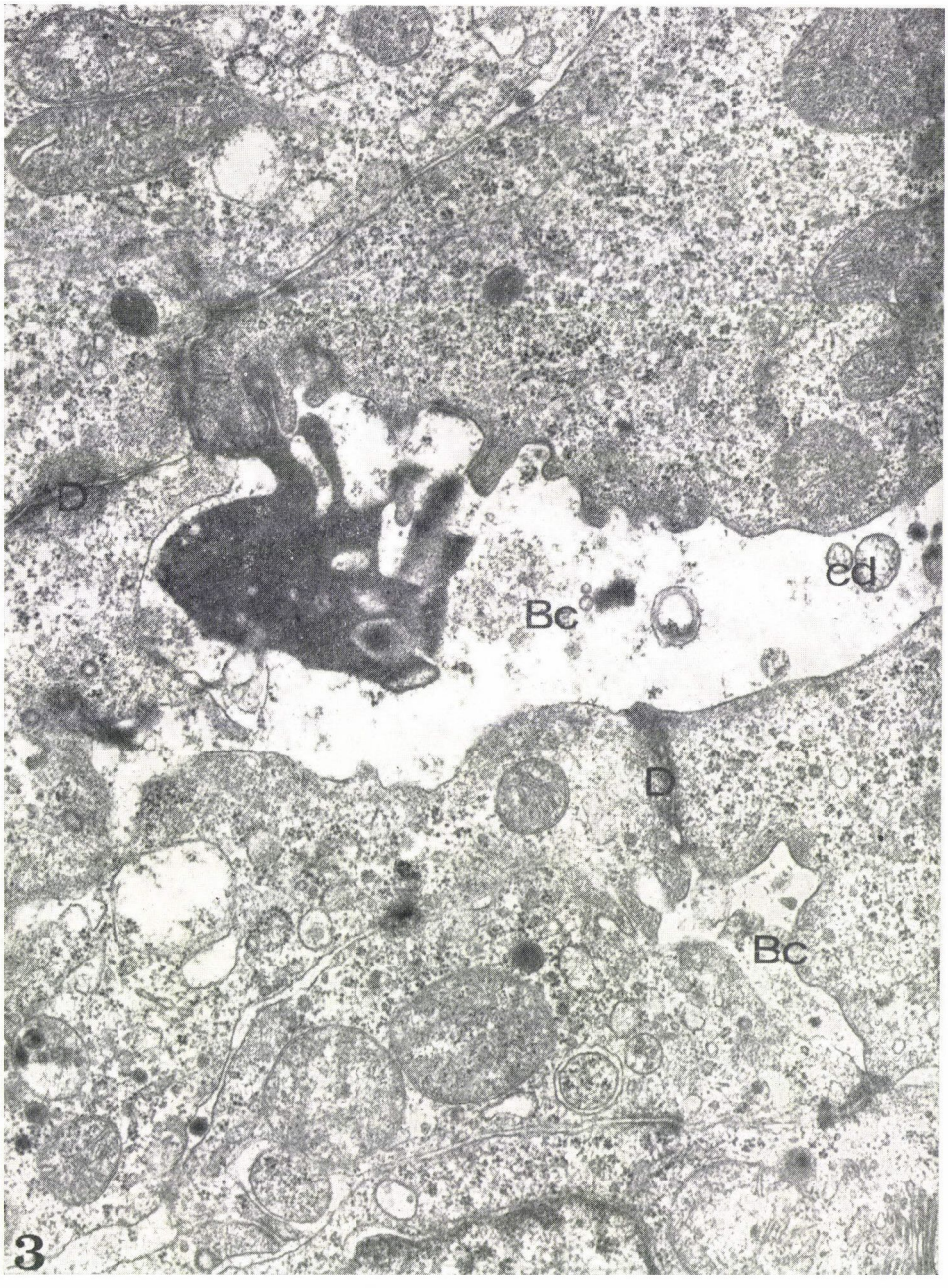
12/b. ábra. Subcutan oltott hepatoma, Hunnia hibrid csirkéken, 51. passage. Jól megtartott jellegzetes megjelenésű ép daganatsejtek szomszédságában sejtnecrosis eredményeként sejtdetritus (Cd) elemei, közöttük pedig fibrin (fi) szálcsák és collagen fibrillumok (cf) átmetszetei láthatók. Alapnagyítás: 2000×. Végső nagyítás: 6 200×



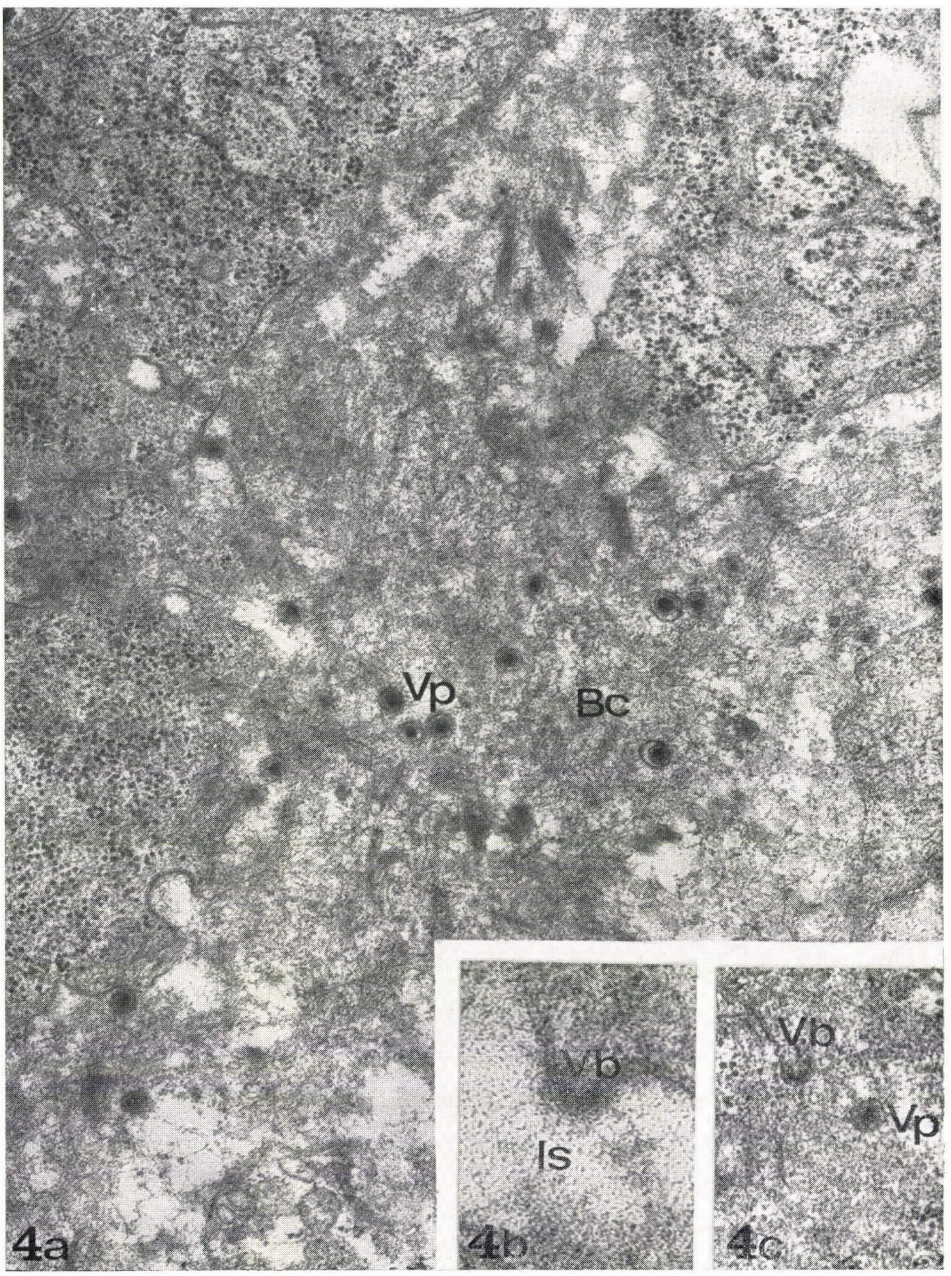
1. ábra. Subcutan oltott hepatoma, IV. passage. Szorosan egymáshoz simuló polygonalis daganatsejtek. A megnagyobbodott magvak (N) többségében hypertrophiás prominens nucleolusok (N1) figyelhetők meg. A daganatsejtek közé ékelődve extravascularisan vörösvérsejtek (E) láthatók. Alapnagyítás: 2000×. Végső nagyítás: 5 200×



2. ábra. Subcutan oltott hepatoma, IV. passage. A polygonalis daganatsejtek között helyenként csökevényes fejlettségű epecanaliculusok (Bc) ismerhetők fel. Ezeket desmosomák(D) zárják le a helyenként kiszélesedett intercellularis terek (Is) felé. Egyik epecanaliculusban (Bc) mikrobolyhok (Mv) átmetszetei is megfigyelhetők. Az intercellularis térben egy-egy vírus partikulum (Vp) látható. A daganatsejtek cytoplasmájában lipidcseppek (L) tűnnek szembe. A sejtmagvakban (N) hypertrophiás prominens nucleolusok (Nl) láthatók. Alapnagyítás: 5000×. Végső nagyítás: 12 500×



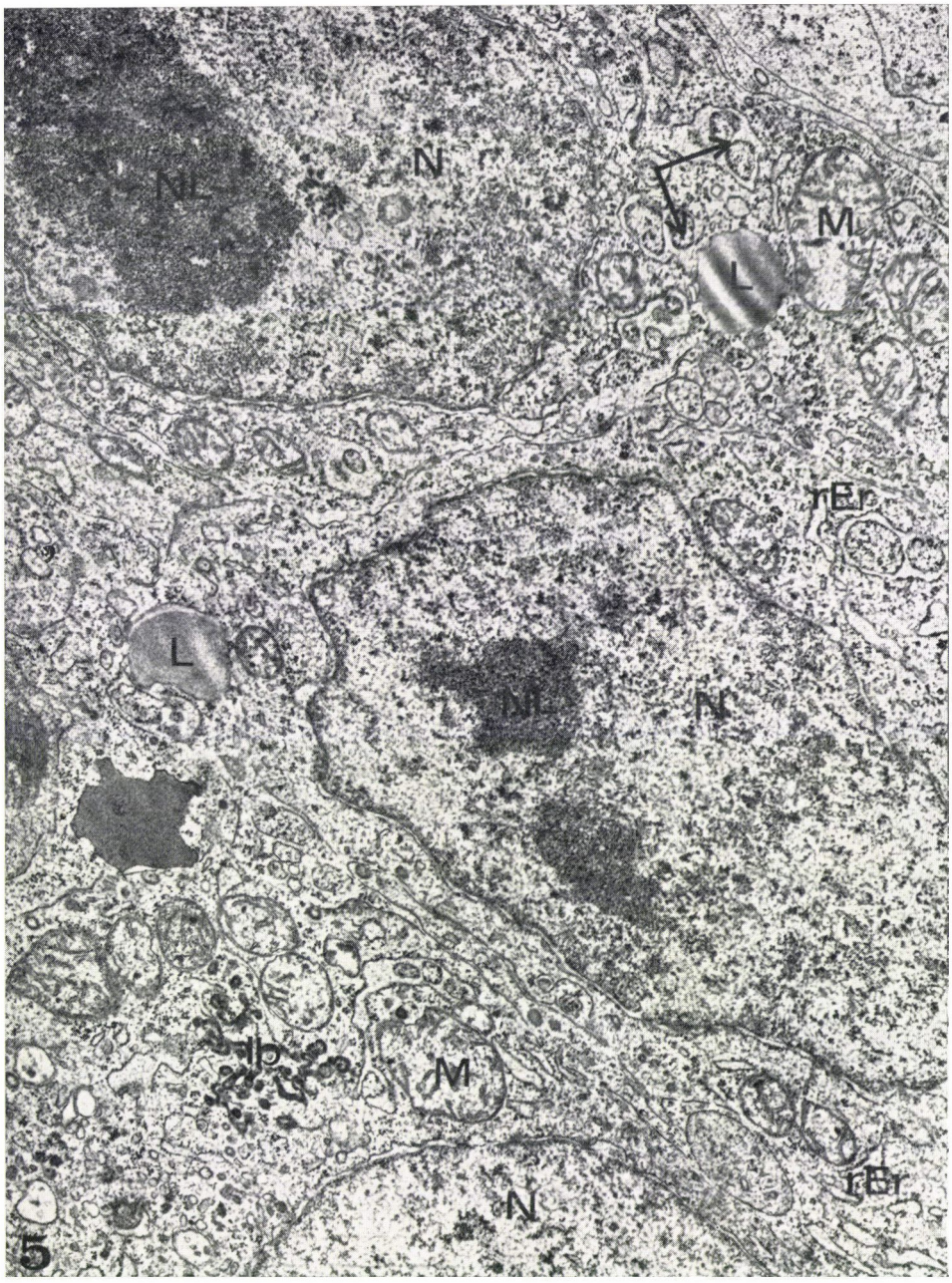
3. ábra. Subcutan oltott hepatoma IV. passage. Tág epecanaliculus, (Bc) melyet több daganatsejt határol. Az epecanaliculust szabályos desmosoma (D) típusú sejtkapcsoló struktúrák zárják le. A canaliculus lumenében denz, amorph anyag, sejtdetritus elemei (Cd) figyelhetők meg. Alapnagyítás: 6 700×. Végső nagyítás: 16 750×



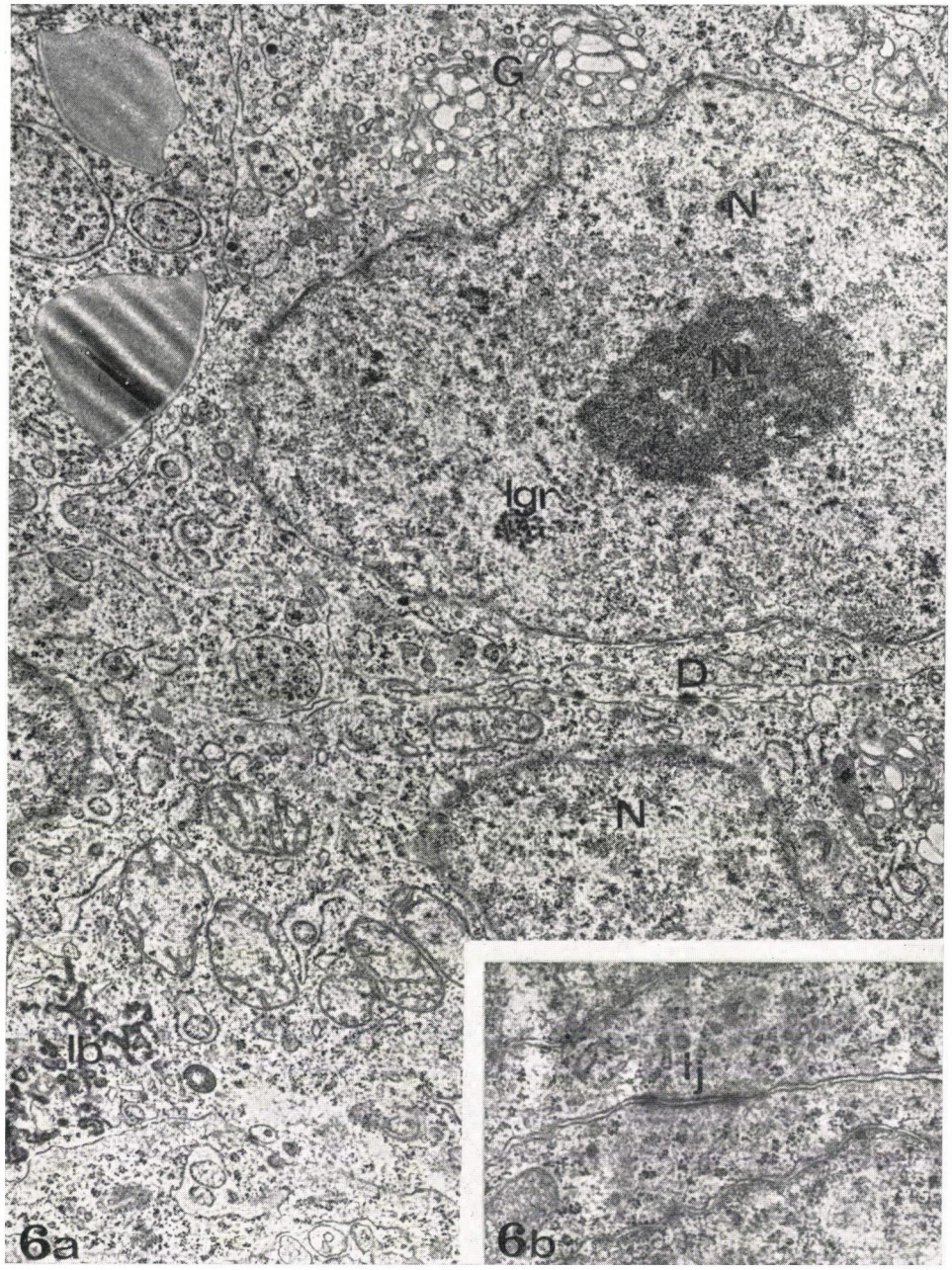
4./a. ábra. VIII. passage, intramuscularisan transplantált hepatoma. A daganatsejtek között kialakult tág epecanaliculus jellegű (Bc) intercellularis tér üregét szálcsás szerkezetű, közepes elektrondenzitású anyag tölti ki, melyben szabályos C típusú vírus partikulumok láthatók elszórtan. Alapnagyítás: 10 000×. Végső nagyítás: 25 000×

4/b. ábra. Vírus budding jelensége (Vb) lateralis sejtfelszínen az intercellularis tér (Is) felé. Alapnagyítás: 27 000×. Végső nagyítás: 73 700×

4/c. ábra. Vírus budding jelensége mellett az intercellularis térben (Is) szabályos C típusú partikulum (Vp) figyelhető meg. Alapnagyítás: 13 000×. Végső nagyítás: 40 300×

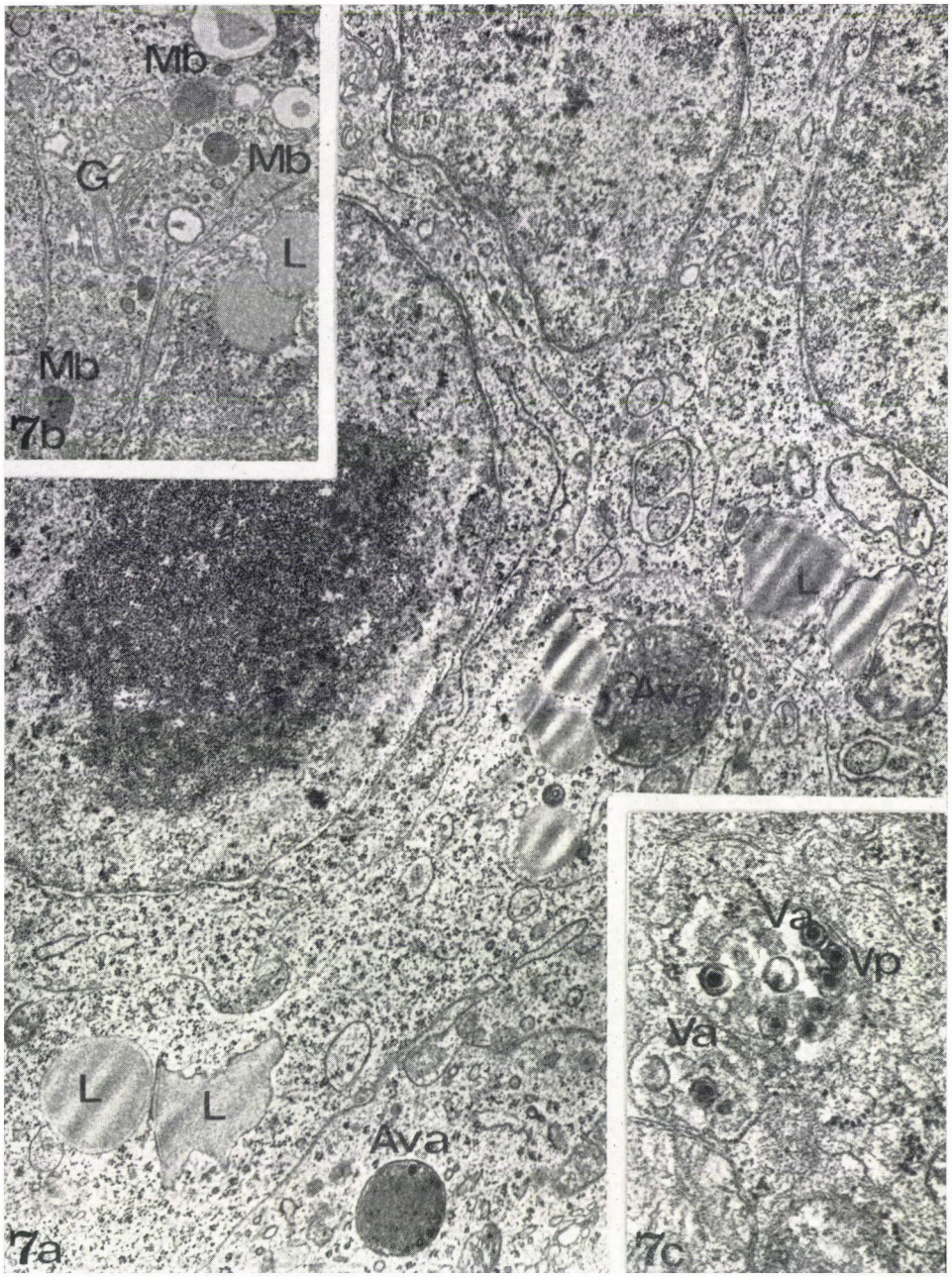


5. ábra. VIII. passage, intramuscularisan oltott transplantált hepatoma. A polygonalis daganatsejtek szorosan egymáshoz simulnak. A chromatinszegény elektronáteresztő magban (N) hypertrophiás elektrondenz nucleolusok (Nl) figyelhetők meg. A cytoplasma organellumokban gazdag, bőségesen tartalmaz durva felszínű endoplasmás reticulumot is (rEr), hosszabb-rövidebb, kanyargós lefutású, változó mértékben tágult cysternák formájában. Az erősebben tágult cysternák lumenében invaginálódott és lefűződött cytoplasma részletek (→) átmetszetei láthatók. A mitochondriumok (M) változó nagyságúak, crysta állományuk károsodott. Lipidcseppeken (L) kívül egyik sejtben elektrondenz, hullámos lefutású membránok halmazából álló, zárványszerű képlet (Ib) is látható a cytoplasmában. Alapnagyítás: 5000×. Végső nagyítás: 15 000×



6/a. ábra. VIII. passage, intramuscularisan transplantált hepatoma. Az organellumokban gazdag cytoplasmában az előbbi ábrán bemutatott sejtorganellumokon kívül a mag közelében elhelyezkedő fejlett, Golgi-zóna (G) figyelhető meg. A chromatinszegény sejtmagban (N) prominens, elektrondenz nucleolus (Nl) és interchromatikus granulum (Igr) halmazok láthatók. Másik sejt cytoplasmájában elektrondenz, hullámos lefutású membránokból álló zárványszerű képlet (Ib) figyelhető meg. A szomszédos sejtek között keskeny intercellularis tér, elszórtan desmosoma (D) típusú sejtkapcsoló struktúra látható. Alapnagyítás: 5000×. Végső nagyítás: 15 000×

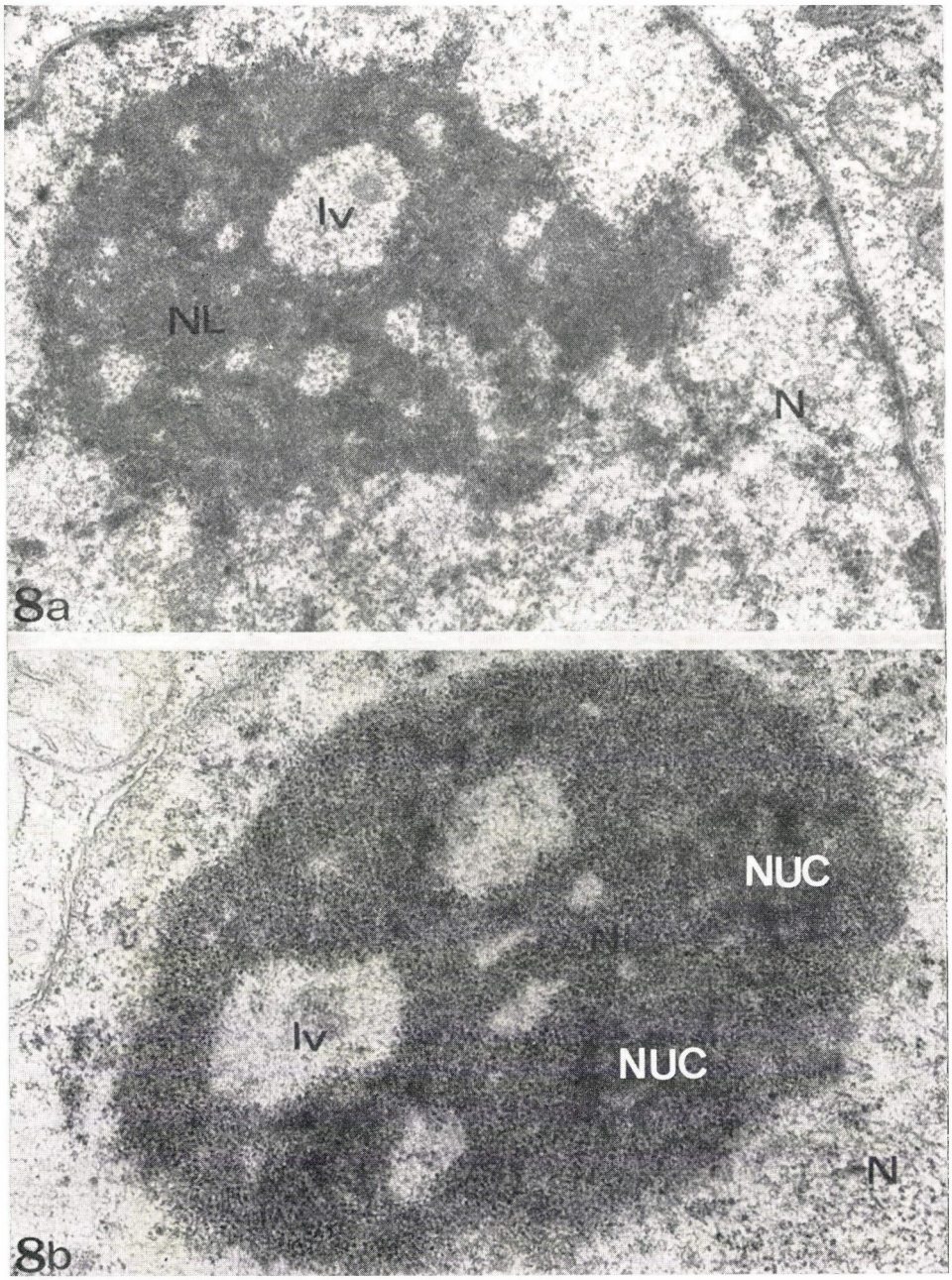
6/b. ábra. A daganatsejtek párhuzamosan futó membránjait egybekapcsoló sejtkapcsoló struktúra (Ij) nagyobb nagyítással. Alapnagyítás: 5 500×. Végső nagyítás: 17 050×



7/a. ábra. VIII. passage, intramuscularisan transplantált hepatoma. A daganatsejtek cytoplasmájában a korábbi ábrákon is bemutatott sejtorganellumokon kívül nagyszámban lipidcseppek (L) és különböző belső szerkezetet mutató elektrondenz autophag vacuolumok (Ava) figyelhetők meg. Alapnagyítás: 5000×. Végső nagyítás: 15 500×

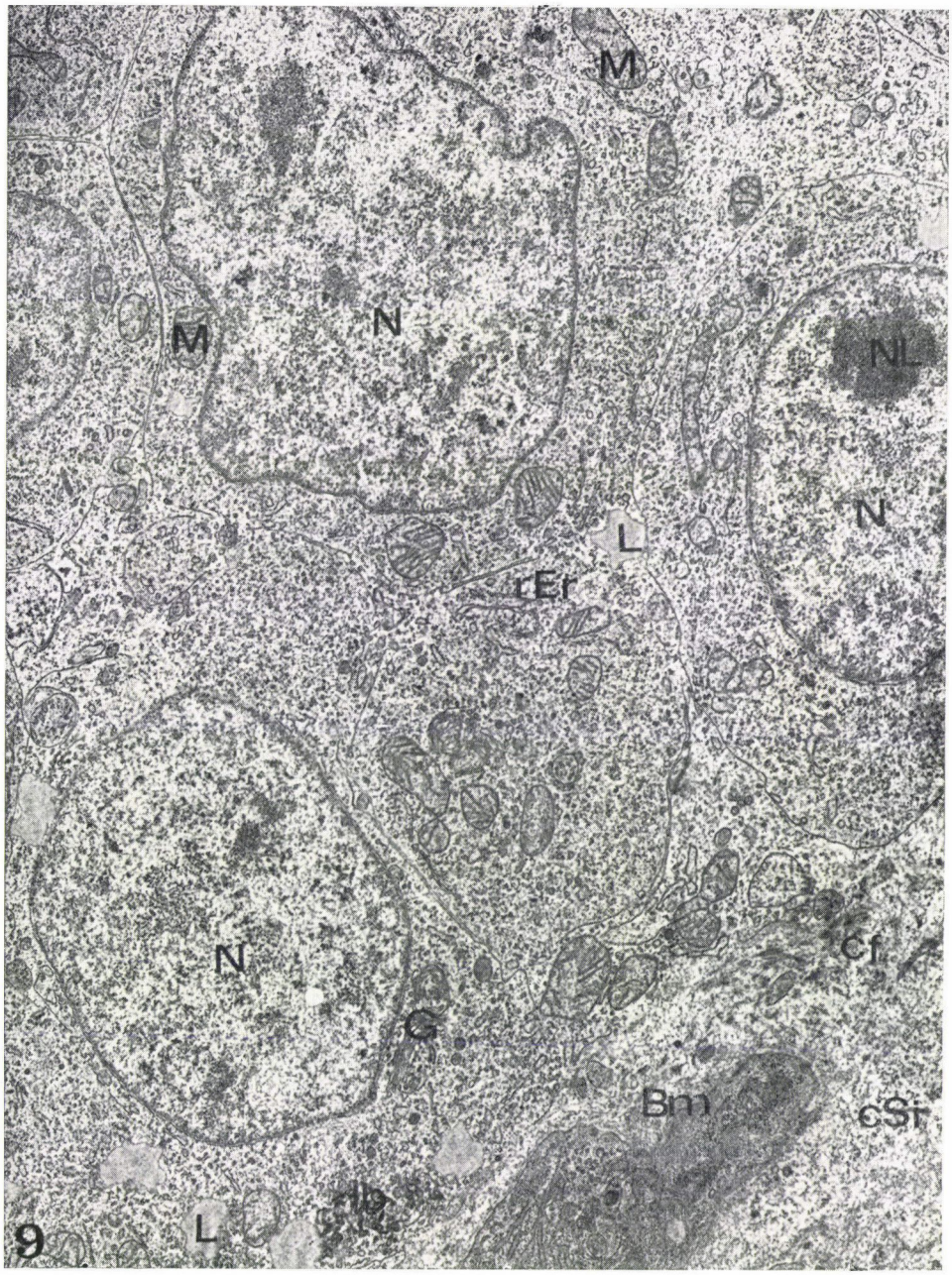
7/b. ábra. Intraperitonealisan oltott hepatoma, V. passage. A cytoplasmában Golgi-zóna elemei, lipidcseppek (L) mellett változó nagyságú, közepes elektrondenzitású kerekded, ovális képletek ún. microbody-k (Mb) láthatók. Alapnagyítás: 5000×. Végső nagyítás: 15 000×

7/c. ábra. VI. passage, intramuscularisan transplantált hepatoma. Intracellularisan, vacuolumok (Va) üregében jól megtartott, és leépülőben levő C típusú vírus partikulumok (Vp) láthatók. Alapnagyítás: 17 000×. Végső nagyítás: 52 700×

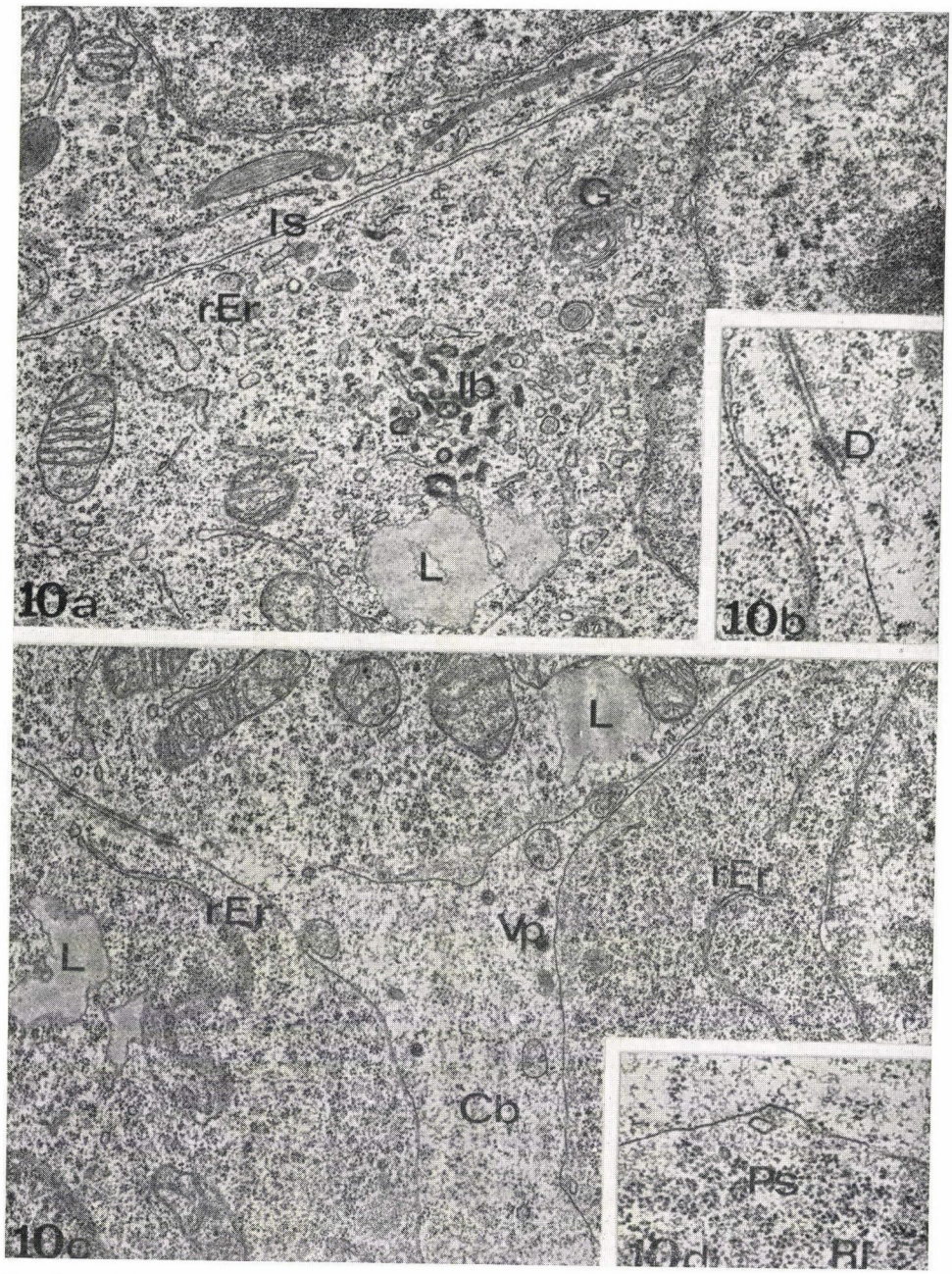


8/a. ábra. Subcutan transplantált hepatoma IV. passage. A chromatinszegény magban (N) hypertrophiás, elektrondenz prominens nucleolus (Nl), mely zömében granularis komponensekből épül fel. A nucleolus (Nl) állományát kisebb elektrondenzitású mezők, invaginált karyoplasma (Iv) részletek hatják át. Alapnagyítás: 6700×. Végső nagyítás: 14 740×

8/b. ábra. VI. passage, intramuscularisan oltott hepatoma. A magban (N) erősen megnagyobbodott, hypertrophiás elektrondenz nucleolus (Nl), mely túlnyomórészt granularis komponensből épül fel, a nucleolusban helyenként a fibrillaris komponensből álló, kissé elektrondenzebb nucleolonema (Nuc) fonatai is felismerhetők. A nucleolus állományát karyoplasma invaginatumok (Iv) hatják át. Alapnagyítás: 8 900×. Végső nagyítás: 27 590×



9. ábra. Subcutan oltott hepatoma, Hunnia hibrid csirkéken, 51. passage. A daganat szorosan egymáshoz fekvő polygonalis sejtekből épül fel. A sejtek között keskeny intercellularis terek húzódnak. A megnagyobbodott chromatinszegény elektronáteresztő sejtmagvak (N) egyikében elektrondenz nucleolus részlete (Nl) látható. A cytoplasma sejtorganellumokban elszegényedett, durva felszínű endoplasmás reticulumot (rEr) alig, s csak tubularis formában tartalmaz. A cytoplasma ugyanakkor bőséges szabad ribosoma és polysoma állománnyal rendelkezik. Megkevesbedettnek tűnik a mitochondriumok (M) száma is. Elszórtan lipidcseppek (L), egyik sejtben pedig csökevényes Golgi-zóna (G) és elektrondenz hullámos lefutású membránokból álló cytoplasmaticus zárvány is látható. Az ábra jobb alsó sarkában capillarizált „sinusoid" részlete (cSi) látható, basalmembránnal (Bm) collagen fibrillumokkal (Cf) körülvéve. Alapnagyítás: 2700×. Végső nagyítás: 8 370×



10/a. ábra. Subcutan oltott hepatoma, Hunnia hibrid csirkéken, 51. passage. A sejteket keskeny intercellularis tér (Is) választja el. A cytoplasma kevés tubularis jellegű durva felszínű endoplasmás reticulumot (rEr) tartalmaz. a szabad ribosoma és polysoma állomány bőséges. Csökevényes Golgi-készülék (G) és lipidcseppek (L) mellett hullámos lefutású, elektrondenz membránokból álló cytoplasma zárvány (Ib) figyelhető meg. Alapnagyítás: 5000×. Végső nagyítás: 15 500×

Debreceni Orvostudományi Egyetem I. sz. Sebészeti Klinika és Kórbonctani Intézet

SZÖVETRAGASZTÓ ALKALMAZÁSA A HELYREÁLLÍTÓ ÉRSEBÉSZETBEN

GYURKÓ GYÖRGY az orvostudományok kandidátusa és NEMES ZOLTÁN

Közlésre érkezett: 1975. II. 27.

A szövetragasztó anyagok olyan előnyöket kínálnak, amelyeket a helyreállító érsebészet szívesen kihasznál. A nagyszámú állatkísérlet tapasztalatai alapján (Carton és mtsai. 1960, Nathan és mtsai 1960, Jacobson és mtsai 1966, Matsumoto és mtsai 1967, Nemes és Sótonyi 1967, Bornemisza 1968, Gottlob és Blümel 1968; Bornemisza és Furka 1971, Dubecz és mtsai 1971) klinikai gyakorlatban is kipróbálásra kerültek (Carton és mtsai 1962; Awe és mtsai 1963, Vaskó és Brockmann 1965, Braunwald 1966, Ránky és mtsai 1968, Fessl és Alemany 1969, Krause 1970, Nemes 1970). A DOTE Kísérletes Sebészeti Intézetében az elmúlt 10 év alatt mintegy ezer állatkísérletben alkalmaztunk szövetragasztókat (Gyurkó 1967/a, 1967/b, Gyurkó és mtsai 1972) és kedvező tapasztalataink alapján a klinikai gyakorlatban is rutinszerűen használjuk (Gyurkó és mtsai., közlés alatt). A jelen közlemény célja, hogy a helyreállító érsebészetben a Histoacryl-N-blau ragasztóval szerzett tapasztalatainkat nagyobb esetszám alapján összegezzük.

Anyag és módszer

Az I. sz. Sebészeti Klinikán 1972. I. 1-től 1974. XII. 31-ig 193 helyreállító érműtétet végeztünk (1. táblázat). Acut verőérelzáródás miatt 41, chronicus verőérobliteratio kezelésére 133, érsérülés helyreállítására 13 műtétet végeztünk. A vénás és nyirokrendszeren (Nielubowitz szerinti lymphovenosus anastomosis) 6 reconstructiot hajtottunk végre.

Acut verőérelzáródásnál pulsus tapintás alapján az elzáródás magasságát meghatározva aorto-ilio-femoralis occlusioknál egyik vagy mindkét oldali femoralis oszlást feltárva az a. femoralist úgy nyitottuk meg haránt-, vagy ritkábban hosszirányban, hogy a proximalis és distalis érpálya, valamint a profunda femoris is jól szondázható, katheterezhető legyen. A popliteo-tibialis elzáródásoknál az a. poplitea oszlásánál végzett arteriotomiából megtudtuk katheterezni mindkét tibialis arteriat. A haránt arteriotomiat tovafutó varrattal zártuk a két tartóöltéssel megfelelően széthúzott végpontok között, s a varratsort ragasztóval tettük hermetikussá. A hosszirányú arteriotomiat direkt varrattal vagy folttal zártuk.

1. táblázat

Helyreállító érműtéteink típus szerinti megoszlása

Acut verőérelzáródás:		
Embolektomia		22
Thrombektomia		19
	összesen:	41
Chronicus verőérelzáródás:		
Aorto-iliacalis helyreállítás		34
Femoro-poplitealis helyreállítás		66
Popliteo-tibialis helyreállítás		28
Nyaki verőér helyreállítás		5
	összesen:	133
Érsérülés:		
Helyreállítás		13
Massiv mélyvénás thrombosis: Thrombektomia		4
Egyéb helyreállító érműtét:		2
A műtétek száma összesen:		193

P. J. 61 éves férfi beteg. Bal poplitea embolia miatt felvétel és műtét. A poplitea oszlását feltárva, hosszirányú arteriotomiat végezve a popliteaból 6, a tibialis anteriorból 10 cm hosszúságú alvadékot távolítottunk el Fogarty katheterrel. A tibialis posterior csak 10 cm-ig katheterezhető, belőle kisebb alvadékrészleteket távolítottunk el. Az arteriotomiat tovafutó varrattal és ragasztással zárjuk. A műtét után és az elbocsájtáskor, valamint az ellenőrzések alkalmával a dorsalis pedis jól lüktet, a tibialis posterior sejthető.

A chronicus érelzáródások esetén a saját szövettel történő érhelyreállításra törekedtünk, ezért a 34 aorto-iliacalis műtétünk zöme egy-vagy kétoldali thromboendarteriektomia volt. Két Y áthidalást, három keresztezett femoro-femoralis (egy esetben venaval) és egy obturator áthidalást ültettünk be. A 66 femoro-poplitealis és 28 popliteo-tibialis beavatkozás közül 34 saját vena saphaena, egy esetben műér áthidalást végeztünk. A többi esetekben thrombendarteriektomiát alakalmaztunk.

Thrombendarteriektomiát végzünk elektive a femoro-poplitealis szakaszon, ha a be- és kiáramlási pálya megfelelő, az érpálya mérete átlagos vagy annál tágabb, az elzáródás feltehetőleg nem több éve áll fenn, az érfal állapota megfelelő és a leválasztás könnyűnek ígérkezik. Kivéve a néhány cm-es elzáródásokat, féligzárt thrombendarteriektomiát alkalmazunk úgy, hogy az elzáródás egyik vagy mindkét végén az arteriat hosszirányban megnyitva desobliteralunk, s az intimalépcsőt öltéssel és ragasztással, alacsony intima-

lépcső esetén csak ragasztással rögzítjük. Az arteriotomiát 6 mm-nél tágabb és jól varrható falú ereken direkt varrattal és ragasztással, szűkebb ereken foltplasztikával és ragasztással zárjuk.

Foltanyagként az arteria iliacan, femoralison, de kivételesen lejjebb is polyester velour anyagot alkalmazunk. Ez a foltanyag az eddigi 30 eset alapján igen előnyösnek bizonyult. A femoro-popliteo-tibialis szakaszon törekszünk a saját vena alkalmazására és összesen 86 helyen ültettünk be venafoltot. Amióta a duplafalú venafolt technikát kidolgoztuk és előnyösebbnek látjuk, 53 alkalommal ezt használtuk ragasztással kiegészítve.

H. J. 39 éves férfi beteg. 100 m-es dysbasias indexszel felvétel. Az aorto-arteriographia a jobb iliaca externa elzáródását mutatta (1/a ábra). Thrombendarteriektomiát végzünk és a femoralis communis hosszirányú arteriotomiáját varrattal és ragasztással zárjuk. A három hónap múlva végzett kontroll vizsgálat (1/b. ábra) az operált szakasz átjárhatóságát mutatja.

T. L. 57 éves férfi beteg. Másfél éve kezdődő és fokozódó dysbasias panaszok miatt felvétel. Az aorto-arteriographia a jobb femoralis superficialis felső szakasza és a tibialis anterior elzáródását mutatja. A bal femoropoplitealis szakasz is durván kaliberingadozó (2/a, b, c ábra). A femoralis superficialis kezdeti és terminalis szakaszát hosszirányban megnyitva féligzárt thrombendarteriektomiát végzünk és kb. 35 cm-es obliteratumot távolítunk el. Az intimalépcsőt proximalisan és distalisan *öltéssel és ragasztással rögzítjük* és a 7—8 mm-es átmérőjű a. femoralis arteriotomiáit *direkt varrattal és ragasztással zárjuk.* Jól tapintható tibialis posterior pulsussal távozik. A tartós Prodectin therapia mellett állapota egy év múlva is változatlanul jó.

H. L. 75 éves férfi beteg. Két éve kezdődött a bal I-es ujjon a gangraenas folyamata. Felvételkor az I-es ujj gangraenas és a külső bokán gyermektenyérnyi fekély. Amputatiora gondoltunk, de az arteriographia a bal femoralis superficialis operabilis elzáródását mutatta (3/a, b ábra), így a cardialis és antibioticus előkészítés után a reconstructiot megkíséreljük. A femoralis kezdeti és terminalis szakaszát hosszirányban megnyitva féligzárt thrombendarteriektomiát és adductor tenotomiát végzünk. Az intimalépcsőt *2 öltéssel és ragasztással* rögzítjük, az atreriotomiát a 4—5 mm átmérőjű arterian *duplafalú homológ venafolttal és ragasztással zárjuk.* A necrectomia és ablatio után a sebek jól besarjadtak, a beteg 3 hónap múlva is panaszmentes.

A saját vena áthidalására törekszünk elektíve, ha a be- és kiáramlási pálya gyengébb, ha az erek kalibere szűk, a popliteo-tibialis szakaszon, ha előreláthatóan jó minőségű saphaena áll rendelkezésre, ha fiatalabb betegen tartósabb átjárhatóságra számítunk stb. A tervezett műtéti típust az adott operatív situatio természetesen módosíthatja.

A kis metszésekből kivett saphaenát előkészítjük, a leszakadt vagy lemetszett oldalágak helyét, a ragasztót is segítségül véve, zárjuk. A felső anastomosist — ha a femoralis superficialis szájadéka ép vagy könnyen desobli-

terhálható — ennek kezdeti szakaszára helyezzük. Néhány esetben a hosszában felhasított femoralis superficialis csonk és vena között nyelv alakú vég a véghez anastomosist készítünk. Ezt haemodynamikailag kedvezőbbnek tartjuk. Az alsó anastomosist úgy készítjük vég az oldalhoz, különösen a lábszári arteriakon, hogy a befogadó arteria mindkét irányába vért tudjon juttatni. A megnyújtott anastomosisok olykor foltplasztikai célt is szolgálnak.

A. M. 64 éves férfi beteg. Több éve fennálló, fokozódó panaszok miatt a jobb láb I-es ujjon gangraenas fekéllyel felvétel. Az arteriographia a femoralis superficialis hosszú elzáródását mutatja (4/a, b ábra). Az arteria tibialis posterior a lábszár középső, az anterior az alsó harmadától obliterált, csak a peronea követhető a bokáig. Tekintettel a rossz kiáramlási pályára vena áthidalást végzünk. A kezdeti szakaszán desobliteralt femoralis superficialis és a poplitea felső harmada között 5—7 mm-es átmérőjű és 35 cm-es hosszúságú saphaenaval áthidalást végzünk. A vég az oldalhoz anastomosisokat *varrattal és ragasztással* készítjük. A fekély gyógyul, a poplitea pulsusa 1 év múlva is jól tapintható.

Sz. S. 61 éves férfi beteg. Néhány hónapja kezdődő dysbasias panaszokkal, a jobb lábszár alsó harmadában trauma hatására keletkezett, de gyógyhajlamot nem mutató ulcus miatt felvétel. Az arteriographia femoro-poplitealis elzáródást mutat (5. ábra). Femoro-tibialis áthidalást végzünk az 5—6 mm átmérőjű, kb. 30 cm hosszúságú transplantatummal. A vég az oldalhoz anastomosisokat *varrattal és ragasztással készítjük.* Tapintható tibialis pulssussal és csaknem gyógyult sebbel exmissio.

A nyaki verőerek közül a carotison nyílt thrombendarteriektomiát végzünk belső shunt védelmében. Az értágasság eddig lehetővé tette a direkt varrat alkalmazását. A subclavia elzáródást egy esetben axillo-axillaris műér bypassal hidaltuk át.

T. A. 68 éves férfi beteg. Baloldali enyhe paresis miatt a DOTE Neurologiai Klinikán végzett kivizsgálás a carotis interna kezdetén 85%-os stenosist mutatott (6. ábra). Belső shunt védelmében a carotis oszlás thrombendarteriektomiáját végezzük. Az intimaszegélyt *egy öltéssel és ragasztással* zárjuk. A beteget átjárható carotisokkal további neurológiai kezelésre visszahelyezzük.

Érsérülés miatt 13 helyreállító műtétet végeztünk. A műtét típusa az érsérülés fajtájához igazodott.

Massiv mélyvenas thrombosis miatt 4 betegen végeztünk thrombektomiát, egy esetben kétoldali beavatkozást. Az utóbbi betegen a vena cavat is megnyitottuk. A többieknél csak a vena femoralis communis haránt- vagy hosszirányú venotomiáját végeztük, amelyet varrattal és ragasztással zártunk. Alkalmaztunk még szövetragasztót priapismus miatt végzett saphaeno-cavernosus anastomosisnál és Nielubowitz szerint végzett lympho-venosus anastomosisnál is.

2. táblázat

Különböző érszakaszokon végzett, ragasztással kombinált éregyesítési típusok

Az ereken végzett beavatkozás típusai	A beavatkozásnak alávetett erek száma és az esetek száma										
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	Összesen
Intimaszegély rögzítése: csak ragasztás	3	5	3	18	12	10	—	—	—	—	51
Intimaszegély rögzítése: öltés + ragasztás	3	3	5	24	11	8	—	—	3	—	57
Hosszmetszés zárása: varrat + ragasztás	8	5	9	12	—	2	3	4	4	4	49
Hosszmetszés zárása venafolttal: varrat + ragasztás:	—	—	13	47	2	22	2	—	—	—	86
Harántmetszés zárása: varrat + ragasztás	—	2	15	20	3	14	7	13	8	4	86
Vég a véghez anastomosis: varrat + ragasztás	—	2	1	7	—	3	3	3	3	1	23
Vég az oldalhoz anastomosis: varrat + ragasztás	—	—	7	15	—	20	9	—	—	3	54
Oldalsérülés vagy oldalág helyének ragasztása	6	3	15	13	5	5	6	31	3	7	94
Összesen:	20	20	68	156	33	84	29	50	21	19	500

A betűjelzések magyarázata:

A = aorta és a. iliaca
B = a. iliaca externa és hypogastrica
C = a. femoralis
D = a. femoralis superficialis
E = a. profunda femoris
F = a. poplitea
G = a. tibialis anterior, posterior és peronea
H = saját vena saphaena transplantatum
I = a. carotis és felsővégtagi arteriák
J = venas rendszer

Az ismertetett beavatkozásokat a ragasztással végzett mozzanatok szerint felbontva az alábbiakat tapasztaltuk (2. táblázat). Az intimaszegély rögzítésére 108 esetben használtunk ragasztót, az esetek mintegy felében öltések nélkül. A hosszirányú arteriektomiát 49 helyen direkt varrattal, 86 alkalommal venafolttal zártuk, s ragasztóval hermetisaltuk. A venafoltokat a saphaena magna lábszári szakaszából, nagyobb oldalágából vagy a saphaena parvaból nyertük. Harántmetszést 86 esetben zártunk. Vég a véghez anastomosist 23, vég az oldalhoz szájadékot 45 esetben készítettünk varrattal és ragasztásos kiegészítéssel. Ferdére kiképzett vég a véghez anastomosist készítettünk többek között az átmetszett vena és arteria brachialis csonkjai között, vagy a. iliaca kinking resectioja után.

Az arteriakon, a venakon vagy a beültetendő transplantatumon lemetszett, leszakadt oldalágak, vagy kicsiny oldalsérülések ellátása — a szűkület elkerülését figyelembe véve — olykor nehézségbe ütközik. Ilyen esetekben —

számszerint 94 akalommal — jó szolgálatot tesz a szövetragasztó, mivel egyedül vagy kicsi vena vagy fascia darabkák leragasztásával azonnali eredményt biztosít. A punctios nyílások helyének azonnali zárását és haemostasisát is megkönnyíti. A nagyobb erek adventitiajában futó és a heparinozás után vérezgető erek egy pici ragasztócseppel elzárhatók.

A ragasztással kombinált beavatkozást az aortán és iliaca communison 20, az iliaca externan és hypogastrica szájadékán 20, a femoralis communison 68, a femoralis superficialison 156, a profunda femorison 33, a poplitean 84, a tibialis anterioron, posterioron és peronean 29, az áthidalásként beültetett saját vena transplantatumon 50, a nyaki és felsővégtagi arteriakon 21, a venas rendszeren 19 esetben végeztük.

3. táblázat

A szövetragasztó alkalmazása nélkül végzett beavatkozások típus szerinti megoszlása

Az ereken végzett beavatkozás típusai	Az esetek száma
Intimaszegély rögzítése öltésekkel	5
Hosszmetszés zárása varrattal	3
Hosszmetszés zárása venafolttal	2
Hosszmetszés zárása polyester velour folttal	30
Harántmetszés zárása varrattal	3
Vég a véghez anastomosis érprothesis és arteria között	2
Vég az oldalhoz anastomosis érprothesis és arteria között	18
Vég az oldalhoz anastomosis vena és arteria között	1
Összesen:	64

Nem alkalmaztunk ragasztót 64 beavatkozásnál (3. táblázat). Elvi megfontolás és gyakorlati tapasztalat alapján csak varrattal végeztük az egyesítést a vég az oldalhoz és vég a véghez anastomosisoknál a műerek beültetésekor, valamint a polyester velour foltplasztikák esetén. Egyéb esetekben a ragasztó átmeneti hiánya vagy az operateur egyéni tartózkodása miatt nem használtunk ragasztót. Ezen esetekben a vérzés mindig elhúzódóbb és fokozottabb volt.

A megfigyelési idő alatt meghalt betegeknél, valamint az amputatiora került végtagok esetében a műtéti terület minden esetben gondosan meg lett vizsgálva és ott a ragasztás rovására írható kóros elváltozást nem találtunk. A kivett mintákat szövettanilag is feldolgoztuk és ezek közül néhány leletet részletesebben ismertetünk.

N. G.-né 64 éves nőbeteg. Több sikeres thromboembolektomia, majd reobliteratio után amputatiora került végtagból az a. popliteara helyezett venafolt került feldolgozásra 8 nappal a műtét után. Száma: 3230/1974.

Arteria poplitea harántmetszete: Az arteria a lumen kétharmadát veszi körül, itt a membrana elastica externa és interna vastag csíkszerű réteget képez, melyek között tömött, simaizom állományból felépülő vaskos media látható. A venafolt relatíve bőséges simaizom állománya, felszínes alsó végtagi venakra jellemző mediat mutat, melyben a kötegszerűen elhelyezkedő simaizom sejtek elasticus és kollagenrostokkal keverednek. Mind az arteria, mind a vena folt intima-fosztottnak látszik. Helyenként az arteria belső elasticus rétege is hiányzik. A lument réteges fibrinből és vörösvértestekből álló friss vérrög tölti ki. A vena illesztési pontjain nincs kötőszövetes áthidalás, csupán egy vékony tölcsérszerű behúzódás, melyet vérrög tölt ki. A behúzódás szomszédságában a vena és arteria mediaján áthatoló varrat harántmetszete. A kifejezett postmortalis károsodás ellenére megállapítható, hogy a szokványosnál bőségesebb lobos reactio övezi az arteria adventitialis részét és a vena folt teljes külső kerületét. Sejthető szövetragasztó nyoma, lobos reactioval övezve. Óriássejtek nem alakultak ki.

K. J. 59 éves férfi beteg. Gangraenas stadiumban jobboldali femoropoplitealis thrombendarteriektomiát, majd reobliteratio miatt a 20. postoperatív napon amputatiot végeztünk. Száma: 3564/1974. Arteria femoralis-poplitea átmenet: Harántmetszetben feldolgozott muscularis typusú arteria proximalis és distalis területén a fal 1/3-át kettős venafolt képezi. Az arteria két csíkszerű elasticus réteg között tömött simaizomállományból felépülő mediat mutat. A venafolt aránylag simaizomgazdag mediájú, alsó végtagi felületes venanak megfelelő fallal bír. A mediaban a simaizomsejtek kötegekbe rendeződnek és kollagenrostokkal, elasticus rostokkal hálózatot alkotnak. Az illesztés területében keskeny tölcsérszerű behúzódás van, melyet a megvastagodott intimával azonos szerkezetű kollagenes kötőszövet tölt ki (7. ábra). Az intimara szervülő vérrög tapad. Az illesztés szomszédságában varrat átmetszet, mely a media-adventitia határán halad. Az adventitiaban kioldott szövetragasztó körül idegentest typusú óriássejtek, kevés lobos sarjszövet.

R. L. 63 éves férfi beteg. Gangraenas stadiumban bal femoro-poplitealis thrombendarteriektomia, 1 hónap múlva reobliteratio miatt amputatio történt. Száma: 7038/1974. Thrombendarteriektomias metszés regiójából nagy muscularis arteria harántmetszete: Jól fejlett, csíkszerű, belső és külső elasticus réteg között vaskos, simaizomból felépülő, de jelentős mennyiségű kollagenrostot is tartalmazó, tömött media. A lumen kerületének 1/5-ét kettős venafolt képezi. A vena relative jól fejlett, köteges simaizomállományú mediaval bír, melyben elasticus és kollagen rostkötegek. Az adventitia vaskos, kollagenes és elasticus rosthálózatot mutat. Csíkszerű elasticus réteg nem alakult ki. Az arteria belfelszínét réteges szerkezetű vérrög borítja, mely szervülés kezdeti jeleit is mutatja. Az arteria és a vena illesztésénél varrat-harántmetszet és ennek szomszédságában az adventitiaban kioldott szövetragasztó

körül idegentest óriássejtes lobos sarjszövet. A lob az átlagosnál bőségesebb, zömmel kereksejtekből, kisebb részben neutrophil leukocytákból áll.

F. I. 43 éves férfi beteg. Acut végtag ischaemia miatt ilio-femoralis thrombektomia, majd femoro-poplitealis thrombendarteriektomia. Az ischaemia folytán kialakult károsodások miatt átjárható ilio-femoro-popliteotibialis arteriak ellenére másfél hónap múlva amputatiot végeztünk. Száma: 4522/1974. Arteria poplitea harántmetszete: Az arteria belső és külső elasticus membranja csíkszerű vastag elasticus réteget képez, melyek között tömött simaizomállományból álló vaskos media. Az érkeresztmetszet 1/4-én venafolt látható. A vena alsó végtagi felületes venaknak megfelelően a mediaban jól fejlett simaizomállománnyal bír, mely azonban köteges felépítésű és jelentős mennyiségű elasticus rosttal és kollagen rosttal keveredik. A vena széles adventitiajában durva elasticus rostok láthatók elszórva, nem csíkszerű réteget alkotva. Az intima helyén átlagosan az érfal egyéb rétegeinek összvastagságát elérő, kollagenes kötőszövetből álló zóna látható, mely néhol szervülő fali vérrögbe megy át. Ez a neointima réteg mind az arteria, mind a venafolt belfelszínén azonos jellegű és vastagságú. Az illesztési zónát is áthidalja a fent leírt neointima, mely alatt az arteria és a vena mediaja keskeny tölcsérszerű behúzódást mutat (8. ábra). A behúzódás szomszédságában a venafolt mindkét szélén fonálkeresztmetszet. Nemcsak az illesztési zónában, hanem mind az arteria, mind a venafolt adventitiaja mögött széles réteget alkotva kioldott szövetragasztó látszik, melynek határán a fonálhoz viszonyítva jóval tömegesebb óriássejt képződés és mérsékelt chronicus lobos beszűrődést mutató sarjszövet (9. ábra).

M. Gy. 58 éves férfi beteg. Fél évvel a bal aorto-iliacalis thrombendarteriektomia után pulmonalis embolia miatt exitus. Száma: 3565/1974. Iliaca communis aorta varrat harántmetszete (10. ábra): Nagy elasticus typusú arteria részletei láthatók, általában szokványos falszerkezettel. Jelentős eltérés az intima tetemes megvastagodása, mely helyenként az összfalvastagságot megközelíti. A metszés területében az intima állományától szövetileg nem különböző kollagenes, sejtszegény kötőszövet látható, mely szilárdan összetapasztja a sebszéleket. A media adventitia határon fonal haránt, illetve ferde metszetei láthatók. Ennek szomszédságában az adventitia felől szövetragasztó kioldott maradványai körül idegentest óriássejtes reactio és chronicus lobos sarjszövet.

M. J. 54 éves férfi beteg. 13 hónappal a bal femoro-poplitealis vena áthidalás után exitált. Bjk: 12/1974. Anastomosis részlet az arteria femoralis területből (11. ábra): Vastag muscularis typusú arteria hosszmetszete figyelhető meg. Tömött, csíkszerű külső és belső elasticus réteg között tömött simaizomállományú mediaval. Az intima helyenként párnaszerűen megvastagodott, hyalinisalt kollagenes kötőszövetből épül fel, melynek felszínes rétegét friss fibrines vérrög képezi. Tehát az intima helyén levő szövet jórészt neo-

intimának felel meg. A vena az anastomosis területében átfedi kissé az arteriát muscularis rétegével. Az átfedés területében varratmaradvány. Mind az átfedés, mind a varrat felől vaskos neointimával borított. Az arteria femoralis néhol elastica-fosztottnak látszik és itt a neointima kötőszövete közvetlenül a muscularis réteggel érintkezik. Az illesztés területében a varrat szomszédságában, de annál jóval kiterjedtebb területen az adventitia kioldott szövetragasztó nyomait mutatja, mely körül idegentest óriássejtes reactio. Jelentős lobos reactio nincs.

Megbeszélés

A nagyszámú kísérletes alkalmazásról beszámoló közlemények mellett kevés olyan munka jelent meg, amely nagyobb számú érsebészeti beteganyagon szerzett tapasztalatokról tudósít. Kisebb esetszámon *Carton és mtsai* (1962) intracranialis aneurysmák ellátásához, *Awe és mtsai* (1963) aortavérzés megszüntetéséhez, *Vasco és Brockman* (1965) inficialt arteriotomia és subclavia szakadás zárásához használtak szövetragasztót. *Ota és mtsai* (1965) 21 érbetegen alkalmazták a műér-prothesis beültetéséhez, vég a véghez anastomosishoz és arteriotomia zárásához a szövetragasztókat. *Fessl és Alemany* (1969), valamint *Krause* (1970) nagyobb érsebészeti beteganyagon kedvező tapasztalatokat szereztek.

Hazánkban *Nemes* (1970) 21 érsebészeti beavatkozásnál, *Ránky és mtsai* (1968) subclavia arteriotomiak biztosításánál, *Szentgáli és mtsai* (1969) alsóvégtagi recanalisatios műtéteknél alkalmazták a ragasztást.

Mivel a korai és késői átjárhatóság számos ismert és eddig ismeretlen tényezőtől függ, nem alkalmas a ragasztás előnyeinek lemérésére. A ragasztó haszna elsősorban műtét-technikai szempontból értékelhető.

A thrombendarteriektomia sikerének egyik lényeges pontja a distalis intimalépcső gondos rögzítése, mert ha azt a véráramlás felemeli, korai reobliteratio jöhet létre. A varrattal és ragasztóval vagy csak az utóbbival végzett rögzítés biztos és gyors eljárásnak bizonyult. A ragasztó nagy felületen rögzíti az intimát és a széli részek felemelését is meggátolja. A lumenbe vitt kevés ragasztó nem thrombogen és az intimaszegélynél egyébként meglevő átmenetet is kiegyenlíti. Különösen értékes az a. profunda femoris és hypogastrica szájadéknál, ahol a varratok behelyezése a venasérülés veszélye és a nehéz hozzáférhetőség miatt körülményesebb.

A haránt- és hosszirányú arteriotomiák zárásánál és simpla- vagy duplafalú venafoltok beültetésénél is igen értékes adjuvánsnak bizonyult a ragasztó. Birtokában a varratokat a szokásosnál valamivel ritkábban helyezzük be anélkül, hogy a zárás biztonsága csökkenne. A szűkítő pótöltések behelyezésére soha nincs szükség, mert a ragasztóval az esetleges vérző helyek elzárhatók. Általában erre is ritkán van szükség, mert a legtöbb esetben az érszorító felengedése után a haemostasis azonnal megvalósul.

Kedvezőek a tapasztalataink a különböző anastomosisok készítésénél is, amikor ragasztásos kiegészítést végeztünk. Ha korai reoperatio és a varratvonal felbontása szükséges, ennek elvégzését a ragasztó nem gátolja meg.

Az arteriakon vagy az áthidalásként alkalmazott venakon a lemetszett vagy leszakadt oldalágak helyének ellátása a szűkület elkerülését szem előtt tartva, hagyományos módon olykor lehetetlen. A ragasztóval történő ellátás — kicsi vena vagy fascia foltok ráragasztásával vagy anélkül — sikeres. A feltárt arteriak desobliteratioja után azok a kis oldalágak is vérezni kezdenek, amelyek az elzáródás alatt észrevétlenek maradtak. Nagyerek-aorta, iliacatápláló arteriáiból a heparinozás után gyakran vérzés észlelhető. A kísérő venak kicsiny oldalágai a tompa praeparálásnál sérülhetnek, vérezhetnek és a lekötésük vagy aláöltésük a venafal sérülését és nagyobb vérzést eredményezhet. Az említett esetekben, valamint punctios nyílások azonnali haemostasisának elérésére mi a ragasztót kiterjedten alkalmazzuk és kedvezőnek ítéljük.

Szembetűnő a ragasztó előnye két vonatkozásban is. Olyan eseteinkben, amikor nem alkalmaztunk ragasztást, a vérzés sokkal elhúzódóbb, nagyobb tamponálást igényelt. Előfordult, hogy a betegen a kétoldali femoralis arteriotomiat két csoport zárta, s az egyik nem alkalmazott ragasztót és a vérzés elhúzódóbb volt. Az anticoagulánsok alkalmazásának ellenére korai utóvérzés miatt csak egy beteget reoperáltunk, akinél ragasztást nem végeztünk. Az esetleges septicus későbbi vérzések ellen természetesen a ragasztó alkalmazása sem véd meg.

Az irodalomban többen alkalmaztak ragasztót arteriak és műerek vagy műanyag foltok egyesítéséhez is. Mivel korábbi kísérleteinkben (Gyurkó és mtsai. 1972) több esetben szétválásból származó vérzést tapasztaltunk, ezt a klinikai gyakorlatban nem kíséreltük meg.

Bár a ragasztó alkalmazásából származó szövődményt nem észleltünk, mégis célszerű felhívni a figyelmet néhány jelenségre, ami a ragasztó hátrányára írandó. Az érfalat és szöveteket, elsősorban nagyobb anyagmennyiség alkalmazása esetén, megkeményíti, s a ragasztás pillanatában elfoglalt helyzetben rögzíti. Ezért a szűkület elkerülése céljából harántmetszéseket vagy anastomosisok esetén szükséges tartóöltésekkel vagy csipeszekkel a kívánt értágasságot biztosítani. A ragasztandó szélek megfelelő adaptatiója is fontos, mivel nagyobb ragasztómennyiség a lumenba jutva azt összeragaszthatja. Fontos a felület nedvmentesítése is, mivel a kívántnál több nedvesség hatására a ragasztó lemezszerűen felválik. Hangsúlyozandó az is, hogy bár a ragasztás technikája könnyen elsajátítható, mégis csak előzetes kísérletes próbálkozások után, az alkalmazással kapcsolatos ismeretek birtokában bizonyul a klinikai gyakorlatban értékes segítségnek.

A human pathologiai anyag alapján az első két hétben a ragasztó körül kereksejtes lobos jelenségek és idegentest óriássejtek megjelenése látható.

Egy hónap után a környezetben mérsékeltebb chronicus lobos sarjszövet észlelhető. A ragasztó felszívódására vonatkozó állatkísérletből nyert ismereteink revisióra szorulnak, mivel az egy éven túli anyagban is jelentős ragasztómennyiséget találtunk. A butilcyano-acrylat felszívódása, ha egyáltalán ez bekövetkezik, egy évnél jóval hosszabb időt vesz igénybe. Ennek klinikai jelentősége nincs, mivel a ragasztó jelenléte szövődményt vagy panaszokat az eddigi több, mint három éves megfigyelési időszakunk alatt nem okozott.

A ragasztó alkalmazásával kapcsolatos általános tapasztalataink a következőkben összegezhetők: egyedül is felhasználható az intimalépcső rögzítésére vagy kicsi nyílások zárásához. A varratok kiegészítésére igen előnyös, mert fokozza a zárás biztonságát, csökkenti a műtét idejét, s a tamponáláskor elvesztett időt. Kisebb az érszorítók felengedése után a vérzés és vérvesztés, az utóvérzés veszélye is minimális.

Összefoglalás

A szerzők 193 helyreállító érműtét során 500 helyen alkalmazták a Histoacryl-N-blau szövetragasztót. Alkalmasnak bizonyult az intimaszegély rögzítésére öltésekkel kombinálva vagy anélkül, valamint arteriakon és vena transplantatumokon kisebb defectusok vagy punctios helyek zárásához. Értékes adjuvans hossz- és harántirányú arteriotomiák, beültetett venafoltok, vég a véghez és vég az oldalhoz anastomosisok varratsorának biztonságossá tételére. Alkalmazása csökkenti a műtét idejét, az érleszorítók felengedése után a vérzést és vérvesztést, valamint az utóvérzés és varratelégtelenség lehetőségét. Szakszerű alkalmazása hátrányos következményekkel nem jár. A humanpathologiai vizsgálatok alapján, szövettanilag 13 hónapig követve, alkalmazása ellen szóló jelenségeket nem találtak.

IRODALOM

Awe, W. C., Roberts, W., és *Braunwald, M. S.:* Surgery **54,** 322 (1963).
Bornemisza, Gy.: Acta Chir. Acad. Sci. Hung. **9,** 5 (1968).
Bornemisza, Gy., és *Furka, I.:* Acta Chir. Acad. Sci. Hung. **12,** 49 (1971).
Braunwald, N. S.: Ann. Surg. **164,** 967. (1966).
Carton, C. A., Kessler, L. A., Seidenberg, B., és *Hurwitt, E. S.:* Surg. Forum. **11,** 238 (1960).
Carton, C. A., Heifetz, M. D. és *Jessler, L. A.:* J. Neurosung. **19,** 887 (1962).
Dubecz, S.,—Zájjer, J., és *Somogyváry, K.:* Magy. Seb. **24,** 348 (1971).
Fessl, I., és *Alemany, J. A.:* Angiologia **21,** 22 (1969).
Gottlob, R., és *Blümel, G.:* J. Cardiovasc. Surg. **9,** 337 (1968).
Gyurkó Gy.: Orv. Hetilap **108,** 544 (1967/a).
Gyurkó, Gy.: Acta Chir. Acad. Sci. Hung. **9,** 109 (1967/b).
Gyurkó, Gy., Bornemisza, Gy., Furka, I., és *Czehelnik, R.:* Orvostudomány **23,** 13 (1972)
Gyurkó, Gy., Szűcs, J., Ézsely, F., Kósa, Cs., és *Bedránszky, Z.:* Acta Chir. Acad. Sci. Hung. (közlés alatt).

Jacobson, J. H., Moddy, R. A., Kusserow, B. K., Reich, T., és *Wang, M. C. H.:* Surgery **60,** 379 (1966).
Krause, M.: Zbl. Chir. **95,** 511 (1970.)
Matsumoto, M. T., Pani, K. C., Hardaway, R. M., Hannings, P. B., Teschan, P. E., és *Leonard, F.:* Arch. Surg. **94,** 388 (1967.)
Nathan, H. S., Nachlas, M., N. Solomon, R. D., Halpern, B. D., és *Seligman, A. M.:* Ann. Surg. **152,** 648 (1960.)
Nemes, A., és *Sótonyi, P.:* Orv. Hetilap **108,** 2270 (1967.)
Nemes, A.: Kandidátusi értekezés tézisei. Bp. 1970.
Ota, K., Mori, S., Koike, T., és *Inou, T.:* J. Surg. Res. **5,** 453 (1965.)
Ránky, L., Thurzó, R., és *Vadász, G.:* Szegedi Angiológiai Napok, (1968.)
Szentgáli, F., Csusz, L., Máté, F., Somogyvári, K., és *Okos, G.:* Orv. Hetilap **110,** 3001 (1969)
Vasco, J., S. és *Brockman, S. K.:* Ann. Surg. **162,** 123 (1965)

Semmelweis Orvostudományi Egyetem IV. sz. Szív- és Érsebészeti Klinika, Budapest

ÚJABB ADATOK AZ AGYI VÉRKERINGÉS HUMAN SZABÁLYOZÁSÁRÓL PATHOLOGIÁS ÁLLAPOTOKBAN

SOLTI FERENC

az orvostudományok doktora

Közlésre érkezett: 1975. IV. 7.

Az agyi vérkeringés regulatiojának vizsgálata a központi idegrendszer megbetegedésében régóta felkeltette nemcsak a neurológusok, hanem a fiziológusok, sőt a kardiológusok érdeklődését is. A pathológiás agyi keringés vizsgálata az utóbbi évtizedben külön ösztönzést nyert az érsebészeti és az angiológiai vizsgálatok technikai fejlődésével. Az aorta ív angiographiás vizsgálata lehetővé tette a vasculáris agyi betegségek pontosabb megismerését és az egyes kórformák határozott elkülönítését. A helyreállító feji-nyaki-érsebészeti műtétek révén lehetővé vált az obliteratív cerebrovascularis betegségek egy részének gyógyítása és ezáltal az agyi vérkeringés tanulmányozása nemcsak pathológiás állapotban, hanem ennek korrekciója után is.

Jelen munkámban az agykeringés regulatioját elsősorban vascularis — cerebrovascularis — megbetegedésekben kívántam tanulmányozni. Ezen kórképek két főcsoportra oszthatók: 1. Az agyi vérellátás területéhez vezető feji-nyaki-erek stenosisa, obliteratioja. 2. Az agyi véráramlásnak más érterület felé történő deriválásán alapuló subclavian steal syndroma.

Vizsgálataink kisebb része a dementiával — corticalis atrophiával — az agyi működés pathológiás megváltozásával járó kórképeket kísérő agyi vérkeringés változások tanulmányozására irányult.

Külön célunk volt annak a vizsgálata, hogy pathológiás agyi keringés bizonyos eseteiben milyen az agyi vérkeringés adaptatioja, milyen az agykeringés tartaléka.

Beteganyag, vizsgáló módszerek

Cerebralis betegségekben közel 180 betegen végeztünk agyi vérkeringés és anyagcsere vizsgálatot (rendszerint systemás vérkeringés vizsgálattal kiegészítve). Keringésvizsgálataink előtt minden esetben részletes neurológiai, psychiatriai vizsgálat, EEG felvétel történt. Érelzáródással járó betegségekben aorta ív angiographiát — esetleg carotis angiographiával — végeztünk a keringésvizsgálat előtt. Szükség szerint ophthalmodynametriás vizsgálat is történt a diagnosis tisztázásához. Az agyi véráramlás mérésére általában venás izotóp dilutios módszert alkalmaztunk, speciális kérdés tisztázása érde-

kében a totalis agyi véráramlás meghatározásával együtt a 100 g. agyi szövet nutritív véráramlásának mérésére szolgáló N_2O-s módszerrel is végeztünk agyi véráramlás méréseket. Az agyi áramlás mérési módszereink sajátosságait, hibahatárát és a normális agyi véráramlás értékeit előző munkánkban (1) részletesen ismertettük. A systemás vérkeringés paraméterei közül az arteriás vérnyomást minden esetben, a perctérfogatot pedig rendszerint meghatároztuk. A pathológiás állapotokban nyert áramlásértékeket hasonló korú agyi megbetegedésben nem szenvedő egyének megfelelő áramlási értékeivel hasonlítottuk össze. (Student-féle két mintás t próba.)

Betegeinket a központi idegrendszeri betegség jellemző tünetei, illetve a betegség aetiológiája alapján négy főcsoportba sorolhatjuk:

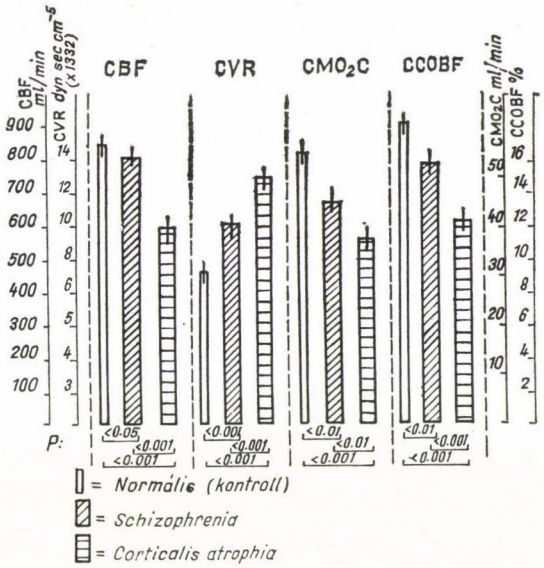
1. Dementiával, kóros agyi tevékenység domináló tüneteivel járó agyi megbetegedések. Ebbe a csoportba 16 corticalis atrophiában és 13 schizophreniában szenvedő beteg tartozott.
2. A nyaki-feji-erek obliteratív megbetegedésén alapuló vascularis agyi betegségek. Közülük 11 betegnek arteria vertebralis stenosisa, illetve elzáródása, 10 betegnek arteria carotis interna stenosisa, obliteratioja volt. 11 esetben többszörös feji — extracranialis — érelzáródás állott fenn (carotis interna és vertebralis). Némileg külö alcsoportba sorolható 7 aorta ív syndromában, más néven Takayasu kórban szenvedő betegünk (valamennyi fő nyaki ér progressiv occlusioja).
   Vizsgálataink kiegészítéseként diffuse agyi érkárosodásban szenvedő — diffuse cerebrovascularis agyi ischeamia — betegen is végeztünk keringésvizsgálatot: 30 betegen a N_2O-s módszerrel, 20 betegen venás izotóp dilutios eljárással.
3. Az agyi véráramlás más érterület felé irányuló deriválásán — retrograd feji véráramláson — alapuló agyi tünetek. Ebben a csoportban 15 típusos subclavian steal syndromában és 7 atípusos (thyreocervicalis, costicervicalis steal) subclavian steal syndromában szenvedő betegen végeztünk agyi vérkeringés vizsgálatot.
4. Végül külön csoportba sorolhatók azon eseteink, amelyekben a pathológiás agyi tünetek (szédülés, eszméletvesztés, centrális látászavar) hirtelen és múló jelentkezéséért agyi arteriás vérellátási zavar és a szívműködés hirtelen lelassúbbodása, kimaradása (carotis sinus syncope) egyaránt felelős volt. Ebbe a csoportba 15 beteg tartozott.

Eredmények

A schizophreniában és dementiában szenvedő betegeink agyi keringésének fontosabb adatait az 1. számú ábrán oszlopdiagramok segítségével szemléltetjük. Az ábrán az agyi véráramlás, agyi vascularis resistentia, agyi O_2 felvétel és az agyi áramlás perctérfogat százalékának normális, valamint

schizophreniás betegeken és corticalis atrophiában szenvedő betegeken nyert értékeit tüntettük fel.

Amint az 1. sz. ábrán látható, az agyi vérkeringés megromlása corticalis atrophiában jóval kifejezettebb, mint schizophreniában. Az agyi véráramlás és agyi vérkeringés perctérfogat részesedésének csökkenésén kívül jellemző az agyi oxygen felvétel igen kifejezett megkisebbedése mind a két kórképben, de különösen corticalis atrophiában.



1. ábra.

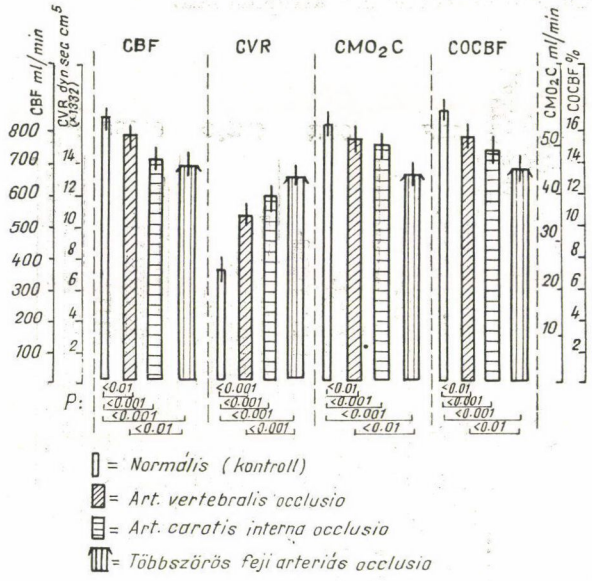
Mivel corticalis atrophiában — mint ismeretes — az agy súlya is jelentősen csökken, ezért feltételezhető lett volna az, hogy az agyi véráramlás nagyfokú csökkenése legalábbis nagyrészben az agy tömegének csökkenésére vezethető vissza. Ezért agyi vérkeringés vizsgálatainkat elvégeztük N_2O-s módszerrel is. Azt találtuk, hogy corticalis atrophiában a 100 g agyszövetre vonatkoztatott agyi véráramlás és O_2 felvétel éppen úgy csökken, mint az össz agyi véráramlás, illetve O_2 felvétel.

A feji erek obliteratív elzáródását — stenosisát — követő agyi vérkeringés változásokat a 2. sz. ábrán szemléltetjük. Az arteria vertebralis, carotis elzáródásban és a többszörös feji elzáródásban észlelt agyi véráramlási értékeket egymással és a megfelelő normális értékekkel hasonlítottuk össze.

Amint látható, az agyi véráramlás és perctérfogat részesedés arteria vertebralis stenosisban kisebb mértékben, arteria carotis stenosisban kifejezettebben és többszörös feji érstenosisban nagyfokban csökken. Az agyi O_2

felvétel hasonló módon többszörös agyi érstenosisben csökken a legnagyobb mértékben.

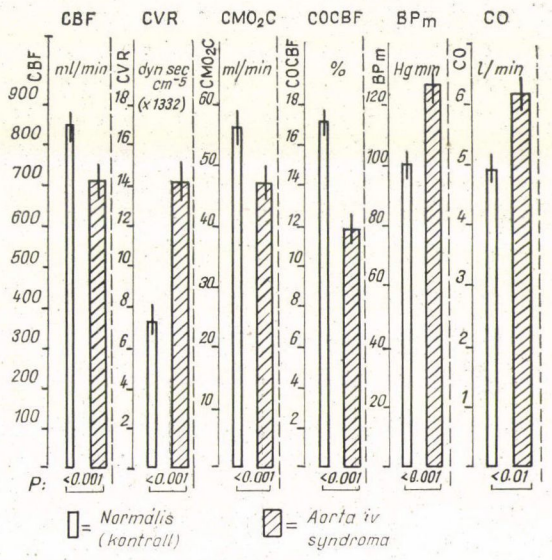
Vizsgált betegeink egy részénél helyreállító érműtétet végeztünk. Eddigi méréseink szerint helyreállító érműtét után feji arteriás obliteratív érbetegségben az agyi véráramlás jelentősen megnő, fokozódik.



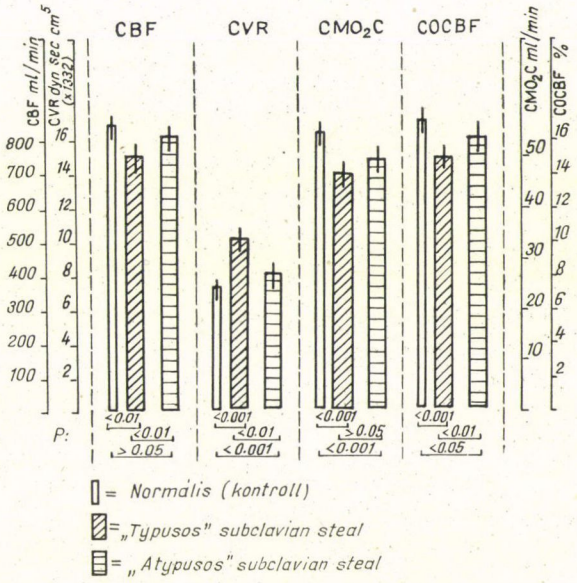
2. ábra.

Speciális az agyi vérkeringés regulatiojának megváltozása aortaív syndromában. Ebben a kórképben ugyanis vizsgálataink szerint az agyi vérkeringés megváltozásán kívül a systemás keringés regulatioja is módosul. Az agyi vérkeringés és systemás keringés változását a 3. sz. ábrán tüntettük fel.

Amint látható, aorta ív syndromában az arteriás vérnyomás és a perctérfogat significansan megnő, az agyi véráramlás, az agyi véráramlás perctérfogat részesedése alacsony. Csökken az agy O_2 felvétele is, az agyi vascularis ellenállás igen erősen fokozódik. Az arteria subclavia kezdeti szakaszának elzáródását a feji-agyi-vér deriválása az ún. subclavian steal syndroma követi. A deriválás történhet az arteria vertebralis retrograd véráramlása révén — típusos subclavian steal — de történhet az illető végtag vérellátása, a truncus thyreo-cervicalis, vagy costocervicalis rendszere felől is. Ilyenkor kisebb fokban az agyi érterületről (carotis, illetve vertebralis) és nagyobb mértékben a carotis externa területéről történik a deriválás: subclavian steal atípusos formája. Mind a típusos, mind az atípusos subclavian steal syndromában végzett agyi keringés vizsgálataink eredményeit a 4. sz. ábrán tüntettük fel.



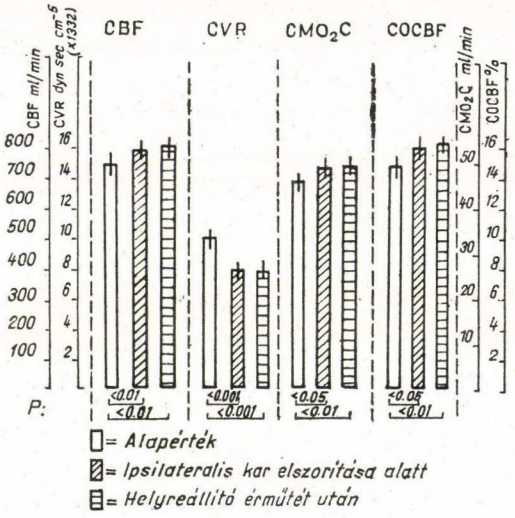
3. ábra.



4. ábra.

A subclavian steal syndroma „típusos" — arteria vertebralison keresztül deriváló — formáiban az agyi véráramlás kisebb a normálisnál. A nem „típusos" subclavian steal syndromában az agyi véráramlás nem tér el szignifikansan a normálistól, az agyi O_2 felvétel és az agyi perctérfogat részesedés azonban alacsonyabb a normálisnál.

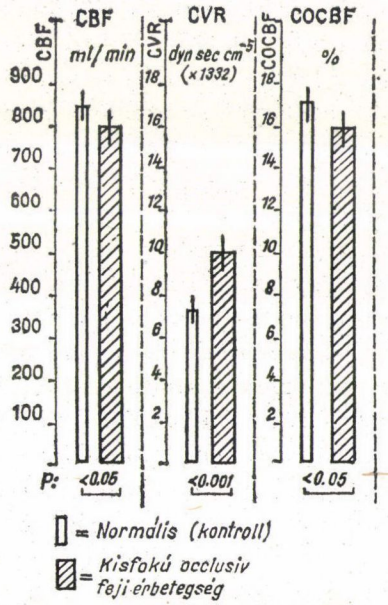
12 „típusos" subclavian steal syndromában szenvedő betegen ismételt agyi vérkeringés vizsgálatot végeztünk. Előbb megmértük az agyi véráramlást basalis körülmények között, majd a kar felé irányuló centrifugális agyi véráramlás meggátolására az illető oldalon a karra arteriás tourniquet alkalmaztunk a második mérés alatt (a felkart vérnyomásmérő manzsettával a systolés vérnyomás fölötti értéken elszorítottuk). 8 betegen egy harmadik agyi véráramlás vizsgálatot is végeztünk helyreállító — feji — érműtét után. Eredményeinket az 5. sz. ábrán szemléltetjük.



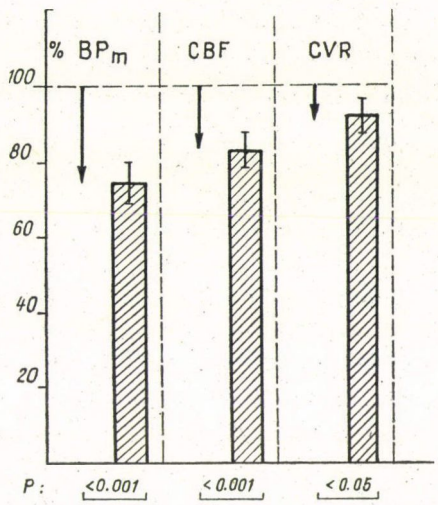
5. ábra.

Az ábrán jól látható, hogy az agyi véráramlás és O_2 felvétel significansan megnő, míg az agyi erek ellenállása kifejezetten csökken mind az arteriás tourniquet, mind a helyreállító érműtét hatására.

Érsebészeti betegeink megfigyelése és vizsgálata során 35 olyan beteget találtunk, akiknek transitorikus agyi ischaemiás tünetei (szédülések, látászavar, egyensúlyzavar, ájulások) főleg fejfordításra, a nyak hátrahajlítására jelentkeztek. Ezen betegeknek izolált arteria vertebralis, vagy carotis interna stenosisa, illetve subclavian steal syndromája volt és ezenkívül carotis sinus hyperaesthesia fennállását is ki tudtuk náluk mutatni. Feltételeztük, hogy a tranzitorikus agyi ischaemia csak részben — kisebbb részben — alapul a feji-nyaki-erek elváltozásán és kiváltásáért nagyrészt a carotis sinus pathologiás reflex-választ követő asystolia, bradycardia felelős. Feltevésünk bizonyítására 15 betegen ismételt agyi vérkeringés vizsgálatot végeztünk. Az első mérés basalis körülmények között, a második mérés carotis sinus táj ingerlése alatt (sinuauricularis block, intermittáló av block jelentkezése



6. ábra.



7. ábra.

során) történt. A 6. sz. ábrán a carotis ideg ingerlése előtt mért agyi keringés-értékeket tüntettük fel a normális megfelelő értékekkel összehasonlítva.

Az ábrán látható, hogy betegeink agyi véráramlása és az agyi keringés perctérfogat fractioja kissé alacsonyabb a normálisnál.

A carotis sinus ideg ingerlése alatt létrejövő változásokat a kiindulási alapértékek százalékában tüntettük fel a 7. sz. ábrán.

Carotis sinus táj — ideg — ingerlésére a vérnyomás, mint várható, csökken és megkisebbedik az agyon átáramló vér mennyisége is.

Megbeszélés

Az agyi vérkeringés normális szabályozásáról elég sok adattal rendelkezünk és kétségtelen az, hogy az agyi keringés a szervezet egy sajátos, jellegzetes érterülete. Ismeretes azonban az is, hogy pathológiás állapotokban az egyes szervek, érterületek keringésszabályozása módosul, megváltozik. Ezért a cerebralis keringés normális sajátosságai, tulajdonságai kóros állapotra minden további nélkül nem vihetők át. Az agyi vérkeringést pathologiás viszonyok között keveset tanulmányozták. Kétségtelen azonban az, hogy a központi idegrendszer megbetegedéseiben, az agyi vérellátás zavaraiban a normálistól eltérő lehet az agyi keringésregulatio. Így ha az agyi — feji — erek megbetegedése folytán az agyi vascularis resistentia megnő, úgy a symphaticus impulsusok kiiktatására — a normálistól eltérően — jelentősen csökken az agyi erek resistenciája (Solti, 1974). A vérnyomás hirtelen és jelentősebb megváltozása agyi vascularis megbetegedésekben az agyi véráramlás jelentős csökkenésére és focalis — átmeneti — agyi ischaemiás tünetek kialakulására vezet (Denny—Brown 1960, Gilroy és Meyer 1963, Fazekas és Alman 1964, Carey és mt 1969.). Az agy localis kerignésregulatioja is gyakran módosul pathológiás állapotokban. Így tumoros, ischaemiás agyi területen az ép területekhez képest ellentétes keringésváltozás észlelhető acidosis, pCO_2 változás, vérnyomásváltozás hatására (Lassen, 1966, Brawley és mt 1967, Brock és mt 1969, Pálvölgyi, 1969).

Jelen vizsgálatainkkal először arra kerestünk választ, hogy az agyi functio károsodása, megváltozása, valamint az agyi tevékenység jelentős csökkenése hogyan befolyásolja, módosítja az agyi vérkeringést és O_2 fogyasztást. Az idevonatkozó keringésvizsgálatok kis számúak. Schizophreniában csak néhány agyi áramlásmérést és agyi O_2 felvétel meghatározást végeztek (Dameschek és mt 1934, Kety és mt 1948, Ingvar, 1974). A szerzők egy része (Kety és Dameschek munkacsoportja) az agyi véráramlás csökkenését észlelték, míg Ingvar szerint schizophreniában, súlyos psychosisban csak az agyi véráramlás localis eloszlásában van eltérés. Valamivel több irodalmi adat áll rendelkezésre a corticalis atrophiában, dementiában végzett agyi áramlásmérésekről. Sajnos ezek a vizsgálatok is igen kevés betegen és statisztikai analysis nélkül történtek. Feruglio és mt (1955), Shimojyo és mt (1967), továbbá Grietz és mt (1969) az agyi véráramlás csökkenését észlelték. Hasonlóképpen alacsony agyi véráramlást talált Kennedy (1967) kilenc corticalis atrophiában szenvedő gyermeken.

Vizsgálataink eredményei azt mutatják, hogy az agyi functio pathologiás megváltozására, illetve az agyi tevékenység megkisebbedésére mind az agyon átáramló vér mennyisége, mind az agyi O_2 fogyasztás jelentősen csökken. Az agyi O_2 felvétel csökkenése schizophreniában és corticalis atrophiában relatíve nagyobb, mint az agyi véráramlás csökkenése, ezért az agyi arteriovenosus oxygen differentia alacsony. Régebbi vizsgálatok adatai is arra utalnak, hogy dementálódással, vagy jelentős agyi functiozavarral járó kórképekben az agy oxygenfelvétele és az agyi oxygen utilisatio egyaránt csökken (Himwich és Fazekas 1943, Freyhan és mt, 1951).

Mivel corticalis atrophiában a betegség előrehaladott stádiumában az agy súlya is jelentősen megkisebbedik, feltételezhető lenne az, hogy az agyi véráramlás csökkenésének oka egyszerűen az agy tömegének megkisebbedése. N_2O-s módszerrel történt kiegészítő vizsgálataink azt bizonyították, hogy 100 g agyi szövetre számított agyi véráramlás és O_2 felvétel is nagymértékben csökken corticalis atrophiában. Az agyi tevékenység, illetve működés csökkenése tehát az agyi véráramlás és O_2 fogyasztás megkisebbedésére vezet. Úgy látszik, hogy ezen változás részben reversibilis, méréseink szerint például schizophréniában a remissio idején megnő az agyi véráramlás és az O_2 felvétel.

A kóros cerebralis tünetek jelentkezése igen gyakran az agyi erek megbetegedésére — cerebrovascularis betegségek — vezethetők vissza. Figyelemre méltó azonban az, hogy az agyi keringés megromlásának rendszerint nem intracranialis, hanem gyakrabban extracranialis oka van: az arteria carotis interna, arteria vertebralis nyaki szakaszának stenosisa, elzáródása. A selectív aorta ív angiographiás módszer és az agyi áramlásmérés együttes alkalmazása révén lehetővé vált az arteria vertebralis, az arteria carotis interna stenosis, illetve a többszöri feji ér stenosis okozta agyi keringés regulatios változások elkülönítése és tanulmányozása.

Vizsgálataink szerint arteria vertebralis occlusio, stenosis eseteiben az agyi véráramlás csak kismértékben, carotis interna occlusioban már kifejezetten csökken. Többszörös feji érelzáródás eseteiben pedig már nagyfokú — basalis körülmények között is — az agyon átfolyó vér megkisebbedése. Méréseink adatai jól beleilleszthetők az agyi keringés normális fiziológiájának idevonatkozó vizsgálati eredményeibe. Az arteria vertebralisok véráramlása emberen az agyi áramlásnak csak kis részét, 10—11%-át teszi ki; elektromagnetikus áramlásmérővel végzett vizsgálatok szerint (Hardesty és mt 1963, Roberts és mt 1964). Az arteria carotis interna már az agyon átfolyó vérmennyiség tekintélyes részét szállítja; az egyik arteria carotis interna áramlása 250—350 ml/min (Hardesty és mt 1961, Tindall és mt 1962, Kristiansen és Krog 1962, Dillon és mt 1966, Cradock és Greenfield 1967, Wilcox és mt 1970). Az arteria vertebralis nagyfokú szűkülete, elzáródása esetén elméletileg tehát 20—50 ml/min, carotis interna stenosis esetén 250—350 ml/min

agyi véráramláscsökkenéssel lehetne számolni. Az agyi vérkeringés alakulásában ilyen esetekben azonban még két tényező módosító szerepével kell számolni.

1. Egy feji ér elzáródására — egyébként alapjában ép agyi érpálya esetén — a többi fő feji erek (ellenoldali carotis, vertebralis) áramlása kompenzatorikusan megnő (Ask—Upmark 1935, Graschchenkov és mt 1960, Tindall és mt 1963, Solti, 1966, Youmans és mt 1967).

2. Az arteria carotis lumenének művi szűkítésekor a carotis véráramlása csak igen jelentős (80%-os) művi stenosis után kezd csökkenni (Brice és mt 1964, Derrick és mt 1965).

Arteria vertebralis izolált elzáródásában végzett agyi vérkeringésvizsgálatról irodalmi adattal nem rendelkezünk. Carotis interna stenosisban azonban többen végeztek agyi véráramlásmérést (Adams és mt 1963, Jennett és mt 1966, Jennet és Harper 1967, O'Brien és mt 1967, Bregentz és mt 1969, Boysen és mt 1972, Lou és Wowern 1969, Waltz és mt 1972). Valamennyien alacsonyabb agyi véráramlást találtak arteria carotis interna szűkületben. Vizsgálataink szerint az agyi véráramlás mérsékelt fokú megkisebbedésén felül még a magas agyi vascularis resistentia és az agyi vérkeringés perctérfogat részesedésének megkisebbedése is jellemzi az extracranialis érszűkület okozta agyi keringésregulatiot. Úgy látszik, hogy basalis körülmények között az agyi szövetek vér- és oxygenellátottsága még kielégítő. A vérnyomás hirtelen csökkenése, a vérkeringés meglassúbbodása, a szívfrequentia megkisebbedése azonban már elegendő ahhoz, hogy az agyi vérkeringés zavara, localis agyi ischaemia lépjen fel. Érthető ezért, hogy mind a vertebralis, mind a carotis interna szűkületében rendszerint nincsenek állandó cerebralis tünetek, hanem hosszú ideig csak múló, átmeneti agyi ischaemiás panaszok állanak fenn.

A feji — nyaki — főverőerek többszörös elzáródása eseteiben méréseink szerint az agyi véráramlás már nagymértékben megkisebbedik; jellemző még a magas agyi vascularis resistentia. Vizsgálataink adataihoz hasonlóan alacsony agyi véráramlást találtak többszörös feji érstenosisban egy-egy eset során Roberts és mt (1964), valamint Henry (1966). Eklöf és Schwartz (1969) csimpánzokon kétoldali arteria carotis szűkítésre jelentős agyi véráramlás-csökkenést észleltek, míg egyoldali szűkítésre nem csökkent a CBF. A feji verőerek szűkülete, elzáródása során kialakult kóros agyi vérkeringésváltozás úgy látszik részben reversibilis. Helyreállító érműtét után eddigi méréseink szerint az agyi véráramlás jelentősen megnő és az agyi keringésregulatio a normálishoz lesz hasonló. Ugyancsak az agyi véráramlás növekedését észlelték többen arteria carotis interna stenosis korrekciós érműtéte után. (Adams és mt 1963, O'Brien és mt 1967, Bregentz és mt 1969, Lou és mt 1969, Engel és mt 1972, Waltz és mt 1972).

Az aorta ív syndroma (más néven Takayasu syndroma, reversed coarcta-

tion, pulseless disease) az aorta ívből eredő nagy erek (carotisok, vertebralisok, subclavia) progrediáló stenosisán, elzáródásán alapul. A betegség előrehaladott szakaszában az agyi érterülethez haladó valamennyi fő arteria elzáródott. Keringésvizsgálataink szerint az aorta ív syndroma agyi keringését az agyon átáramló vér mennyiségének — érthetően jelentős — megkisebbedésén felül az igen magas agyi vascularis resistentia és az igen alacsony agyi perctérfogat fractio jellemzi. Az agyi O_2 felvétel relatíve magas, az agyi O_2 utilisatio megnő. A systemás vérkeringést illetően két jellegzetes változást tudtunk kimutatni: 1. Az arteriás vérnyomás igen nagyfokban fokozódik (a vérnyomást természetesen az alsó végtagon, illetve az arteria femoralisban lehet mérni). 2. A szív perctérfogata is nagyobb a normálisnál.

Aorta ív syndromában az agy felé irányuló véráramlás kezdeti — nyaki — szakasza csaknem teljesen elzáródott, szinte alig érthető, hogy miért nem jelentkezik súlyos agyi functios zavar, kiesés a kórképben. Véleményünk szerint ennek fő oka a vérkeringés változása a betegség kialakulása során: a vérnyomás és a szív munkájának — perctérfogat — nagyfokú növekedése. Az aortában levő magas nyomás kedvez az agy felé irányuló collateralis keringés kialakulásának és a perfusios nyomás növelésével elősegíti az agyi vérkeringés növekedését. Úgy látszik, az agyi szövetek O_2 utilisatioja is fokozódik, ami elősegíti az agyi O_2 felvétel javulását.

A subclavian steal syndroma talán az egyik „legfiatalabb" agyi tünetegyüttes, a betegség első leírása óta alig 14 év telt el (Contorni 1960). Rövidesen kiderült, hogy egyáltalán nem ritka kórkép: az átmeneti agyi ischaemiás tünetek, de különösen az átmeneti vertebralis insuffitientia egyik gyakori oka a subclavian steal syndroma. Mivel az arteria vertebralis véráramlása relatíve kicsi, arra lehetne gondolni, hogy subclavian steal syndromában nem jön létre jelentős agyi véráramláscsökkenés. A valóságban a helyzet nem ilyen egyszerű. A véráramlás nagyságát egy érpályán keresztül döntő módon a nyomáslejtő szabja meg. Az elzárt arteria subclavia szakasza mögött a nyomás alacsony, így tekintélyes nyomás gradiens jön létre a circulus Willisi és a kar érrendszere között. Művi subclavian steal létrehozásával végzett állatkísérletek adatai is azt bizonyítják, hogy subclavian stealben (annak típusos formájában) jóval nagyobb az arteria vertebralison a back flow (retrográd, fordított áramlás), mint a normális anterográd folyás (Reivich és mt 1961, Conrad és mt 1964, Sammartino és mt 1964, Handa és mt 1965, Janeway és mt 1965, Powers és mt 1967, Anazawa és mt 1969, Lord és Ehrenfeld 1969, Kato és mt 1969, Solti és mt 1969, Eklöf és Schwartz 1970). Figyelembe kell venni azonban az agyi véráramlás értékelésében azt is, hogy a sbuclavian kezdeti szakaszának elzárására a feji vérkeringés is módosul, így megnő kissé az arteria carotisok és az ellenoldali vertebralisok véráramlása (Reivich és mt 1961, Handa és mt 1965, Kato és mt 1969). A felső végtagi véráramlás mértéke normálisan 100—150 ml/min., munkavégzésre (főleg karral végzett

munkára) ez jelentősen fokozódik. Subclavian steal syndromában az arteria subclavia elzáródása, nagyfokú beszűkülése ellenére az illető végtagon ischaemiás tünetek rendszerint nincsenek és jellegzetes, hogy erőltetett munkavégzés során gyakran fellépnek az átmeneti agyi ischaemia tünetei. Végtagi véráramlásvizsgálatok adatai is azt igazolják, hogy subclavian steal syndromában az illető végtag véráramlása közel normális nagyságú (Reivich és mt 1961, Conrad és mt 1965, Ekström és Retamel 1967, Heidrich és mt 1968, Kusztos és mt 1968, Solti és mt 1969).

Az agyi vérkeringés regulatióját illetően subclavian steal syndromában kevés irodalmi adattal rendelkezünk. Az agyi véráramlást az idevonatkozó mérések kisebb-nagyobb mértékben csökkentnek találták (Handa és mt 1966, Miller és mt 1966, Powers és mt 1967, Solti és mt 1968, 1970).

Jelen vizsgálataink eredményei egyrészt a fenti adatokat megerősítik: subclavian steal syndromában általában csökken az agyi véráramlás, másrészt azt bizonyítják, hogy subclavian steal különböző formáiban az agyi vérkeringés regulatioja eltér egymástól. Az arteria vertebralison deriváló „típusos" subclavian steal syndromában az agyi véráramlás átlagosan kisebb, mint az arteria vertebralis elzáródásában, igazolva az állatkísérletek azon adatait, hogy subclavian stealben az arteria vertebralison keresztüli retrográd áramlás nagyobb, mint a normális anterográd véráramlás. A costo- és thyreocervicalison történő feji deriválás eseteiben az agyi véráramlás nem csökken significansan ugyan, de fokozódik az agyi vascularis resistentia és csökken kissé az agyi O_2 felvétel.

Jellegzetes sajátossága az agyi vérkeringés regulatiojának subclavian stealben az is, hogy az illető felső végtag elszorításával gátolva az agyi véráramlás deriválását — „a lopást az agyból" — az agyi vérkeringés jelentősen javul és az agyi vérkeringés szabályozása közel normálissá válik. Helyreállító agyi érműtét szintén meggátolja az agyi területről történő vérelszállítást; méréseink szerint ilyen műtétek után az agyi vérkeringés nagyfokban javul és az agyi vérkeringés regulatioja hasonló lesz a normálishoz. Ezen adataink azt is bizonyítani látszanak, hogy subclavian stealben az agyi ischaemia átmeneti és rendszerint nem alakul ki, legalábbis csak későn, maradandó agyi károsodás.

A carotis sinus hyperaesthesia — a carotis sinus ideg ingerlését követő nagyfokú bradycardia, esetleg rövid asystolia — nem ritka betegség. Feltűnő azonban az, hogy a carotis reflex túlérzékenysége gyakran, főleg fiatalabb egyéneken semmi panaszt nem okoz (North és mt 1962, Berger és mt 1967, Heidrich és Bayer 1969). Figyelemre méltó másrészt az, hogy az arteria carotis, az arteria vertebralis szűkülete, vagy a subclavian steal syndroma sokszor hosszú ideig nem jár semmiféle cerebralis tünettel. Kézenfekvő volt tehát arra gondolni, hogy az extracranialis — feji — erek megbetegedéseiben az esetek egy részében a carotis sinus syncope jelentkezése vezet az átmeneti

agyi ischaemiás tünetek fellépéséhez. Vizsgálataink adatai fenti feltevésünket igazolták. 15 arteria vertebralis, arteria carotis interna stenosis, vagy subclavian steal syndromában carotis sinus syncope is kimutatható volt. Átmeneti agyi ischaemiás tüneteket a carotis sinus ideg táj ingerlésével provokálni lehetett. A basalis körülmények között mért agyi véráramlás csak kisfokban volt a normálisnál alacsonyabb, de a carotis sinus ideg táj mechanikus ingerlésére az agyi véráramlás jelentősen megkisebbedett. Betegeink közül két esetben pacemaker beültetésre került sor, 12 esetben atropin therapia is eredményes volt; mind a 14 beteg panaszmentessé vált. Helyreállító érműtét végzésére egy esetben volt csak szükség. A carotis sinus hyperaesthesiának egy külön típusát is meg szokás különböztetni: ún. cerebralis forma, amikor a carotis sinus ingerlésre az agyi tünetek dominálnak, míg a tensiocsökkenés és bradycardia relatíve kisfokú. A kérdést vizsgálók nagy része azonban joggal kétségbe vonja azt, hogy a carotis sinus ideg ingerlésének az agyi tevékenységre, vagy az agyi vascularis resistentiára különösebb, fajlagos hatása lenne (Engel 1959, Solti és Iskum 1960, Tuckman és mt 1965). Valószínűbbnek tartjuk vizsgálataink és megfigyeléseink alapján azt, hogy carotis sinus hyperaesthesiában az agyi tünetek főleg akkor jelentkeznek, ha az agyi vérkeringés a feji erek megbetegedése miatt már bizonyos mértékben laedált. Az agyi véráramlás és O_2 ellátás a feji erek izolált szűkületeiben, subclavian steal syndromában nyugalomban még kielégítő, de ha a vérkeringés hirtelen lelassul, a vérnyomás csökken (pl. carotis sinus syncope), úgy az agyi vérkeringés az agyi áramlás csökkenése folytán elégtelenné válik és transitorikus agyi ischaemiás tünetek jelentkeznek.

Ha az általunk tanulmányozott kórképek agyi vérkeringésregulatiojának sajátosságait áttekintjük, úgy megállapítható, hogy az agyi vérkeringés pathologiás regulatiojában közös vonásokon kívül jellegzetes regulatios típusok kimutathatók.

Közös sajátossága a pathologiás agyi vérkeringésregulationak az agyi véráramlás és oxygenfelvétel csökkenése és az agyi vascularis ellenállás növekedése. Az agyi véráramlás perctérfogat részesedése is megkisebbedik.

Jellegzetes pathologiás agyi keringés regulatios formák:

1. Az agyi oxygenfelvétel nagyméretű abszolút és relatív megkisebbedése jellemző a dementiával, agyi functio csökkenésével, károsodásával járó kórképekben.

2. Igen nagyfokú az agyi véráramlás csökkenése és főleg igen nagymérvű az agyi vascularis resistentia növekedése többszörös agyi érstenosisban (érelzáródásban) és aorta ív syndromában.

3. A feji erek körülírt stenosisában, elzáródásában az agyi vascularis resistentia emelkedése a legkifejezettebb agyi keringésváltozás. Az agyi véráramlás arteria vertebralis stenosisában közel normális, arteria carotis interna stenosisban mérsékelten megkisebbedett. Az agyi keringés adaptatioja

azonban korán károsodik, vérnyomáscsökkenésre, keringéslassúbbodásra, keringésromlásra átmeneti agyi ischeamiás tünetek jelentkeznek.

4. Subclavian steal syndromában az agyi véráramlás csak az arteria vertebralison deriváló, típusos formában csökken. Ha a feji érterületről a costocervicalis, vagy thyreocervicalis értörzsökön keresztül áramlik a vér a subclavia elzárt érterülete felé, úgy csak agyi vascularis resistentia növekedés jön létre. Az agyi vérkeringés tartaléka, alkalmazkodási képessége subclavian stealben is csökken.

5. A tranzitorikus agyi ischaemiás tünetek az esetek egy részében a feji erek nem kiterjedt, occlusiv érbetegségén és carotis sinus syncope együttes fennállásán alapulnak. Az agyi véráramlás vertebralis, carotis interna stenosisban, subclavian stealben nyugalomban rendszerint kielégítő, de a carotis sinus syncope okozta keringéslassúbbodásra az agyi véráramlás csökken és az agyi vér és O_2 ellátás átmenetileg elégtelenné válik.

Összefoglalás

A szerző az agyi vérkeringés pathologiás regulatioját tanulmányozta human agyi véráramlásmérések segítségével. Vizsgálatai szerint cerebralis betegségekben az agyi véráramlás és agyi O_2 felvétel csökkenése, valamint az agyi vascularis resistentia növekedése a leggyakoribb jele az agyi vérkeringés megváltozásának. Ezenfelül az agyi keringés regulatio bizonyos fokig jellegzetes típusai, formái különíthetők el a következő kórképekben:

1. Agyi functio kóros megváltozása, agyi tevékenység nagyfokú csökkenése.

2. Az agyi érterülethez haladó feji — nyaki — erek obliteratív megbetegedései.

3. A feji — nyaki — főértörzsek többszörös progrediáló elzáródásain alapuló aorta ív syndroma.

4. Subclavian steal syndroma.

Figyelemre méltó az, hogy az agyi vérellátás, oxygen ellátás tartós zavarának hatására bizonyos kórképekben — aorta ív syndroma — a vérnyomás és a perctérfogat kompenzatorikus jellegű növekedése jön létre.

Az intermittáló agyi ischaemiás tünetek felléptéért — a szerző vizsgálatai szerint — az agyi vérkeringés kisebb zavara és carotis sinus hyperaesthesia együttes fennállása tehető felelőssé.

Az ábrák szövegében és a dolgozatban használt rövidítések:

BP_m	= Arteriás középnyomás
CBF	= Agyi véráramlás
CVR	= Agyi vascularis resistentia
CMO_2C	= Agyi O_2 felvétel (fogyasztás)
CO	= Perctérfogat
COCBF	= Agyi véráramlás perctérfogat fractioja (százaléka)

IRODALOM

Adams, J. E., Smith, M. C., és *Wylie, E. J.:* Surgery **53,** 449 (1963).
Anazawa, W., Conrad, M. C., Kato, M., Janeway, R. és *Toole, J. F.:* Arch. Neurol. **21,** 66 (1969).
Ask-Upmark, E.: Acta Psychol. Neurol. suppl. 6, (1935).
Berger, R., L. Sidd, J. J., és *Ramaswamy, K.:* New Engl. J. Med. **277,** 64 (1967).
Boysen, G., Ladegaard-Pedersen, H. J., és *Engell, H. C.:* In: Cerebral Blood Flow (Editors: Brock, M., Fieschi, C., Ingvar, D. H., Lassen, N. A., Scürmann, K. I.) Springer, Berlin (1969), 155—158. o.
Brawley, B. W., Strandness, D. E., és *Kelly, W. A.:* Arch. Neurol. **17,** 180 (1967).
Bregentz, S., Häggendal, E. és *Nilsson, N. J.:* In Cerebral Blood Flow Editors: Brock, M., Fieschi, C., Ingvar, D. H., Lassen, N. A., Schürmann, K. I. Springer, Berlin (1969), 161—162. o.
Brice, J. G., Dowsett, D. J., és *Lowe, R. D.:* Brit. Med. J. **2,** 1363 (1964).
O'Brien, M. D., Veall, N., Luch, R. J., és *Irvine, W. T.:* Lancet **2,** 382 (1967).
Brock, M., Hadjidimos, A., Schürman, K., Ellger, M. és *Fischer, F.:* Dtsch. med. Wschr. **94,** 1377 (1969).
Carey, J. P., Stemmer, E. A., és *List, J. W.:* Amer. Surg. **35,** 12 (1969).
Conrad, M., Toole, J., Janeway, R., és *Green, H.:* Fed. Proc. **23,** 207 (1964).
Contorni, L.: Minerva Chir. **15,** 268 (1960).
Craddock, A., és *Greenfield, J. C. jr.:* J. Neurosurg. **26,** 383 (1967).
Christian, N., és *Schwartz, H.:* Geriatrics **13,** 131 (1973).
Dameshek, W., Myerson, A., és *Loman, J.:* Amer. J. Psychiatr. **91,** 113 (1934).
Denny-Brown, D.: Arch. Neurol. **2,** 194 (1960).
Derrick, J. R., Estess, M., és *Williams, S.:* Surgery **58,** 381 (1965).
Dillon, M. I., Reeves, J. M., és *Postlethwait, R. W.:* Surgery **58,** 951 (1966).
Ekström, S., és *Retamel, E.:* Scand. J. Thorac. Cardiovasc. Surg. **1,** 161 (1967).
Eklöf, B., és *Schwartz, S. I.:* Arch. Surg. **99,** 695 (1969).
Eklöf, B., és *Schwartz, S. I.:* Surgery **68,** 431 (1970).
Engel, G. L.: Neurology **9,** 565 (1959).
Engell, H. C., Bojsen, G., Ladegaard-Pedersen, H. J., és *Henriksen, H.:* Vasc. Surg. **6,** 14 (1972).
Fazekas, J. F., és *Alman, R. W.:* Amer. J. Med. Sci. **248,** 571 (1964).
Ferguson, Th. B., Oliver, G. Ch., és *Parker, B. M.:* Chest **54,** 264 (1971).
Feruglio, F. S., Ruiv, P., és *Ruiv, L.:* Riforma Med. **13,** 1 (1955).
Freyhan, F. A., és *Woodford, R. B.:* J. Nerv. Ment. Dis. **113,** 449 (1951).
Gilroy, J., és *Meyer, J. S.:* New England J. Med. **269,** 1115 (1963).
Graschenkov, N. I., Klosovskii, B. N., Kosmarskaia, E. N., és *Siskin, L. N.:* Arch. Int. Med. **106,** 532 (1960).
Greenfield, J. C. jr., és *Tindall, G. T.:* J. Clin. Invest. **44,** 1343 (1968).
Grietz, T. V. B., Grepe, A. O. L., Kalmer, M. S. F., és *Lopez, J.:* J. Neurosurg. **31,** 644 (1969).
Haasis, R.: Dtsch. med. és Wschr.: **97,** 519 (1972).
Handa, J., Ishikawa, S., Huber, P., és *Meyer, J. S.:* Surgery **58,** 703 (1965).
Handa, J., Yoshida, K., és *Meyer, J. S.:* Surgery **59,** 1069 (1966).
Hardesty, W. H., Roberts, B , Toole, J. F., és *Royster, H. P.:* Surgery **49,** 251 (1961).
Hardesty, W. H., Whitacre, W. B., Tool, J. F., Randall, P., és *Royster, H. P.:* Surg. Gynec. Obstet. **116,** 662 (1963).
Heidrich, H., és *Bayer, O.:* Angiology **20,** 406 (1969).

Heidrich, H., Bayer, O., és *Kolmar, D.:* Z. Kreislaufforschung. **57,** 188 (1968).
Mc. Henry, L. C. jr., Neurology **16,** 1145 (1966).
Himwich, H. E., és *Fazekas, J. E.:* Arch. Neurol. Psychiatr. **150,** 546 (1943).
Ingvar, D. H.: Triangel **13,** 17 (1974).
Janeway, R., Conrad, M. C., és *Toole, J. F.:* Neurology **15,** 430 (1965).
Jennett, W. B., és *Harper, A. M.:* J. Neurol. Neurosurg. **30,** 85 (1967).
Jennett, W. B., Harper, A. M., és *Gillespie, F. C.:* Lancet **2,** 1162 (1966).
Kato, M., Toole, J. T., Anazawa, W., és *Janeway, R.:* Arch. Neurol. **20,** 172 (1969).
Kennedy, C.: Arch. Neurol. **16,** 55 (1967).
Kety, S. S., Woodford, R. B., Freyhan, F. A., Harmel, M. H., Appel, K. E., és *Schmidt, C.* F.: Amer. J. Psychiatr.: **104,** 765 (1948).
Kindermann, G.: Med. Klin. **65,** 2198 (1970).
Kristiansen, K., és *Krog, J.:* Neurology **12,** 20 (1962).
Kusztos, D., Ránky, L., és *Cserveny, M.:* Orv. Hetil. **109,** 2102 (1968).
Maur, K., Nelson, E. W., és *Holsinger, J. W. jr.:* Amer J. Cardiol. **29,** 109 (1972).
Meyer, J. S., és *Portnoy, H. D.:* Neurology **8,** 601 (1958).
Lassen, N. A.: Lancet **2,** 1113 (1966).
Lassen, N. A., Feinberg, I., és *Lane, M. H.:* J. Clin. Invest. **39,** 491 (1960).
Lord, R. S., és *Ehrenfeld, W. K.:* Surgery **66,** 521 (1969).
Lou, Chr., és *Wowern, F.:* In Cerebral Blood Flow Editors Brock, M., Fieschi, C. Ingvar, D. H., Lassen, N. A., Schürmann, K. I. Springer, Berlin (1969). 163—164. o.
Miller, H. S., Janeway, R., Cordell, R., Leinbach, L. B., és *Toole, J. F.:* Circulation **34,** (suppl. 3.) 171 (1966).
North, R. R., Fields, W. S., De Bakey, M. E., és *Crawford, E. S.:* Neurology **12,** 810 (1962).
Pálvölgyi, R.: Neurosurg. **31,** 149 (1969).
Powers, J. R. jr., Roe, G. M., és *Creel, W.:* Surgery **61,** 74 (1967).
Reivich, M., Holling, H. E., Roberts, B., és *Toole, J. F.:* New Engl. J. Med. **265,** 878 (1961).
Roberts, B., Hardesty, W. H., Holling, H. E., Reivich, M., és *Toole, J. F.:* Surgery **56,** 826 (1964).
Sammartino, W. F., és *Toole, J. F.:* Arch. Neurol. **10,** 590 (1964).
Shimojyo, S., Scheinberg, P., és *Reinmuth, O.:* J. Clin. Invest. **46,** 849 (1967).
Solti, F.: Az agyi és végtagi vérkeringés regulátiojának vizsgálata Budapest Doktori értekezés (1966). 50. o.
Solti, F.: Orvostudomány **25,** 91 (1974).
Solti, F., és *Iskum, M.:* Orv. Hetil. **101,** 1175 (1960).
Solti, F., Iskum, M., Hartai, A., Nagy, J., és *Tari, J.:* Cor et Vasa **11,** 287 (1969).
Solti, F., Iskum, M., Papp, S., és *Turbók, E.:* Circulation **42,** 1185 (1970).
Solti, F., Iskum, M., Zádory, E., Hartai, A., Nagy, J., és *Rév, J.:* Acta Med. Acad. Sci. Hung. **25,** 79 (1968).
Tindall, G. T., Odom, G. I., Dillon, M. L. jr., és *Cupp, H. B. jr.:* Surg. Forum **13,** 432 (1962).
Tindall, G. T., Odom, G. L., Dillon, M. L., Cupp, H. B. jr.: Mahaley, M. S. jr., és Creenfield, J. C. jr.: J. Neurosurg. **20,** 985 (1963).
Tuckman, J., Slater, S. R., és *Mendlowitz, M.:* Amer. Heart J. **70,** 119 (1965).
Waltz, A. G., Sundt, Th. M. jr., és *Michenfelder, J. D.:* Circulation **45,** 1091 (1972).
Wilcox, B. R., és *Coulter, N. A. jr.:* Ann. Surg. **171,** 24 (1970).
Youmans, J. R., Kindt, G. W., és *Mitchell, O. C.:* J. Neurosurg. **27,** 250 (1967).

Semmelweis Orvostudományi Egyetem Mikrobiológiai és I. sz. Kémiai—Biokémiai Intézet, Budapest

ADENOVÍRUSSAL ASSZOCIÁLT ENDONUKLEÁZ KIMUTATÁSA

MEDVECZKY PÉTER, CSUZI SÁNDOR, NÁSZ ISTVÁN az orvostudományok doktora és ANTONI FERENC az orvostudományok doktora

Közlésre érkezett: 1975. IV. 29.

Burlingham és Doerfler 1972-ben közölték, hogy a 2-es illetve 12-es típusú adenovírussal fertőzött sejtek tartalmaznak egy endonukleázt, mely az adenovírus DNS-t bontja. A mintegy 23×10^6 dalton molekulasúlyú vírus DNS-t az endonukleáz öt, megközelítően egyenlő nagyságú fragmentumra hasítja. Kimutatták, hogy az enzim nemcsak a fertőzött sejtek kivonatában, hanem intakt, ultracentrifugával tisztított adenovirionokon is megtalálható. (Burlingham és Doerfler 1972). Vizsgálataik szerint az endonukleáz a virion capsomerek közül a pentonhoz kötött. (Burlingham és mt 1971).

Az irodalom alapján feltételeztük, hogy az 1-es típusú adenovírus is tartalmaz hasonló endonukleáz aktivitást. Célunk az volt, hogy fertőzött sejtekben és tisztított virionokban az egyszerű technikával előállítható ^{32}P jelzett E. coli DNS szubsztrát alkalmazásával mutassuk ki az enzimet.

Anyagok és módszerek

Vírustörzs: 1-es típusú laboratóriumi adenovírus

Sejttenyészetek, sejtszám meghatározása:

1. HEp-2 egyrétegű sejtkultúráinkat 100 ml Parker 199 tápoldatban szaporítottuk 15% borjúsavó és a szokásos antibiotikumok jelenlétében 2 literes edényekben.

2. Az amnion sejtek primaer tenyészetét friss humán placentából állítottuk elő. A szaporító tápfolyadék 20% humán savót, Hanks oldatot és lactalbumint tartalmazott 2 literes edényekben.

3. A sejtszámot kísérleteink során Buerker kamrában határoztuk meg.

Vírus titrálás: Kémcsőben tenyésztett HEp-2 egyrétegű sejtkultúrákat felező vírushígításokkal fertőztünk. A fertőzést követő 8. napon a cytopathogén hatást értékeltük. 5 paralel hígítási sorozat eredményéből a titert Reed-Muench módszerével számítottuk ki. (Reed és Muench, 1938).

Sejtkivonatok preparálása: 100 TCID /50/ sejt vírussal fertőzött, illetve nem fertőzött kontroll HEp-2 sejttenyészeteket 48 óráig 37 C°-on inkubáltunk termosztátban. A sejteket lekapartuk az edény felszínéről (a fertőzött sejtek

leváltak), centrifugálással elválasztottuk a tápfolyadéktól. Háromszor mostuk izotoniás NaCl-ot tartalmazó 0,01M foszfát-pufferrel (pH 7,2), majd ml-enként 5×10^7 sejtet tartalmazó szuszpenziókat állítottunk be a fenti pufferrel és háromszor fagyasztás-felmelegítéssel feltártuk. SW 56-os rotorban, 100000xg-vel +1 C°-on 1 óráig centrifugáltuk Beckmann L 265 B ultracentrifugával, és az üledéket, valamint a felülúszókat szeparáltuk. Az üledéket izotoniás NaCl-foszfát-puffer oldatban (0,01M, pH 7,2) resuspendáltuk. A sejtkivonatok protein koncentrációját azonos értékre állítottuk be.

Tisztított adenovirionok preparálását Green és Piña eljárása szerint végeztük (Green és Piña, 1963) a következő módosításokkal: HEp-2 egyrétegű sejtkultúráinkat vírussal fertőztük, 48 óra múlva gyűjtöttük, majd mostuk és feltártuk. (Részleteket lásd „sejtkivonatok preparálásá"-nál) 2000xg 10 perc centrifugálás után a felülúszót 1,41 g/cm^3 CsCl párnára rétegeztük és SW 41-es rotorban 46000xg-vel 1 óra hosszáig centrifugáltuk +1 C°-on. A virion frakciót szeparáltuk és három egymás után következő equilibrium centrifugálással tovább tisztítottuk (1,34 g/cm^3 CsCl, 0,01M Tris HCl pH 8,0, 80000xg +1 C°, 11^h, SW 41 rotor). Tisztított virion preperátumainkat 48^h-ig +4 C°-on 0,01M pH 7,2-es foszfát-pufferrel szemben dializáltuk. 1 ml tiszta vírus 10^{11} TCID/50 infektív egységet tartalmazott.

^{32}P jelzett E. coli DNS izolálása Anai, (Anai és mt 1970) általunk módosított eljárása szerint történt. E. coli B törzset Bacto peptonos táptalajon (Grossman 1967) 35 μCi/ml ^{32}P jelenlétében 37 C°-on a logaritmikus fázis végéig tenyésztettünk. A sejteket centrifugáltuk és 0 C°-os desztillált vízzel, majd 0,5% NaCl-ot és 0,5% KCl-ot tartalmazó oldattal kétszer mostuk. Resuspendáltuk a baktériumokat 0,15M NaCl, 0,1M EDTA pH 8,0 oldatban (4 ml/g baktérium nedves súly) és 10 mg/g sejt lizozim hozzáadása után 37 C°-on 30 percig inkubáltuk. 300 μg/sejt pronázt mértünk az anyaghoz és 15 percig folytattuk az inkubálást. 10 ml/g sejt 1%-os Na-dodecysulfát, 0,1M Tris, 0,1M NaCl oldatot kevertünk hozzá és 60 C°-on 15 percig kezeltük. A feltárt sejteket azonos térfogatú, 0,1M Tris HCl pH 9,0, oldattal telített frissen desztillált fenollal 20 percig extraháltuk. 3500xg-vel 15 percig centrifugáltuk, a vizes fázist gyűjtöttük. A két fázis határán levő csapadékot azonos térfogat Tris-fenollal az előbb leírt módon kivontuk és a vizes fázisokat egyesítettük. Kétszeres térfogat 0 C°-os etilalkoholt rétegeztünk anyagunkra, a nukleinsav csapadékot 9 ml/g sejt 0,015M NaCl, 0,0015M Na-citrát oldatban suspendáltuk 1 ml/g sejt 1,5M NaCl 0,15M Na-citrát hozzáadása után 2 mg/g sejt RNázt (DNáz mentes, hőkezelt 80 C° 10') mértük be és 37 C°-on 30 percig inkubáltuk. 1 ml/g sejt 3M Na-acetát 0,001M EDTA elegyet kevertünk hozzá és 3/4 térfogat 0 C°-os izopropanolt rétegeztünk rá. A nukleinsav csapadékot az előbb leírt NaCl—Na—citrát elegyben suspendáltuk és az izopropanolos kicsapást megismételtük. A csapadékot ismét NaCl—Na—citrát oldatban suspendáltuk. A savoldékony ^{32}P rendszerint 0,5%, vagy kevesebb volt.

Nukleáz aktivitás kimutatása:

a) *A reakcióelegy* (0,3 ml) 10μg ^{32}P jelzett E. coli DNS-t (10^5 c.p.m.) és a vizsgált feltételezett enzimet tartalmazta 0,01M Tris HCl, 0,002 $MgCl_2$, 0,1M NaCl, pH 7,2 0 C°, pufferben.

b) *Savoldékony nukleotidok kimutatása:* a fenti reakcióelegyekhez 37 C°-on való 0, 5, 15, 30, 60 perc inkubálás után 0,2 ml 0,5 mg/ml bovin szérum albumint és 0,5 ml 5%-os perklorsavat adtunk hidegen (0 C°). 10 perc állás után 2000xg-vel centrifugáltuk +1 C°-on 10 percig. A felülúszóból 0,5 ml-t scintillációs küvettába mértünk és meghatároztuk a radioaktivitást.

c) *DNS szedimentációs profil meghatározása:* Burlingham és Doerfler szerint történt. (Burlingham és mt, 1971) A fenti reakcióelegy mintákat 37 C°-on inkubáltuk különböző ideig, majd fenollal extraháltuk. A fenolt dietiléterrel eltávolítottuk és a mintát (50 μl, 10^4—2×10^4 c.p.m.) 5—20%-os neutrális, lineáris szaharóz grádiensre rétegeztük. SW 56-os rotorban 90—120 percig (a DNS preparátum átlagos molekulasúlyától függően) +1 C°-on Beckmann L 265 B ultracentrifugában 300000xg centrifugáltuk és a gyűjtött frakciók radióaktivitását mértük.

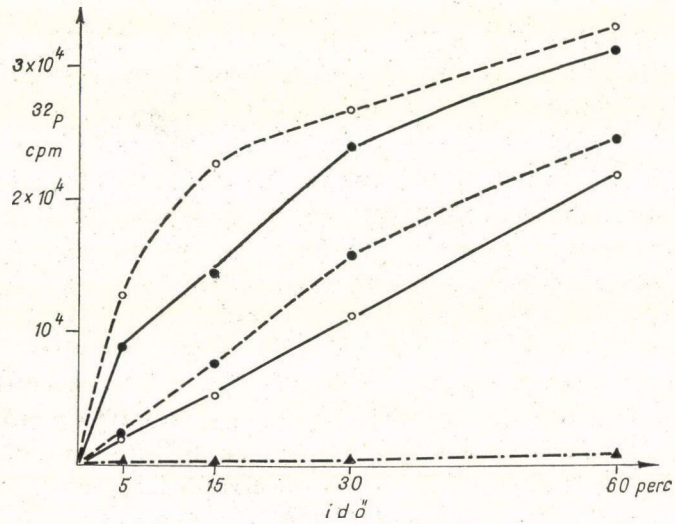
Radioaktivitás mérés: 5 ml desztillált vizet tartalmazó scintillációs küvettákba mértük a vizsgált mintákat, és Cserenkov effektus alapján Packard, Tri-carb típusú liquid scintillációs spektrométerben detektáltuk a radioaktivitást.

Protein és DNS meghatározás: A proteintartalmat Lowry szerint mértük. (Lowry és mt 1951) a DNS mennyiségét spektrofotometriásan határoztuk meg 260 nanométeren adott adszorpció alapján Spektromom 204 készüléken. (1,0 O.D.260 nm egység = 47 μg DNS)

Anti-HEp savó és IgG preparálás: nyulakat 10^7 HEp-2 sejtet tartalmazó tenyészetből készült homogenizátummal és Freund adjuvánssal immunizáltunk hetenként egy alkalommal, négy héten keresztül. A savót ioncserélő kromatográfiával DEAE Sephadex A 50 oszlopon, 0—0,5M NaCl grádiens alkalmazásával (0,05M foszfát pufferben pH 8,1) tisztítottuk és így nyertük az IgG frakciót. A preparátumot immunelektroforézissel identifikáltuk, és csak azt a frakciót használtuk fel, amelyből anti-nyúl lósavóval csak IgG-t tudtunk kimutatni. Felhasználás előtt az IgG preparátum exo- és endonukleáz aktivitást nem mutatott.

Eredmények

Először sejtkivonatokban kíséreltük meg a nukleáz kimutatását. Feltételeztük, hogy a vírusfertőzéssel asszociált endonukleáz savoldékony oligonukleotidokig lebontja a jelzett DNS-t, ugyanakkor a kontroll, nem fertőzött setjkivonatok nukleázai hatására csak kevés savoldékony anyag szabadul fel. Az 1. ábra mutatja, hogy mind a fertőzött, mind a kontroll extractum



1. ábra. HEp-2 sejtkivonatok DNáz aktivitása. A függőleges tengelyen a savoldékony ^{32}P jelzett nukleinsav fragmentumok mennyiségét, a vízszintes tengelyen a reakcióidőt ábrázoltuk. 37 C° inkubáció után minden időpontban mértük a savoldékony anyag mennyiségét.

▲–·–·–·–▲ ^{32}P DNS + puffer (0,9% NaCl, 0,001M foszfát puffer pH 7,2)

o– – – – – o ^{32}P DNS + nem fertőzött setjkivonat felülúszó

•———— • ^{32}P DNS + fertőzött sejtkivonat felülúszó

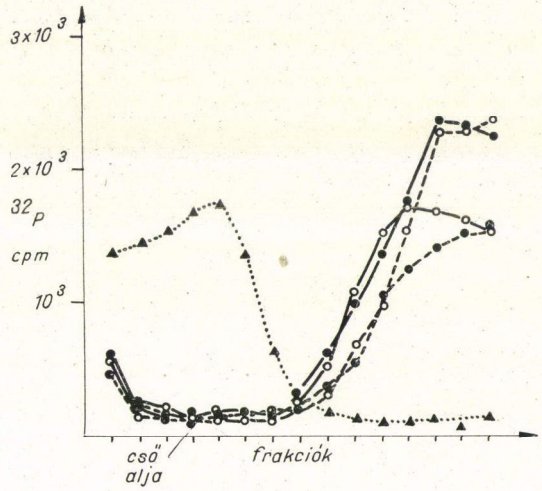
•– – – – – • ^{32}P DNS + nem fertőzött sejtkivonat üledékszuszpenzió

o———— o ^{32}P DNS + fertőzött üledék szuszpenzió

felülúszójában, valamint a 100000xg-vel nyert csapadékban jelentős DNáz aktivitás van, a kontrollban még magasabb érték. DNS preparátumunk spontán bomlása elhanyagolható volt. (0,5% alatt).

A sejtkivonatok nukleáz aktivitását ultracentrifugában a szubsztrát DNS szedimentációs sebességének a változásával is vizsgáltuk. Mint a 2. ábra mutatja, mind a fertőzött, mind a kontroll sejtkivonat felülúszója többségében alacsony molekulasúlyú fragmentumokra bontja a jelzett szubsztrátot. Ettől kissé eltérő az ultracentrifugálással nyert sejtkivonat üledékek nukleáz aktivitása. A jelzett DNS-ből alacsony molekulasúlyú végtermékek keletkeznek, de a fertőzött kivonat üledékével inkubált DNS szedimentációs profilja más, gyorsabban ülepedő, nagyobb molekulasúlyú DNS fragmentumok is kimutathatók.

Ezek a kísérletek nem igazolták meggyőzően, hogy létezik-e az 1-es típusú adenovírussal fetőzött sejtekben egy vírus-specifikus nukleáz. Tekintettel arra, hogy a szöveti nukleáz és a feltételezett vírus nukleáz aktivitást



2. ábra. HEp-2 sejtkivonatokkal kezelt ^{32}P DNS szedimentációja. A reakcióelegyeket 60 perces 37 C°-on való inkubálás után pufferrel telített fenollal extraháltuk, a fenolt dietiléterrel eltávolítottuk és a mintákat szaharóz grádiensekre (5—20% 1,0M NaCl, 0,01M Tris, 0,001M EDTA, pH7,2) rétegeztük. 300000xg, 90 perc +1C° centrifugálás után frakciókat gyűjtöttünk és azok radióaktivitását meghatároztuk.

▲.....▲ ^{32}P DNS + puffer

o----------o ^{32}P DNS + nem fertőzött sejtkivonat felülúszó

•——————• ^{32}P DNS + fertőzött sejtkivonat felülúszó

•----------• ^{32}P DNS + nem fertőzött sejtkivonat üledék

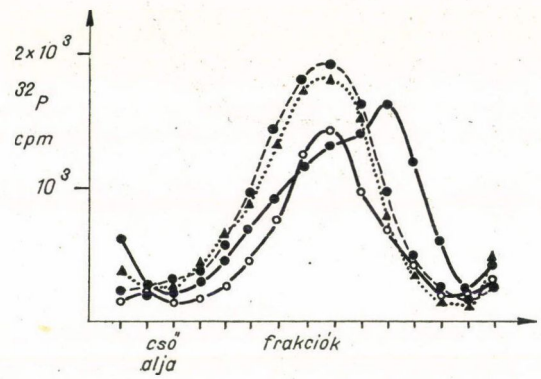
o——————o ^{32}P DNS + fertőzött sejtkivonat üledék

együtt mértük, lehetséges, hogy a szöveti enzimek aktivitása elfedi a vírusét, ezért megkíséreltük tisztított virion preparátumban kimutatni az enzimet. A kontroll, nem fertőzött szöveteinket ugyanazzal a módszerrel „tisztítottuk" mint a virionokat, mindig azt a sűrűségű frakciót gyűjtöttük az ultracentrifugálás során, melyben a virionok találhatók. Preparátumainkban ezután meghatároztuk a nukleáz-aktivitást. Sem a kontroll, sem a virion frakció hatására nem szabadult fel szignifikáns mennyiségű savoldékony anyag, a reakcióelegyben levő ^{32}P DNS 1%-át 120 perces 37 C°-on való inkubáció után sem haladta meg.

Az ultracentrifugával történt nukleinsav analízis eredményét a 3. sz. ábra mutatja. A kontroll frakcióval kezelt, ^{32}P DNS szedimentációs sebessége — összehasonlítva a kezeletlen DNS-sel — nem változik az inkubáció után. Nem változik a ^{32}P DNS ultracentrifugálás profilja akkor sem, ha 0 percig inkubáljuk virionokkal. Az ábrán látható, hogy a 60 percig virionnal kezelt DNS az ultracentrifugálás után a kisebb sűrűségű frakciókban mutatható ki.

Ez arra utal, hogy a ^{32}P DNS-ből kisebb molekulasúlyú fragmentumok keletkeztek a virionok hatására, mely a virionnal asszociált enzimmel magyarázható.

Alacsony nukleáz aktivitású szövetekben feltételezhetően már a sejtkivonatokban is kimutatható a vírus nukleáz. Friss placentából primaer amnion egyrétegű sejtkultúrákat készítettünk. A tenyészetek egyik felét 100 TCID/50/sejt vírussal fertőztük, a többit kontrollként használtuk fel. A fertőzöttből és a kontrollból 10 nap tenyésztés után sejtkivonatokat készítettünk



3. ábra. Tisztított virionok hatása a DNS szedimentációra. A reakcióelegyekből inkubáció után kivontuk a DNS-t, szaharóz grádienseken történt ultracentrifugálás után frakciókat szedtünk és radióaktivitást mértük.

▲·····▲ ^{32}P DNS + puffer 0 inkubáció

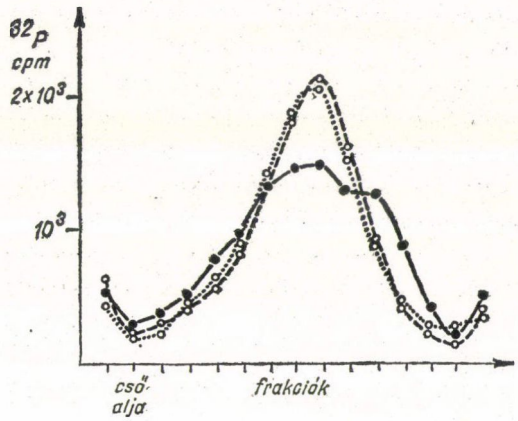
■– – – – –● ^{32}P DNS + tisztított kontroll 60' inkubáció 37 C°

●————● ^{32}P DNS + 10μg tisztított virion 0' inkubáció

●————● ^{32}P DNS + 10μg tisztított virion 60' inkubáció 37 C°

Mindkettő kevés — 1% alatti — savoldékony anyagot szabadított fel a jelzett ^{32}P DNS-ből 60 perces 37 C°-os inkubáció után. Az amnion kivonatokkal kezelt DNS szubsztrát ultracentrifugás analízise viszont — 4. ábra — azt mutatja, hogy a fertőzött kivonat hatására kisebb molsúlyú DNS frakciók is keletkeznek, míg a kontroll sejtkivonattal kezelt DNS szedimentációja a nem kezelt DNS-évél egyezik.

Ezek a kísérletek vírus asszociált nukleáz jelenlétét bizonyítják, azonban nem zárják ki azt, hogy a virion felszínére gazdasejt eredetű endonukleáz molekulák adszorbeálódhatnak, és ez lehet esetleg az aktivitásért felelős. Ennek eldöntésére nyulakat HEp-2 szövetkivonattal immunizáltunk és az immunsavóból IgG-t preparáltunk, mely nukleáz aktivitást nem mutatott. Mint az 5. sz. ábra mutatja, a virion és az anti HEp IgG-vel kezelt virion a

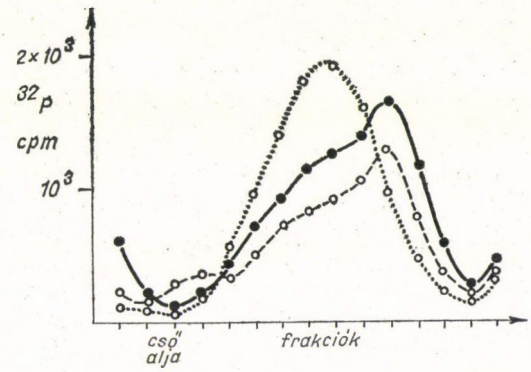


4. ábra. Amnion szövetkivonattal kezelt DNS szedimentációja. 60' 37 C° inkubáció után a reakcióelegyekből kivontuk a DNS-t és grádiensekre rétegeztük, majd ultracentrifugáltuk, a rádióaktivitást mértük.

^{32}P DNS + puffer

^{32}P DNS + nem fertőzött sejtkivonat

^{32}P DNS + fertőzött sejtkivonat



5. ábra. Anti-HEp IgG és trypsin hatása a virion endonukleázra. A virionokat anti-HEp IgG-vel illetve trypsinnel (0,2mg/ml) előkezeltük. (30 perc, 37C°). Valamennyi elegyhez ^{32}P-DNS-t, a trypsint tartalmazó csőhöz trypsin inhibitort mértünk és további 60 percig inkubáltuk 37 C°-on. A mintákat fenollal extraháltuk és a 3^{32}P DNS nagyságát szaharóz grádienseken ultracentrifugában analizáltuk.

^{32}P DNS + virion

^{32}P DNS + virion + anti-HEp IgG

^{32}P DNS + trypsinnel kezelt virion

DNS szedimentációt azonos mértékben változtatják meg. Ez arra utal, hogy az anti HEp IgG nem gátolja a virionnak a DNS-re gyakorolt hatását.

Irodalmi adatok alapján ismeretes, hogy a virion felszínét borító capsomerek közül a penton bázis trypsin érzékeny, míg a hexon és fiber nem. Petterson és Höglund, (1969). Burlingham és Doefler (1971) vizsgálatai szerint trypsinnel inaktiválható a penton endonukleáz. Feltételeztük, hogy trypsin hatására a virion endonukleáz hatása is megszűnik. Mint az 5. sz. ábrán látható a trypsinnel kezelt virionok hatására nem csökken a jelzett DNS szedimentációs sebessége, amely a virionok nukleáz aktivitásának elvesztésére utal.

Megbeszélés

Burlingham és Doerfler 2-es és 12-es adenovírussal fertőzött hörcsög embryo és KB sejtkivonatokban egy új endonukleáz aktivitást mutatott ki. (Burlingham és Doerfler, 1972). Kísérleteink alapján úgy látszik, hogy a különböző sejtvonalakból származó kivonat nem egyformán alkalmas egy adenovírus asszociált endonukleáz kimutatására. Ezekben az extraktumokban ugyanis jelen vannak a gazdasejt különböző nukleázai is. Feltételezzük, — bár az egyes sejt nukleázokat külön nem tanulmányoztuk — hogy a sejtkivonathoz adott szubsztrátra ezek az enzimek is hatnak. Talán ezzel függ össze, hogy a HEp szövetkivonatokban nem tudtuk, az alacsony nukleáz aktivitású primaer amnion szövettenyészet kivonatokból viszont sikerült az adenovírussal asszociált endonukleázt kimutatni. Vizsgálataink szerint 1-es típusú tisztított adenovirionokban is kimutatható az endonukleáz aktivitás, úgy mint azt a 2-es és 12-es szerotípusoknál leírták. (Burlingham és Doerfler, 1972) Az irodalom és saját eredményeink alapján úgy véljük, hogy valószínűleg a virion felszíni komponensei közül a trypsin érzékeny penton asszociált az endonukleáz aktivitással. Ennek eldöntésére még további vizsgálatok szükségesek. Elképzelhető azonban az, hogy valamely gazdasejt endonukleáz a virion illetve a penton felszínére tapad, és ez volna az aktivitásért felelős. A virion eredet mellett szól az az észlelésünk, hogy a gazdasejt elleni immunsavó nem képes endonukleázt gátolni. A vírus ellen termelt savók endonukleáz gátló hatása (Burlingham és Doerfler, 1972, Burlingham és mt, 1971) ebben a kérdésben nem végleges bizonyíték, mivel a vírushoz kapcsolt antitestek precipitálják a virionokat, a feltételezett tapadó sejt nukleázokkal együtt és az enzim nem kapcsolódhat többé a szubsztrát molekulákkal.

Az adenovírus endonukleáz jelentősége a gazdasejt - vírus kapcsolatban még nem ismert. Nem tudjuk, vajon in vivo a gazdasejt, vagy a vírus DNS-e az enzim szubsztrátja. Az sem eldöntött kérdés, hogy az adenovírus genom kódolja, vagy a sejtben megjelenő indukált enzimről van-e szó.

Összefoglalás

A szerzők 1-es típusba tartozó adenovírussal fertőztek HEp-2 és amnion sejttenyészeteket és vizsgálták a sejtkivonatok DNáz aktivitását, melyet ^{32}P jelzett E. coli DNS szubsztráton mértek. Az enzimaktivitásra a ^{32}P DNS-ből felszabaduló savoldékony nukleotidok kimutatása és a jelzett DNS szedimentációjának a csökkenése alapján következtettek. HEp-2 sejtkivonatokban magas DNáz aktivitást mértek, azonban nemcsak az adenovírussal fertőzött, hanem a nem fertőzött kontroll extraktumokban is. Az amnion gazdasejtek nukleáz aktivitása a HEp-2 sejtekkel ellentétben igen alacsony, ezért fertőzött amnion sejtkivonatokban sikerült a vírussal asszociált endonukleázt kimutatni. Tisztított 1-es típusú adenovirionok a ^{32}P jelzett E. coli DNS szedimentációs sebességét csökkentik, melyet a szerzők a virionnal kapcsolt endonukleázzal magyaráznak. Trypsin inaktíválja, anti HEp-2 IgG nem gátolja a virion nukleázt. Ezen adatok és az irodalom alapján a szerzők feltételezik, hogy az endonukleáz a trypsin érzékeny pentonnal asszociált, ennek eldöntésére azonban újabb vizsgálatok szükségesek.

Köszönetnyilvánítás

Ezúton fejezzük ki köszönetünket Dr. Horváth István Professzor Úrnak a kézirat kritikus elolvasásáért, valamint Lugasi Magdolnának, Csuday Andrásnénak, Kiss Andreának a munka technikai kivitelezésében nyújtott értékes segítségükért.

IRODALOM

Anai M., Hirahashi, T. és *Takagi Y.* J. Biol. Chem. **245,** 767 (1970).
Burlingham B. T., és *W. Doerfler:* Virology **48,** 1 (1972).
Burlingham B. T., W. Doerfler, U. Petterson, és *L. Philipson* J. Mol. Biol. **60,** 45 (1971).
Green M., és *M. Piña:* Virology **20,** 199 (1963).
Grossman L.: Methods in Enzymology XII/A 700. szerk. Colowick S. P., N. O. Kaplan Academic Press, New York, (1967).
Lowry O. H., N. J. Rosenbrough, A. L. Farr, és *R. J. Randall:* J. Biol. Chem. **193,** 265 (1951).
Petterson U., S. és *Höglund:* Virology **39,** 90 (1969).
Reed L. J., H. és *Muench:* Am. J. Hyg. **27,** 493 (1938).

Semmelweis Orvostudományi Egyetem I. sz. Gyermekklinika és Eötvös Loránd Tudományegyetem Állatrendszertani és Ökológiai Tanszék, Budapest

SÍRÁSELEMZÉS CRI DU CHAT SYNDROMA ESETÉBEN

MAKÓI ZITA, SZŐKE ZSUZSA, SASVÁRI LAJOS, KELEMEN JÓZSEF és REGÖLY-MÉREI ANDREA

Közlésre érkezett: 1975. V. 28.

Lejeune 1963-ban részletesen ismertetett „Cri du chat" syndroma néven egy klinikailag általa összefoglalt és aetiológiailag definiált kórképet. Azóta több mint 100 hasonló esetről számoltak be.

Közleményünkben a fenti megbetegedés egyik legkiemelkedőbb tünetével, a *sírás eltérés* vizsgálatával foglalkozunk. A betegség felismerése szempontjából a legszembetűnőbb a jellegzetes sírásforma. Ez azonban mind ez ideig a szubjektív megítélés kérdése volt. A csecsemőkori sírásokra vonatkozó kutatásaink során több közleményben (Gegesi Kiss és mt. 1972) (Makói és mt. 1970) (Makói és mt. 1974) (Popper és mt. 1972) rámutattunk, hogy a síráshang objektív paraméterek segítségével elemezhető, és a különböző sírásformák jellegzetességeit nemcsak qualitatív, hanem quantitatív mutatókkal is le lehet írni. Az általunk kidolgozott sírás elemzési módszer segítségével feldolgoztuk a klinikánkon Cri du chat syndromával kezelt beteg sírását. Célunk az volt, hogy e lényeges symptomát objektív paraméterek segítségével is leírjuk.

Esetismertetés. Sz. V. 1972 III. 10-én született. Családi anamnesis negatív. II. terhességből származik, 1 egészséges testvére van. Mater a csecsemő születésekor 33 éves, pater 39 éves volt. 2.950 g-mal időre született, a peritalis időszak eseménytelen volt. Klinikánkon 4 hónapos és 1 1/2 éves korában korábban feküdt motoros és mentalis fejlődésének elmaradása miatt. Mater is észlelte a nyávogó éles sírást. A fenti panaszokon kívül felsőlégúti infectióban is szenvedett.

A fizikális vizsgálat a megbetegedésre jellegzetes tüneteket mutatta (somaticus és mentalis retardatio, mikrokephalia, hypertelorismus, mikrognathia, rectus diastasis, a fülkagyló deformitása, strabismus, valamint a jellegzetes sírás). Leletei közül eltérést mutatott az EEG: életkorához képest lassult kérgi elektromos tevékenység. A vérképben relatív lymphocytosist észleltünk. A chromosomavizsgálat eredménye (Morehead módszere szerint): 46-os chromosomaszám, az 5. chromosomapár egyik tagjának rövid kar deletiójával. A dermatoglyph-vizsgálat során talált eltérések: mindkét tenyerén 4 ujjas barázda, az axialis triradius „t" helyzetű, a bal tenyéren atd-szög 80°.

A röntgenvizsgálat megállapította, hogy a lábon mindkét oldalt a III.—IV. ujj középső perce rövidebb. Jobboldalt az V. ujj középső- és körömperce

gonbostűfejnyi, baloldalt nem látszanak. Kiemeljük, hogy a gégészeti vizsgálat normalis viszonyokat mutatott.

A síráshang elemzésének eredményei. A csecsemő sírását 4 hónapos és 1 1/2 éves korban UHER riporter-magnetofonnal 19/sec. sebességgel rögzítettük. A mikrofon a csecsemő szájától 5 cm-re volt. A sírásfelvételek az etetési idő előtt történtek. A síráshang elemzési módszerének leírását az előző közleményünkben (Gegesi Kiss és mt. 1972) ismertettük.

Sz. V. sírása és az egészséges csecsemők sírása között *a közös strukturális és formai jegyek a következők;*

a) Mindegyik sírás hanglökések, azaz ismétlődő elemi hangkibocsátások és az ezeket elválasztó (vagy összekötő) kis „szerves" szünetek, hangadás megszakítások folyamata.

b) Az egyes hanglökések hangzás vonala (intonációs kontúrja) általában csúszó alakú, azaz glissando. Ez azt jelenti, hogy a hangmagasság folyamatosan, tehát ugrások és kötött hangközök nélkül változik.

c) A hanglöketek és a légvételek rendszeresen követik egymást.

Sz. V. sírására *speciálisan jellemző strukturális és formai jegyek* a következők:

A) A hanglökéseket, azaz a tulajdonképpeni síráshangokat általában hangzó (hallható) levegőbeszívások kötik össze. A levegőbeszívások és a hanglöketek közti szünetek olyan rövidek, hogy csaknem eltűnnek, s majdnem folytonos hangzást eredményeznek.

B) A hanglökések magasságvonala hullámzóan emelkedő, ill. hullámzóan ereszkedő (egészséges csecsemősírásokban csúszva ereszkedő, csúszva emelkedő és ívelt formák is előfordulnak.) Az 1972-es felvételen a hullámzó hanglöketeket megszakítja sok, az erős levegőáramlással keletkezett sípoló átfúvás, melyeknek hossza kb. megegyezik a hullámzó hanglöketek hosszával. Ezek a megszakítások szervesen beilleszkednek a hanglöketek menetébe. Az 1973-as felvétel ezeket a megszakításokat nem mutatja, a sírás csupán a hullámzó emelkedő, ill. ereszkedő hangformákból épül fel.

C) Az 1972-es felvételen a hangfekvés háromvonalas oktáv körüli, de a megszakított részeken, ahol az erős légáramlás által sípoló átfúvások jönnek létre, hatvonalas oktávban mozog. Az 1973-as felvételen a hangfekvés a kétvonalas oktáv körül mozog (ez utóbbi megegyezik az egészséges csecsemősírás hangfekvésével).

D) Az egész síró-hangadás hangtávolsága az 1972-es felvételen 28 hang (három és fél oktáv). A 8 hangtávolságú hanglökéseket a levegőáramlásos szakasz növeli meg 28 hang terjedelemre. Az 1973-as felvételen a hanglökések csak 12 hang magasságán belül mozognak (egészséges csecsemősírás 8—20 hang magasságán belül, azaz egy-két és fél oktávon belül mozog).

E) Hangmagasság különbség egyetlen hanglökésben. Az 1972-es felvételen a legtöbbször 2-3 hangmagasság különbséget lép a hang, az átfúvásos sza-

kaszokban azonban nagy hangváltozások (8—9 hangmagasságnyi váltások) keletkeznek. Az 1973-as felvételen 2—5 hangmagasság különbséget lép a hang. A váltás fokozatosan, hosszadalmasan megy végbe.

F) Ismétlésforma. Egyetlen típusú hanglöket variált ismétlődése. Az 1973-as felvétel még mindig az 1972-es felvétel ismétlésformáját mutatja, holott egészséges csecsemő azonos fejlődési szakaszán már *különböző* típusú hangkibocsátások variált ismétlődéséből áll össze a sírás.

G) A hanglökések elnyújtottak, hosszúak, ezért időegység alatti (0,5 perc) mennyiségük kevés (1972-es felvételen 12, az 1973-as felvételen 10 hanglökés), szemben az egészséges csecsemők félpercenkénti kb. 20 hanglökésével.

Megbeszélés. A „Cri du chat" syndroma klinikailag viszonylag jól körülírt kórkép. Súlyos somaticus, mentalis retardatio, mikrokephalia, kerek arc, hypertelorismus, epicanthus, mikrognathia, a fülkagyló rendellenessége, dermatoglyph eltérés, macskanyávogásszerű sírás — amelyeket a mi betegünk is mutatott — képezik az alapvető tüneteket. (Fiehring és mt. 1969) (Ford 1973) (Berg és mt. 1966) (Dumars és mt. 1964) (Kajii Tadashi és mt. 1966) (Lafon és mt. 1972) (Lejeune és mt. 1964) (Macintyre és mt. 1964) (Maaz és mt. 1971) (Polani 1969). A sírás macskanyávogásszerű jellege inkább az első hónapokban figyelhető meg, egyes esetekben e jellegzetes sírás hiányozhat, vagy kevésbé kifejezett (Lafon és mt. 1972) (Berg és mt. 1966). A gyermek növekedésével a larynx alakja közelít a normálishoz és csökken vagy megszűnik a nyávogásszerű sírás (Ward és mt. 1968).

A jellegzetes klinikai képen kívül leírtak még pterygium collit, a metacarpophalangealis ízületek kiszélesedését, esetleg cardialis eltérést (Fazekas és mt. 1972).

A gégészeti vizsgálatok az ismertetett esetekben normalis larynxot, mint jelen betegünkben is, az egyik hangszalag paralysisét, epiglottis, cartilago arytenoieda flacciditast, laryngomalatiát mutattak (Ward és mt. 1966) (Colover és mt. 1972).

A neurológiai vizsgálatok általában a következő eltérésekről számolnak be: hypotonia, a végtagokban spasticitas, élénk inreflexek, convulsiók, myoclonusos görcsök, petit mal, tremor, felső végtag synkynesia, járáseltérés (Colover és mt. 1972).

Szemészetileg főleg strabismust, egyes betegeknél opticus atrophiát írtak le a kórszövettani elváltozáson kívül (Brini és mt. 1972). (Friehring és mt. 1969) a periferiás vérképben relatív lymphocytosist találtak, amelyet mi is észleltünk.

A chromosoma-elváltozás az esetek többségében a B csoport egyik tagjának (az 5. chromosomának) rövid kar deletiója (Lejeune és mt. 1963), ezenkívül gyűrűchromosomát (Rohde és mt. 1965), translocatiós (Grotsky és mt. 1971), (Koulischer és mt. 1967), (Wolf és mt. 1966), mosaikchromosomaképet (Turner és mt. 1966), (Philip és mt. 1970) írtak le. Vizsgált esetünk az első elváltozást mutatta.

A tenyér dermatoglyph vizsgálatánál leginkább a következő eltérésről számolnak be: a triradius „t" positióban, a IV. ujj triradiusának hiánya vagy verticalitása, átlós palmaris redő (Lejeune és mt. 1963).

Polani (1969) szerint a betegség előfordulási gyakorisága 1: 50—100 000 élveszülésre számítva. Általában előfordulása sporadikus, némely esetben familiáris kiegyensúlyozott translocatio eredménye. Ilyenkor fennáll a lehetősége egy következő nem egészséges gyermek születésének (Ford 1973). Lejeune (1963) szerint az anyák idős életkora is szerepet játszik a megbetegedés előfordulásában, míg (Ford 1973) szerint az anya életkora nem befolyásolja a betegség kialakulását.

Esetünk sírás elemzésének eredményei azt bizonyíthatják, hogy módszerünkkel — amelyet ilyen sírás elváltozás elemzésére először használtunk — leírhatók a jellegzetes sírás objektív paraméterei. A síráskép objektív specifikumai megfelelő egzaktsági fokon beilleszthetők a kórképre jellemző tünetegyüttesbe.

Összefoglalás.

A szerzők ismertetik egy Cri du chat syndromás beteg sírás vizsgálatát az általuk kidolgozott elemzési módszer segítségével. A sírás felvételek 4 hónapos és 1 1/2 éves korban készültek. Az egészséges csecsemőkkel közös strukturális és formai jegyeket is tartalmaznak, valamint speciálisan a fenti megbetegedésre jellemzőket. A későbbi életkorban készült síráskép bizonyos szempontból közelít a normálishoz (Hangfekvés, hangtávolság), emellett azonban a fiatalabbkori felvétellel megegyező hanglöket ismétlődése a hangképzés fejlődésének retardatiójára utalhat. A síráselemzésnek ezt a módját a szerzők először használták a fenti megbetegedésben észlelt sírás-eltérés vizsgálatára.

IRODALOM

Bechtold, H. G.: Nervenartzt, **44,** 102 (1973).
Berg, W. R., Miller, O. J., Steel, M. W. és Wartburton. D.: Clinical findings in older patiente with deletions of a chromosome 4—5 (Cri du Chat syndrome) Third International Congress of Human Genetics, Chicago, III., Sept. 5—10, 1966. Abstract 41. p. 14.
Brini, H., Reny, A., és *Raspiller, A.:* Bull. Soc. Ophthalmol. **72,** 123 (1972).
Colover, J., Lucas, M., Comley, J. A. és *Roe, A. M.:* J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry, **35,** 711 (1972).
Dumars, K. W., Gaskill, Catherine és *Kitzmiller, Nancy:* Amer. J. Dis. Child. **108,** 533 (1964).
Fazekas, Á. és *Szemere, Gy.:* Orv. Hetil., **113,** 1604 (1972).
Ford, E. H. R.: Human chromosomes Academie Press (London and New York, 2520 (1973).
Fichring, C., Meerbach, W. és *Walch, R.:* Dtsch. Ges. Wesen, **24,** 457 (1969).
Gegesi Kiss P., Makói, Zita, Sasváriné Szőke Zsuzsa, Sasvári, L., és *Popper, P.:* Orvostudomány, **23,** 257 (1972).
Grotsky, H., Hsu, L. Y., és *Hirschhorn, K.:* J. Med. Genet., **8,** 369 (1971).
Kajii Tadashi, Homma Takemi, Oikawa Kiyoshi, Furuyama Masayuki és *Kawarazaki Takashi:* Arch. Dis. Child. **41,** 97 (1966).
Koulischer, L., Petit, P., és *Hayez-Délatte, F.:* Ann. Genet., **10,** 150 (1967).

Lafon, R., Emberger, J. M., Puget, R. és *Chiariny, J. F.:* Ann. Med. Psychol. (Paris) **2,** 431 (1972).
Lejeune, J., Lafourcade, J., Berger, R., Vialatte, J., Boeswilwald, M., Seringe, P. és *Turpin, R.:* C. R. Acad. Sci. (Paris) **257,** 3098 (1963).
Lejeune, J., Lafourcade, J., Grouchy, J. de, Berger, R. és *Gautier, M.:* Sem. Hop. Paris, **40,** 1069 (1964).
Macintyre, M. N., Staples, W. J., LaPolla, J., Hempel, és *Joanne M.:* Amer. J. Dis. Child. **108,** 538 (1964).
Maaz, H. J., és *Döring, M.:* Zsch. ärztl. Fortbild. **65,** 439 (1971).
Makói, Zita, Popper, P. és *Gegesi Kiss P.:* Orvostudomány, **21,** 249 (1970).
Makói, Zita, Gegesi Kiss P., Popper, P. és *Schmideg, I.:* Orvostudomány, **25,** 119 (1974).
Philip, J., Brandt, N. J. és *Friis-Hansen, B. et al.:* J. Med. Genet., **7,** 33 (1970).
Polani, P. E.: British Med. Bull., **25,** 81 (1969).
Popper, P., Makói, Zita és *Gegesi Kiss P.:* Pszichol, Tanulm. **13,** 461 (1972).
Rohde, R. A. és *Tompkins, R.:* Lancet, **2,** 1075 (1965).
Rózycka Elzbieta: Otolaryngal Pol. **26,** 599 (1972).
Turner, J. H., Bass, L. W. és *Kaplan, S.:* J. Med. Genet., **3,** 66 (1966).
Ward, P. H., Engel, E. és *Nance, W. E.:* Laryngoscope, **78,** 1716 (1968).
Wolf, U., Reinwein, H., Gey, W. és *Klose, J.:* Humangenetik, **2,** 63 (1966).

Semmelweis Orvostudományi Egyetem Igazságügyi Orvostani Intézet, Budapest

A JELZETT GÁTLÓK ALKALMAZÁSÁNAK LEHETŐSÉGEI AZ ELEKTRONMIKROSZKÓPOS CITOKÉMIÁBAN

SOMOGYI ENDRE az orvostudományok doktora és SÓTONYI PÉTER

Közlésre érkezett: 1975. VI. 17.

Az enzimhisztokémia egyik alapvető törekvése az enzim helyének szöveten és sejten belüli lokalizálása. Eredményeink helyességét azonban éppen e kérdésben nem tudjuk egyértelműen ellenőrizni. Olyan módszerek nem ismeretesek, melyek segítségével bizonyítani tudjuk, hogy a kapott citokémiai akció-csapadék az enzim tényleges helyének felel-e meg. A reakciótermék eldiffundálása, az enzim szolibulitásának kérdése alig tanulmányozhatók. Az enzim in situ kimutatására jelenleg két lehetőség adódik. Az egyik az enzim aktív centrum meghatározása jelzett gátló anyagok segítségével, a másik az enzim által katalizált reakció felhasználása pl: a fémkapcsolásos eljárásokkal. Dolgozatunkban a jelzett gátló módszerének kérdéseivel, alkalmazásának lehetőségeivel és a módszerrel kapott saját tapasztalatokkal foglalkozunk.

a) *Az enzimgátlás kérdései.*

Az enzimműködés olyan kémiai reagensekkel gátolható, amelyek az enzim fehérje vagy koenzim funkcionális csoportjait megkötik. Minden anyag, amely ezekkel az esszenciális csoportokkal reakcióba lép, az enzim működését gátolja. A gátlás több típusa ismeretes, ez egyben meghatározza morfológiai felhasználásuk lehetőségeit is.

A biokémiában ismereteinket elsősorban a reverzibilis gátlás tanulmányozása során kapott eredmények vitték előre. A jelzett gátlók esetében az irreverzibilis gátlás a preparatív behatásokkal szemben lényegesen ellenállóbb mint a reverzibilis gátlás. A két gátlási forma eltérő módszertani követelményeket kíván.

A különböző funkciókat végző enzimek fehérje természetűek, szabad gyököket tartalmaznak, melyek az enzim aktivitásához szükségesek. A nem specifikus gátlás során a vizsgált enzim mellett más enzimek inaktiválása is létrejön. Az enzim sajátos tulajdonságainak megismeréséhez így nem lehetséges, de a lokalizáláshoz más eredmények, — mint biokémiai, elektronmikroszkópos citokémiai — birtokában értékelhető adatokat szolgáltatnak. A specifikus gátlók az enzim specificitásáért felelős csoportokkal lépnek csak reakcióba, így a fehérjéhez, koenzimhez, vagy esetleg aktiváló ionhoz kapcsolódnak. Ezek alkalmazása természetesen lényegesen kedvezőbb feltételeket teremt a lokalizáció vizs-

gálatához. Viszonylag kisszámú jelzett, az elektronmikroszkópos autoradiografiában felhasználható gátlóval rendelkezünk. A módszer alkalmazásának jelenlegi korlátait is jelenti ez a tény. A reverzibilis gátlás két formája, a kompetitív ill. nem kompetitív gátlás ismeretes. Az előbbi esetben a gátló és szubsztrát az enzim azonos csoportjaihoz kapcsolódik. A gátlás mértéke az inhibitor és a szubsztrát koncentrációjától is függ. A kompetición alapuló folyamat a jelzett gátló, ill. jelzett szubsztrát módszerével vizsgálható.

A jelzett gátló módszer alkalmazásának célja a biokémiában kimutatott enzim aktív centrumának morfológiai tanulmányozása. Az egyes módszerek megválasztása a vizsgálandó kérdéstől, enzimtulajdonságoktól függ. Ezeket az alábbiakban foglalhatjuk össze.

1. Intrinsic specificitás módszere. Lényege az enzim és a jelzett anyag kapcsolódás során létrejött komplex közvetlen vizsgálata. A kapcsolat lehet reverzibilis vagy irreverzibilis. A reverzibilis kapcsolat esetében az enzim-inhibitor komplex könnyű felbomlása miatt speciális preparációs módszert alkalmazunk, a „dry autoradiographia" eljárását. A módszer kizárja az enzim jelzett gátló kapcsolatának felbomlását.

2. A specifikus reaktiválás módszere. A szubsztrátot bontó enzim valamennyi helyét jelöletlen gátlóval blokkoljuk, majd az enzimre nézve specifikus reaktiválást alkalmazunk, pl: az acetil-polieszteraz: piridin-2-aldoxinmetidinnel. A reaktivált helyeket a jelölt blokkolóval hozzuk kapcsolatba. Az eljárást elsősorban akkor használjuk, amikor a szubsztrát az enzim számára nem specifikus.

3. Specifikus protekció módszere. Az alacsony specificitású, de irreverzibilis inhibitor esetében használjuk. Az eljárás lényege az enzim, s szubsztrát-gátló közötti kompeticio.

4. Az irreverzibilis gátlás kiváltotta protekció módszere. A kontroll szövethez viszonyított jelölés különbség értékelésén alapszik.

b) *A jelzett gátló módszerének irodalmi áttekintése.*

A jelzett gátlók eljárását Ostrowski és Barnard (1961) és Thursh és Benditt (1961) vezették be. Az acetil kolineszteraze kimutatásához triciált-DFP (di-isopropil-fluorofoszfatot) használtak. Motoros véglemezben szelektív, jól lokalizálható autoradiogramokat kaptak. Ostrowski és Barnard (1961) H^3-malonsavat alkalmaztak szukcinodehidrogenaze mitokondriumon belüli lokalizálásához.

Barnard és Ostrowski (1969), Ostrowski és mtsai (1963), Rogers és mtsai (1966), Salpeter (1967) további vizsgálatokat végzett motoros véglemezen az acetil-kolineszteraze és a májsejt nem-specifikus eszteraze lokalizációjának tanulmányozásában. Ostrowski és mtsai (1963) a fénymikroszkópos hisztokémiai eljárást autoradiografia módszerével kombinálta. A két eljárás eredményei, egyidőben egymás mellett értékelhetők. Csillik és Knyihár (1968) hazai szerzők

közül elsőnek tanulmányozta B_6-vitamin dependens enzimek agyszöveten belüli lokalizálását, fénymikroszkópos szinten. Ostrowski (1972, 1975) összefoglaló munkáiban részletesen elemezte az eljárás lehetőségeit, módszertani nehézségeit. Somogyi és Sótonyi (1975 a, b) ismertette néhány hidrolitikus és oxidatív enzim jelzett gátlóval történő lokalizálásával szerzett tapasztalatait.

c) *Az eljárás módszertani kérdései.*

A helyes módszer megválasztásának alapkérdése, hogy a radioaktív anyag vízoldékony, vagy sem. A vízoldékony radioaktív anyagok esetében speciális módszer szükséges. Rutinszerűen használható eljárás jelenleg nem ismeretes. A metszet készítéséhez a „dry autoradiographia" módszerét alkalmazzuk. A preparációból adódó nehézségek részben az azonnal lefagyasztott, szárított ultravékony metszetek, szárított emulzióval történő lefedésével csökkenthetők. Az eljárással Nagata és mtsai (1969) vizsgálataira utalunk. A vízoldékony anyagok speciális módszertani követelményeivel Appleton (1964), Bordier és mtsai (1970), Geyer (1973), Stirling és Kinter (1967) és Neumann (1975) foglalkoztak. A nem vízoldékony radioaktív anyagoknál az autoradiográfiában jól bevált eljárások használhatók. Az inkubáláshoz általában friss, rögzítetlen szövetdarabkák megfelelőek. Az inkubálás után az anyagot pufferben mostuk rövid alkoholos dehidrálás, propilén-oxidon keresztül araldit beágyazás történt. A fixálást elsősorban abból a meggondolásból kerültük, hogy a rögzítő az enzim aktív csoportjaival reakcióba léphet, ami még gondos mosás után is gátolhatja a jelzett anyag – enzim kapcsolat kialakulásának lehetőségeit. Az inkubálás után az anyag glutaraldehid rögzítése elvégezhető. Az irreverzibilis inhibitor az enzim aktív centrumához kötődik, a fixáló tehát nem tudja leválasztani. A reverzibilis inhibitor esetében azonban ennek lehetőségével számolnunk kell.

Az elektronmikroszkópos autoradiográfia alapkövetelménye az optimális érzékenység, a megfelelő feloldás és a jó lokalizáció biztosítása. A kérdéssel kapcsolatban a vízben nem oldékony radioaktív anyag esetében több módszer ismeretes. A jelölt gátló technikában, tekintettel arra elsőrendűen az enzim lokalizációját vizsgáljuk, alapkövetelmény a monolayer készítésének helyes módszertani megválasztása, illetve olyan lokalizációt biztosító autoradiogramok nyerése, amely az egyes strukturák membránjain való elhelyezkedést biztosítja. Tapasztalataink szerint a „Dropping" eljárás legkevésbé használható, szemben a „Dipping" és „Loop" eljárások, melyek lényegesen kedvezőbb módszertani lehetőségeket biztosítanak. A többrétegű emulzió az érzékenység szempontjából feltétlenül előnyös, a feloldás, ill. a lokalizáció szempontjából azonban hátrányos. A monolayer készítéséhez különböző emulziókat mint Kodak NTE, Gevert NCU 307 és Ilford 4 stb. használnak. Saját tapasztalataink elsősorban Kodak NTE emulzióval vannak. A metszeteket szalagban, zsírtalanított celloidin-izoamilacetát oldattal fedett üveglemezekre húztuk. Esetenként Kushida és Fujita (1966) szerint kombinált uranil-ólom kontrasztozást végez-

tünk. Szárítás után vákuumgőzöléssel 60—80 Å vastagságú szénréteget gőzöltünk, majd erre bemártással vagy a kacs módszerével 40 °C-os emulzióréteget helyeztünk. Az anyagot 18 °C-on foszforpentoxidot tartalmazó dobozban tároltuk. Az expozíciós idő a kísérlettől függően 4—8 hét. Az üveglemezről a celloidinen levő anyagot vízben leúsztattuk és rostély ráfordítással kiemeltük. A megszárított rostély autoradiográfiás vizsgálatra alkalmas. A módszer egyik problematikája a nem mindig kielégítő hatásfok, a helytelen blokkfaragás, a nem megfelelő orientálás. A blokk inkubált anyag esetében az izotóp eloszlásának egyenetlenségét, az egyes területek izotóp jelöletlenségét figyelhettük meg. Már félvékony metszeteken szükséges tehát annak eldöntése, hogy azokban érdemleges reakció megfigyelhető-e? Araldítban történő beágyazás után az anyagot 16 órát polimerizáltuk, majd kb. a 200—300 Å vastagságú metszeteket emulzióval fedtük le és 3—8 napos expozíció után előhívtuk, majd toluidinkékkel festettük. A megfelelő szemcsesűrűségű területeket kiválasztva, a blokkokat orientáltan faragtuk, majd további 14—20 órán keresztül polimerizáltuk. A félvékony metszetek autoradiográfiás módszertani kérdéseivel Bergeron és Droz (1968) és Kiss, J. (1969) vizsgálataira és eredményeire utalunk. Az előhíváshoz Kodak D-19, Microdol-X és Phenidont használtunk, 20 °C-on 1—10 percig. A Phenidon előhívásnál kör alakú, a Kodak D-19 és Microdol-X előhívásnál kacs alakú szemcséket nyerhetünk. A két előhívási módszert célszerű egymás mellett, ugyanazon anyagból kapott metszeteken, egyidőben elvégezni, ami a helyes lokalizálást elősegítheti. Azokban az esetekben, amikor a szemcsesűrűség nagy, az átfedés a kacs módszernél tapasztalataink szerint zavaróbb, mint a kör alakú szemcséknél.

d) *Az eljárás nehézségei, alkalmazásának néhány kérdése.*

A jelölt gátlók módszerének egyik problémája, hogy a feloldás ugyanolyan jó, ill. rossz lehet, mint a fény- és elektronmikroszkópos autoradiográfiában. Valamennyi, a lokalizáció és az enzim elmozdulását érintő probléma itt sem hagyható figyelmen kívül. Az eljárás specificitásának alapkövetelménye, hogy a gátló és a reaktiváló az enzimre nézve specifikus legyen. Jelenleg viszonylag kisszámú, a fenti követelményeket kielégítő jelölt anyaggal rendelkezünk. Specifikus gátló, reaktiváló birtokában a lokalizáció vizsgálata lényegesen kedvezőbb feltételeket biztosíthat. A vízoldékony radioaktív anyagoknál a módszertani nehézségek hatványozottan jelentkeznek. Az inhibitor és enzim aktív centrum stöchiometriájából az eredmény mennyiségileg is értékelhető. A szemcsék számából mennyiségi és minőségi következtetésekre is lehetőség van. A mennyiségi vizsgálatra azonban csak több metszet matematikai statisztikai értékelése alapján látszik alkalmasnak, ehhez speciális feltételek szükségesek. A metszetek vastagságának homogénnek és összehasonlíthatónak kell lenni. Az emulzió felvitele az expozíciós idő, valamint az előhívás, a sorozat minden autoradiogramjára nézve egyező legyen. Nem kevésbé fontos a sorozat minden

egyes metszete vizsgálatakor az azonos mikroszkóp, illetve fotonagyítás. Lehetőség szerint a kiértékelést azonos fototechnikai feltételek között végezzük. A fenti körülmények betartásával elérhető, hogy a radioaktív koncentráció reprodukálható mérése 20%-os hibahatár körül elvégezhető. Az értékeléssel kapcsolatos kérdéseket Williams (1969), Salpeter és Bachmann (1965) vizsgálatai taglalják. Olyan próbálkozások is történtek, hogy a kiértékelést metszetről beütésszámláló eljárással kapcsolták össze, ez összehasonlító méréseket tesz lehetővé az enzim szöveten belüli koncentrálódásának tanulmányozására. A módszer azonban csak enzimre specifikus gátlók esetében alkalmazható, mint az Ostrowski (1975) vizsgálataiból ismeretes.

e) *Gyakorlati tapasztalatok enzimek lokalizálásának vizsgálatában.*

A kérdésekkel kapcsolatos fény- és elektronmikroszkópos hisztokémiai adatok ismertetésétől, azok összevetésétől eltekintünk. Elsősorban jelzett gátlók módszerével szerzett tapasztalatokkal foglalkozunk.

A kalium-natrium aktivált magnezium dependens ATP-az kimutatására használatos Wachstein és Meisel (1957) eljárás a kritikai vizsgálatokat nem állta ki. A módszer különböző módosításával sikerült részben az enzim lokalizációját, a reakció specificitását javítani, bár a kérdéssel kapcsolatos irodalmi adatok így is egymásnak ellentmondóak. Izolált vörösvértest membranokon Marchesi és Palade (1967) vizsgálataiban hisztokémiai reakció a membran belső felszínén nem összefüggő, szakaszos formában granulárisan elhelyezkedő csapadékot talált. Az enzim specifikus gátlója a szív glikozida, quabain-H^3 használatával a szemcsék viszonylag kis számban a membran felszínén jelennek meg. Nem tette lehetővé esetleges statisztikus kiértékelését a lokalizáció megkönnyítése céljából. A morfológiai módszerrel a szív glikozida kapcsolódását a sejtmembranhoz ki lehetett mutatni. A lokalizációt azonban a jelzett gátlóval sem lehetett eldönteni (1 ábra). A myelin hüvelyen elhelyezkedő ATP-az, a hisztokémiai reakciója, a kapott ólomcsapadék mennyisége alapján erős enzim aktivitásra utal. Az ATP-az kimutatásával kapcsolatos, elsősorban a műtermék képződést érintő adatok birtokában felmerül annak a lehetősége, hogy a reakció jelentős része nem artefaktum-e. Aláhúzza ezt az, hogy szubsztrát nélküli inkubálás során az ólomcsapadék hasonló helyen jelenik meg.

Jód-acetic-acid-$2H^3$ inkubálásnál a myelin hüvelyen megjelennek a szemcsék. Feltételezhetően ezek egy része az enzim centrumával lépett reakcióba. Az eljárás problémája a gátló nem specifikus, más vizsgált enzimekkel, vagy reaktív csoportokkal is kapcsolatba léphet. Minden esetre szembetűnő volt, az autoradiogramokban mutatkozó kevés szemcse. (2. ábra).

A szukcinodehidrogenaz elektronmikroszkópos citokémiai kimutatásához a korábban alkalmazott tetrazoliumsós eljárásokat a ferricianid-rézszulfátos eljárás váltotta fel. Úgy tűnik, hogy ezek specifikusnak tekinthetők. Az enzim

gátlásának egyik lehetősége a malonsavas kezelés, ami az inkubáló oldat pH-ját is megváltoztatja. A kérdéssel kapcsolatban nem zárható ki az a tény, hogy a gátlás egyik oka már a pH eltolódásában keresendő. Az inkubáló oldathoz tett malonsav-C14 kezelésével a szemcsék a mitokondriumok belső terében jelentek meg, ami arra utal, hogy a malonsav a mitokondrium membranon keresztül bejut. (3. ábra).

Az endonukleaze elektronmikroszkópos hisztokémiai kimutatásához a DN-az II. vizsgálatára a Zotikov és Bernhard (1970) eljárását használjuk. A reakcióval a perinuklearis kromatinban, a durva felszínű endoplazmatikus retikulumokban találunk reakciót. Optimális körülmények között a nukleoluszban is előfordul, míg az interkromatikus tér negatív. Az eljárás az ólomsós módszer valamennyi módszertani problémáját magában foglalja. Az enzim aktinomicin-D-vel gátolható. Jelzett aktinomicin-D-C14 használatával a mag kromatin állományában, a nukleoluszban és a durva felszínű endoplazmatikus retikulumokban figyelhetők meg a szemcsék. (4. ábra).

Ostrowski és Barnard (1961) és Thursh és Benditt (1961) első észlelése óta eltelt időszakban viszonylag kisszámú munka számolt be ennek a módszernek kérdéseiről. Ennek oka elsősorban a metodika nehézségeiben, az eljárások során esetenként kialakított speciális körülményekben keresendő. Az eredmények azonban az enzim lokalizációjának tanulmányozásában új információkat és további olyan lehetőségeket adtak, melyeket az enzim-szubsztrát hasításán alapuló enzim hisztokémiai reakciók nem tesznek lehetővé. Az enzim lokalizációját vizsgáló eljárások közül éppen ezért jelenleg és a jövőben is rendkívül perspektivikus módszert jelentenek.

Összefoglalás

Szerzők a jelölt gátlók módszerével nyert elektronmikroszkópos hisztokémiai tapasztalataikról számolnak be. A kellő kritikával alkalmazott módszerek lehetővé teszik az enzim aktív centrumának autoradiográfiás eljárással történő tanulmányozását, az enzim lokalizálásának más irányú vizsgálatát. A referátum foglalkozik a módszertani kérdések részletes ismertetésével, az egyes eljárásokkal kapott eredményekkel.

IRODALOM

Apleton, T. C.: J. Roy. Micr. Soc. **81**, 277 (1964).
Barnard, E. A. és *Ostrowski, K.*: In Techniques of Autoradiography Ed. Adrew. A. W. Rogers. Elsevier, Publ. Co. Amsterdam–London–New York. (1969).
Bergeron, M. és *Dorz, B. I.*: J. Microsc. **7**, 51 (1968).
Bordier, A., Rogers, A. W. és *Herz, L. C.*: In: Rogers, A. W. Techniques of Autoradiography Elsevier Publ. Co. Amsterdam–London–New York. (1969).
Csillik, B. és *Knyihár, E.*: MTA Biol. Oszt. Közl. **2**, 179 (1969).

Geyer, G.: VEB Gustav Fischer Verlag. Jena (1973).
Kiss, J.: MTA Biol. Oszt. Közl. **2,** 183 (1969).
Kushida, H. és *Fujita, K.:* VI. Int. Congr. EM. Kyoto. **39,** (1966).
Marchesi, V. T. és *Palade, G. E.:* J. Cell. Biol. **35,** 385 (1967).
Nagata, T., Nawa, T. és *Yokoto, S.:* Histochem. **18,** 241 (1969).
Neumann, D.: VIII. Arbeitstagung der Geseltschaft für Topochemic und Elektronmikroskopie der DDR. Kurzfassungen. Berlin. 1975.
Ostrowski, K., és *Branard, E. A.:* Exp. Cell Res. **25,** 465 (1961).
Ostrowski, E. A., Barnard, E. A., Stocka, Z. és *Dorzynkievitz, E.:* Exp. Cell. Res, **31,** 89 (1963).
Ostrowski, K.: Histochem. J. **4,** 467 (1972).
Ostrowski, K.: VIII. Arbeitstagung der Geseltschaft für Topochemic und Elektronmikroskopie der DDR. Kurzfassungen. Berlin. 1975.
Rogers, A. W., Darzynkiewicz, Z., Barnard, E. A. és *Salpeter, M. M.:* Nature **210,** 1003 (1966).
Salpeter, M. M. és *Bachmann, L.:* Assessement og techniqual steps in electron microscope autoradiography. In: Leblond. L. P. The use of radioautography in investigating protein-synthesis. Acad. Press New York—London (1965).
Salpeter, M. M.: J. Cell. Biol. **32,** 379 (1967).
Somogyi, E. és *Sótonyi, P.:* Acta Histochem. (Jena) Közlés alatt (1975).
Somogyi, E. és *Sótonyi, P.:* VIII. Arbeitstagung der Geseltschaft für Topochemic und Elektronmikroskopie der DDR. Kurzfassungen. Berlin. (1975).
Stirling, Ch. E. és *Kinter, W. B.:* J. Cell. Biol. **35,** 585 (1967).
Thursh, D. R. és *Benditt, E. P.:* J. Histochem. Cytochem. **9,** 616 (1961).
Williams, M. A : Adv.: Opt. Electron Microsc. **3,** 219 (1969).
Wachstein, M. és *Meisel, E.:* Amer. J. Clin. Pathol. **27,** 13 (1959).
Zotikov, L. és *Bernhard,* W.: J. Ultrastruct. Res. **30,** 642 (1970).

Pécsi Orvostudományi Egyetem Mikrobiológiai Intézet

ADATOK A LISTERIA IMMUNITÁS PROBLÉMÁJÁHOZ*

RALOVICH BÉLA a biológiai tudományok kandidátusa és EMŐDY LEVENTE

Közlésre érkezett: 1975. IV. 25.

A *L. monocytogenest* az intracellularis paraziták csoportjába sorolják. Ide tartoznak a Salmonellák, a Brucellák, a Pasteurellák és a Mycobacteriumok is. Általános vélemény szerint az intracellularisan szaporodó baktériumokkal szemben az immunitás nem értelmezhető a savóban megjelenő ellenanyagok funkciójaként. Az ilyen immunitásban döntő jelentőséget tulajdonítanak a sejteknek. Ezért a jelenséget *celluláris-immunitás*-nak vagy *szöveti rezisztentiá*-nak nevezik.

Korábbi vizsgálatainkkal bebizonyítottuk, hogy az egér-salmonellosis immunviszonyai nem magyarázhatók csak az ún. celluláris immunitásra jellemző kritériumok alapján. Például azt találtuk, hogy az egerek passzív immunizálással megvédhetők a Salmonella fertőzéssel szemben és nem élő vakcinával is jó protektivitás váltható ki az állatokban *(Rauss és mt* 1964, 1971, *Ralovich* 1971). Egér-salmonellosissal kapcsolatos vizsgálataink eredményei alapján határoztuk el a Listeria immunitás kérdésének a tanulmányozását. Választ kívántunk kapni arra, hogy van-e valamilyen szerepük a humoralis ellenanyagoknak a védettségben, továbbá, hogy átvihető-e az immunitás passzív savó kezeléssel.

Anyagok és módszerek

Baktérium törzs: Vizsgálatainkhoz az 1/2a típusú 18-as számú virulens *L. monocytogenes* törzset használunk. A törzs biológiai tulajdonságait már részletesen tanulmányoztuk *(Emődy és mt* 1974).

Kísérleti állatok: A gödöllői Törzsállattenyésztő Intézet állományából származó 18—22 g súlyú CFLP egereket használtunk. Az állatokat faforgács tartalmú műanyag vagy bádog dobozokban tartottuk. Vizet és préselt tápot ad libitum fogyasztottak. Az immunizált egerek súlya a fertőzéskor általában 22—25 g között váltakozott.

Immunsavó termelése: Az immunsavót az intézet állományából származó 2000—3500 g súlyú nyulakban termeltük. Az immunizálás a virulens *L. mono-*

* Készült a VI. Nemzetközi Listeriosis Symposionon, Sutton Boningtonban, 1974. szept. 24-én elhangzott előadás alapján.

cytogenes törzs 5×10^8 csíra/ml sűrűségű, hővel elölt — 100 C° 1 órán keresztül — suspensiójával végeztük. Az állatok marginális fül-vénájába 4 naponként emelkedő adagban — 0,2 ml; 0,5 ml, 1 ml és 2 ml — adtuk a baktérium suspensiót. Az utolsó oltás után 5 nappal véreztettük el a nyulakat. A savót Seitz szűrőn szűrtük és 0,5 %-os karbollal (végkoncentrációra számítva) konzerválva, sterilen, lefagyasztva tároltuk. A savó „O" titere 1 : 2560 volt.

A virulens *L. monocytogenes* törzs okozta fertőzést túlélt nyúl savóját úgy nyertük, hogy a vizsgálathoz felhasznállt 3680 g súlyú állatot a virulens törzs élő suspensiójával fertőztük — 10^8 csíra/kg adaggal — kétszer, 14 napos időközben. A második fertőzés után 6 nappal véreztettük el az állatot. A savót Seitz szűrőn sterileztük és natív állapotban lefagyasztva tároltuk. A savó „O" titere 1 : 20480 volt.

Passzív immunizálás sémája: A első kísérletben az egerek a savót 7 nappal a fertőzés előtt kezdték kapni és a fertőzés után még 3 napig kapták. Egy-egy egérnek összesen 11 alkalommal adtunk i. p. immunsavót. Az egereket 4 csoportba osztottuk. Az első csoportba tartozó állatok összesen 0,55 ml antilisteria immunsavót kaptak. A második csoportba tartozók 0.055 ml-t, míg a harmadik csoport állatai 0,005 ml-t. A negyedik, a kontroll csoport egerei 0,55 ml anti-citrobacter „O" savót kaptak. Az egyes savóadagokat 0,5 ml összvolumenben — fiz. NaCl-dal kiegészítve — injectáltuk.

A második kísérlet alkalmával az egereket csak két csoportba osztottuk. Az egyik csoportba tartozó állatokat virulens Listeria fertőzést túlélt nyúl savójával kezeltük az előző séma szerint. Egy-egy egér összesen 0,55 ml savót kapott s. c. A másik csoportba tartozók ugyanannyi anti-citrobacter „O" savót kaptak ugyancsak s. c.

Fertőzés: Az egereket i. p. fertőztük. A virulens Listeria törzs 18—24 órás agar tenyészetét — Roux palackban Levinthal-bouillon tartalmú agar táptalajon tenyésztettük a törzset — steril körülmények között kétszer mostuk fiz. NaCl-dal, majd Specol fotométer segítségével 690 mμ-nál felvett standard görbéhez viszonyítva készítettük el a kívánt sűrűségű suspensiót ugyancsak fiz. NaCl-dal. A suspensió csíraszámát lemez oltással is ellenőriztük véres agar táptalajon.

Táptalajok: A csíraszámoláshoz az intézetben rutinszerűen használt 5% birkavért tartalmazó véres agar táptalajt használtuk.

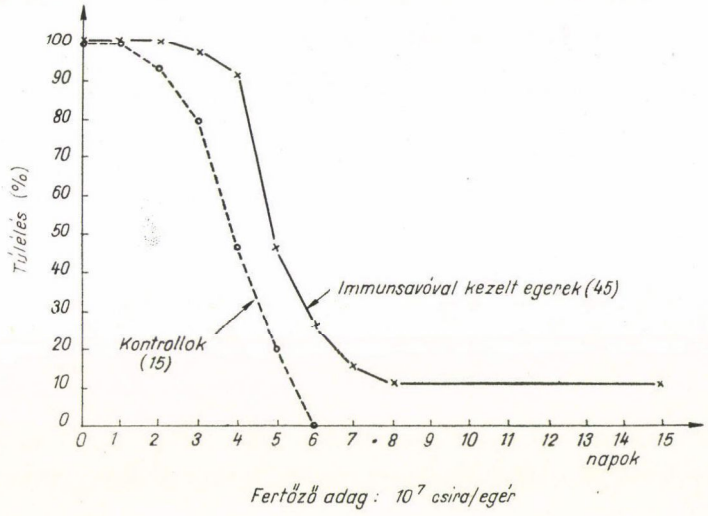
Levinthal bouillon tartalmú agar:

1 liter agar táptalaj
1 g dextrose
50 ml defibrinált birkavér

A keveréket Arnold készülékben főzzük 1,5 — 2 órán keresztül. Utána szűrés vattán és szétmérés Roux palackokba 150—200 ml-enként. Sterilezés autoklávban 1 atm. túlnyomásnál 20 percig.

Eredmények

Az első kísérlet alkalmával, mint azt már az anyagok és módszerek részben leírtuk, az állatokat négy csoportba osztottuk és az egyes csoportok különböző mennyiségű és minőségű savót kaptak. Mindegyik egeret 10^7 virulens *L. monocytogenes*-sel fertőztük i. p, majd az állatokat 21 napon keresztül figyeltük. Az eredmények az első ábrán láthatók. A grafikonon a túlélő egerek számát ábrázoljuk az összes fertőzött egér százalékában.



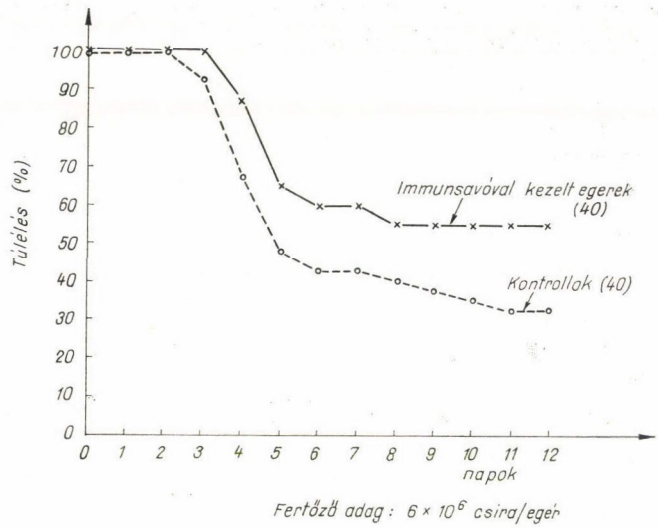
1. ábra

Mivel a különböző mennyiségű anti-listeria immunsavóval kezelt egerek túlélése lényegében nem különbözött, a könnyebb áttekinthetőség érdekében a három csoport eredményét összesítve mutatjuk be. Ezen összesített eredménynyel szemben szerepel az anti-citrobacter savóval kezelt kontroll egerek túlélése. Megállapítható, hogy az anti-listeria savóval kezelt állatok később kezdtek elhullni mint a kontroll egerek, továbbá az előbbiek közül néhány túlélő is maradt. Ez az eredmény az immunsavó védő hatása mellett szól.

A második kísérlet alkalmával az állatok a savót s. c. kapták, egyébként az injectált savó mennyisége és az immunizálás sémája azonos volt az előzővel — összesen 0,55 ml savó 11 részletben —. Ebben a kísérletben két állatcsoporttal dolgoztunk. Az egereket 6×10^6 csírával fertőztük i. p. Eredményeinket a második ábrán mutatjuk be.

Az első kísérlet eredményeihez hasonlóan megállapítható, hogy az antilistéria savóval kezelt egerek esetében az elhullás később kezdődött, mint a

kontroll állatok között. Az is megfigyelhető, hogy jelen kísérletben a kontroll egerek sem pusztulnak el mind, mert a fertőző adag LD_{50} érték körüli volt. Viszont az anti-listeria savóval kezelt egerek között több volt a túlélő, mint a kontroll állatok esetében. Ezek az adatok egyértelműen bizonyítják, hogy a humoralis ellenanyagok szerepét nem lehet tagadni.



2. ábra.

Megbeszélés

A *L. monocytogenes* baktériummal szemben kialakuló immunitást a cellularis immunitás klasszikus példájaként említik. Ezen immunitásra általában jellemzőnek tartják, hogy nem élő kórokozót tartalmazó vakcinával védettséget nem lehet kiváltani az állatokban és hogy a védettség passzív immunizálással nem vihető át normál egyedekbe *(Hahn* 1972, *Mackaness* 1962, *Miki és mt* 1964, *Osebold és mt* 1957, *Zinkernagel és mt* 1974). Élő törzzsel végzett fertőzés után jelentős fokú rezisztencia alakul ki *(Lane és mt* 1972, *Mackaness* 1962, *Miki és mt* 1964, *Osebold* és mt 1957). Ez a rezisztencia élő sejtek segítségével átvihető normál recipiensbe *(Hahn* 1972, *Lane és mt* 1972, *Miki és mt* 1964, *North* 1973, *Zinkernagel és mt* 1974). A kialakuló rezisztencia aspecifikus kereszt-rezisztenciával is járhat *(Dodd* 1970, *Hahn* 1972, *Halliburton és mt* 1972, *Silverman és mt* 1963). A rezisztens szervezet rendszerint túlérzékeny is. A túlérzékenység a fertőző baktériummal szembeni cellularis immunitás egyik megnyilvánulása lehet *(Dodd* 1970, *Mackaness* 1962, 1964, *Miki és mt* 1964, *North* 1973, *Pearson és mt* 1974). Az intracellularis parazita nem képes szaporodni a fertőzést túlélt

állatokból származó és sejttenyészetben fenntartott sejtekben, függetlenül attól, hogy a tápfolyadékban jelen van-e immunsavó vagy sem, viszont a normál sejtekben immunsavó jelenlétében is szaporodik (*Miki és mt* 1964, *Njoku—Obi és mt* 1962).

Korábban publikált eredményeink szerint, az egér-salmonellosis immunviszonyai nem értelmezhetők csak az előbb felsorolt kritériumok alapján (*Rauss és mt* 1964, 1971, *Ralovich* 1971). Ezen tapasztalataink vezettek el bennünket a Listeria immunitás kérdésének a tanulmányozásához. Tisztázni kívántuk, vajon a Listeria fertőzés elleni védettségben teljesen mellőzhetők-e a humoralis ellenanyagok.

Mint azt kísérleti adataink igazolják, a passzív immunizálásnak van protektív hatása. Ez pedig azt jelenti, hogy a humoralis ellenanyagoknak valamilyen formában szerepük van. Véleményünk szerint a humoralis immunitás szerepe mellett szólnak még a következő megfigyelések:

1. A mesterséges és a természetes fertőzések kapcsán állatokban megfigyelt immunológiai változások (*Ivanov és mt* 1972, *Kemenes* 1955, *North* 1973).

2. Magyar állatorvosoknak a juhok immunizálása során szerzett tapasztalatai (*Kiss és mt* 1961, 1962, *Szemerédi* 1972, *Szemerédi és mt* 1961, *Szemerédi és mt* 1962).

A humoralis ellenanyagoknak a Listeria immunitásban játszott szerepét illetően kevés konkrét ismeretünk van. Ezt további vizsgálatoknak kell tisztázni.

Joggal vetődhet fel a kérdés, hogyan lehetséges, hogy a kutatók nagy többsége nem figyelte meg a humoralis ellenanyagok szerepét. Ez a kérdés két oldalról is megközelíthető. Egyrészt metodikai oldalról, másrészt az immunitás fogalmának az értelmezése alapján. Szerintünk a celluláris rezisztencia és a humoralis immunitás vizsgálatánál a kísérleti feltételek annyira különbözőek, hogy az eredmények általában nem összehasonlíthatók. Pl.: Az egyszeri savóadás hatása semmi esetre sem érhet fel a fertőzést túlélt állat egész szervezetének a védekező kapacitásával (*Mackaness* 1962, *Osebold és mt* 1957). Az is előfordult, hogy nem vettek figyelembe olyan eredményt, mely nem illett szervesen az elképzeléshez, de ami az ellenanyagok szerepét igazolta (*Miki és mt* 1964). Az immunitás értelmezését illetően úgy véljük, hogy abszolút érvényű immunitást egyetlen fertőzés esetén sem reális elvárni. A védettség mindig egy dinamikus kölcsönhatás pozitív irányú eredője, mely viszont könnyen ellentétes előjelűvé válhat, ha az egyes faktorok mennyiségi vagy minőségi aránya megváltozik.

Eddigi eredményeink messzemenő következtetések megtételére nem jogosítanak fel, viszont felhívják a figyelmet, hogy további megfigyelések kellenek ezen bonyolult probléma megismeréséhez.

Összefoglalás

A szerzők passzív savókezelésben részesítettek egereket, majd virulens *L. monocytogenes*-sel fertőzték az állatokat. Az anti-listeria immunsavóval kezelt egerek közül több állat élte túl a fertőzést, mint az anti-citrobacter savóval immunizáltak közül. Emellett a homolog savóval kezelt egerek elhullásának a dinamikája is megváltozott. Eredményeik amellett szólnak, hogy a Listeria immunitás sem tekinthető kizárólag ún. „cellularis" immunitásnak.

IRODALOM

Dodd, R. Y.: Infect. Immunity **1,** 511 (1970).
Emődy, L. és *Ralovich, B.:* Előadás a 6. Nemzetközi Listeriosis Symposiumon, Sutton Bonington, (1974).
Hahn, H.: Membranfunktion, Theorie und klinische Bedeutung Dynamische Grenzen. 6. Deidescheimer Gespräch, Knoll AG, 67 Ludwigshafen/Rhein, 68. o. (1972).
Halliburton, B. L. és *Hinsdill, R. D.:* Infect. Immunity **5,** 42 (1972).
Ivanov, I., és *Massalsky, N.:* Acta microbiol. Acad. Sci. hung. **19,** 433 (1972).
Kemenes, F.: Magyar Állatorvosok Lapja **10,** 115 (1955).
Kiss, S. és *Pesti, L.:* Magyar Állatorvosok Lapja **16,** 352 (1961).
Kiss, S., és *Pesti,* L.: Magyar Állatorvosok Lapja **17,** 405 (1962).
Lane, F. C. és *Unanue, E. R.:* J. Exptl. Med. **135,** 1104 (1972).
Mackeness, G. B.: J. Exptl. Med. **116,** 381 (1962).
Mackaness, G. B.: J. Exptl. Med. **120,** 105 (1964).
Miki, K. és *Mackaness, G. B.:* J. Exptl. Med. **120,** 93 (1964).
Nojoku-Obi, A. N. és *Osebold, J. W.:* J. Immunol. **89,** 187 (1962).
North, R. J.: J. Exptl. Med. **138,** 342 (1973).
Osebold, J. W. és *Sawyer, M. T.:* J. Immunol. **78,** 262 (1957).
Pearson, L. D. és *Osebold, J. W.:* Infect. Immunity **9,** (1974).
Ralovich, B.: A salmonellosisok pathomechanismusának, immunológiájának és a kórokozó virulentiájának problémái. Kandidátusi értekezés, Pécs, (1971).
Rauss, K. és *Ralovich, B.:* Előadás a Magyar Mikrobiológiai Társaság 4. Kongresszusán, Budapest, (1964).
Rauss, K. és *Ralovich, B.:* Zbl. Bakt. I. Abt. Orig. **216,** 32 (1971) és Orvostudomány **22,** 127 (1971).
Silverman, S. J., Elwell, L. P. és *Drawdy, J. F.:* J. Bact. **86,** 355 (1963).
Szemerédi, Gy.: Acta microbiol. Acad. Sci. hung. **19,** 437 (1972).
Szemerédi, Gy. és *Nagy, G.:* Magyar Állatorvosok Lapja **17,** 43 (1962).
Szemerédi, Gy. és *Szabó, I.:* Magyar Állatorvosok Lapja **16,** 351 (1961).
Zinkernagel, R. M., Blanden, R. V. és *Langman, R. E.:* J. Immunol. **112,** 496 (1974).

Pécsi Orvostudományi Egyetem Mikrobiológiai Intézet és
Országos Közegészségügyi Intézet, Budapest

ADATOK AZ ANTIPYROGEN IMMUNITÁS SPECIFICITÁSÁHOZ

RALOVICH BÉLA a biológiai tudományok kandidátusa, LÁNG CSABA
és VERTÉNYI ADÉL

Közlésre érkezett: 1975. VI. 10.

Korábbi vizsgálatainkkal mi is bebizonyítottuk, hogy létezik antipyrogen (*Ralovich és Láng* 1971, *Ralovich* és *Láng* 1972, *Ralovich és mts-ai* 1974), ill. antiendotoxikus immunitás (*Ralovich és mts-ai* 1974). Eredményeink alapján azt is megállapítottuk, hogy a kialakuló immunitás mindig antigénspecifikus, továbbá felvetettük annak a lehetőségét is, hogy bár minden endotoxin fiziológiai hatása látszólag azonos, az egyes endotoxinok pyrogenitásért felelős struktúrájának antigenitása különböző lehet.

Eddigi eredményeink értékének és módszerünk használhatóságának megállapítása céljából végeztük el az újabb kísérleteket, melyek során a *S. minnesota Re 595* és az ugyancsak Re mutáns *S. typhi murium* SL 1102 törzsek között az antipyrogen kereszt-immunitást tanulmányoztuk. Ugyanis egyes szerzők szerint e két Salmonella Re mutánsból kivont glycolipid már csak KDO-t, lipid A-t és etanolaminfoszfátot tartalmaz (*Stocker és mts-ai* 1966, *Lüderitz és mts-ai* 1966, *Lüderitz és mts*-ai 1968, *Gmeiner és mts-ai* 1971, *Lüderitz és mts*-ai 1971, *Lüderitz és mts-ai* 1973), és feltételezik, hogy e két törzsből származó anyag szerkezete is azonos (*Lüderitz és mts-ai* 1971, *Lüderitz és mts-ai* 1968, *Gmeiner és mts-ai* 1971). Ha tehát módszerünk segítségével megfelelő keresztvédést tudunk igazolni a két endotoxin vonatkozásában, ami csak az antigénszerkezet-rokonsága alapján képzelhető el, akkor eljárásunk hűen tükrözi vissza a vizsgált LPS-ek pyrogenitásáért felelős csoportjának antigenitását.

Ez nemcsak azt jelentené, hogy eredményeink reálisak, hanem azt is, hogy a módszerünkkel kimutatott különbségek az antigénszerkezet tényleges differenciáira utalnak.

Anyagok és módszerek

Törzsek: Az *E. coli* 083 törzs intézetünk törzsgyűjteményéből származik. A *S. minnesota* Re 595 törzset *O. Lüderitz* (Max—Plank. Institut für Immunbiologie, D78 Freiburg, Germany) az *E. coli* F 576 törzset *G. Schmidt* (lásd *O. Lüderitz* címét) küldte. A *S. typhi murium* SL 1102 törzset pedig *V. Krishnapillai* (Monash University, Department of Genetics, Clayton Victoria 3168 Australia) bocsájtotta rendelkezésünkre. A törzsekért e helyen is köszönetünket fejezzük ki.

LPS preparálása: A törzseket 48 órán keresztül folyékony táptalajban „Psycrotherm" (New Brunswick Sci. Co. Inc.) rázótermosztátban tenyésztettük. Centrifugálás és acetonnal való szárítás után *Westphal és mtsai* (1952) módszere szerint állítottuk elő a nyers glycolipidet, melyet megfelelő dializálás után liofileztünk. Az így kapott anyagból steril fiziológiás konyhasó oldattal törzsoldatot készítettünk, melyet ampullákba zárva jégszekrényben tároltunk.

Táptalaj:

Casein hidrolizátum (Human)	20 gr
Élesztőkivonat (Human)	10 gr
Dextrose	1 gr
pH: 7,2	
20' autoklavozás 121 C°-on	

Kísérleti állatok: Kísérleteinket saját tenyésztésű hím és nőstény nyulakon végeztük.

Az *aktív immunizálás* sémája korábbi közleményeinkben található meg *(Ralovich és Láng* 1972, *Ralovich és mtsai* 1974).

A *pyrogén reakciót* a Pharmacopeia Hungarica (1967) előírásainak megfelelően végeztük el.

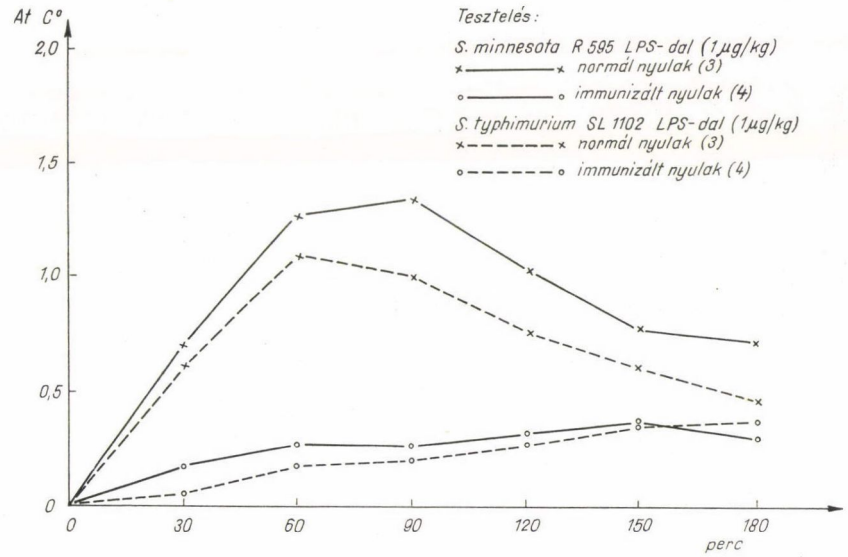
A *hőmérőzés* ELLAB típusú Universal Thermométerrel történt (ELLAB Co., Copenhagen, Denmark).

Eredmények

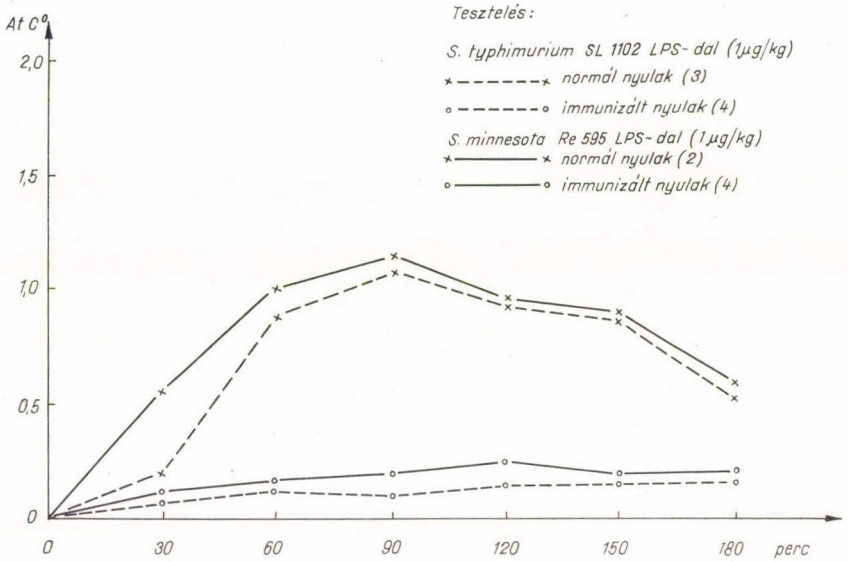
Elképzeléseinknek megfelelően először azt vizsgáltuk, hogy milyen antipyrogen hatás figyelhető meg, ha a lázreakció kiváltása előtt a nyulakat *S. minnesota Re 595* törzzsel aktívan immunizáltuk. Erre vonatkozó eredményeinket tüntettük fel az első ábrán.

A korábbi eredményeinknek megfelelően megállapítható, hogy a homolog *S. minnesota Re 595* glycolipiddel szemben védettség alakult ki, de az is megállapítható, hogy ugyanolyan fokú védettség alakult ki a *S. typhi murium SL 1102* törzsből nyert endotoxinnal szemben is. Ez jelentheti azt, hogy a két glycolipidnek az antigén szerkezete azonos. További bizonyítékok érdekében a tesztelés előtt *S. typhi murium SL 1102* törzzsel immunizáltuk a nyulakat. A pyrogén reakció eredményeit a második ábrán mutatjuk be.

Ezen kísérlet alkalmával is, az előzőhöz hasonló megállapításokat tehettünk. Nevezetesen, jelen esetben is, nemcsak a homolog *S. typhi murium SL 1102* törzsből származott glycolipiddel, hanem a heterológgal, a *S. minnesota Re 595* törzsből származóval szemben is védett a *S. typhi murium SL 1102* törzzsel végzett aktív immunizálás. Ezek a megfigyelések egyrészt összhangban állnak azokkal a megállapításokkal, melyek szerint a két glycolipid azonos szerkezetű, másrészt igazolják módszerünk használhatóságát.

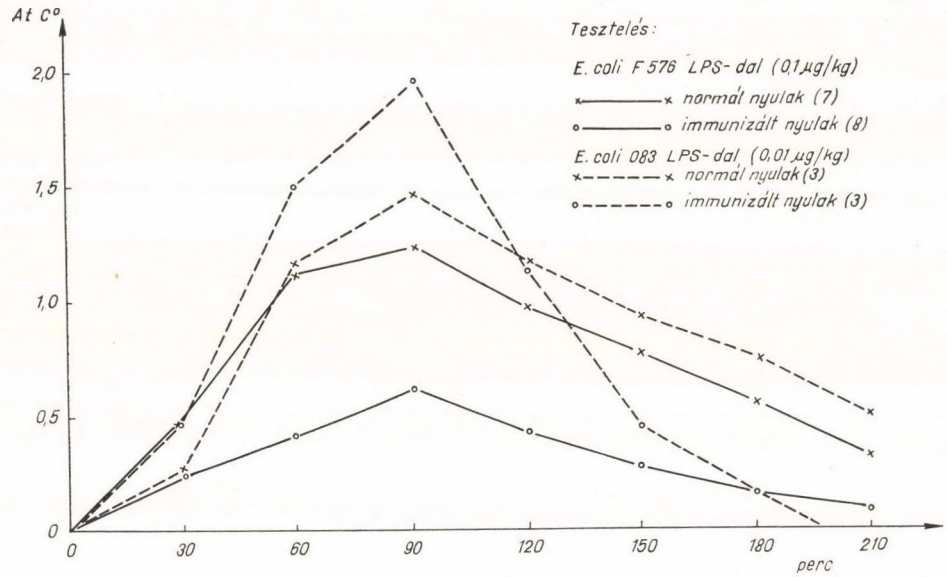


1. ábra. S. minnesota Re 595 törzzsel immunizált és normál nyulak lázreakciója (átlagértékek)

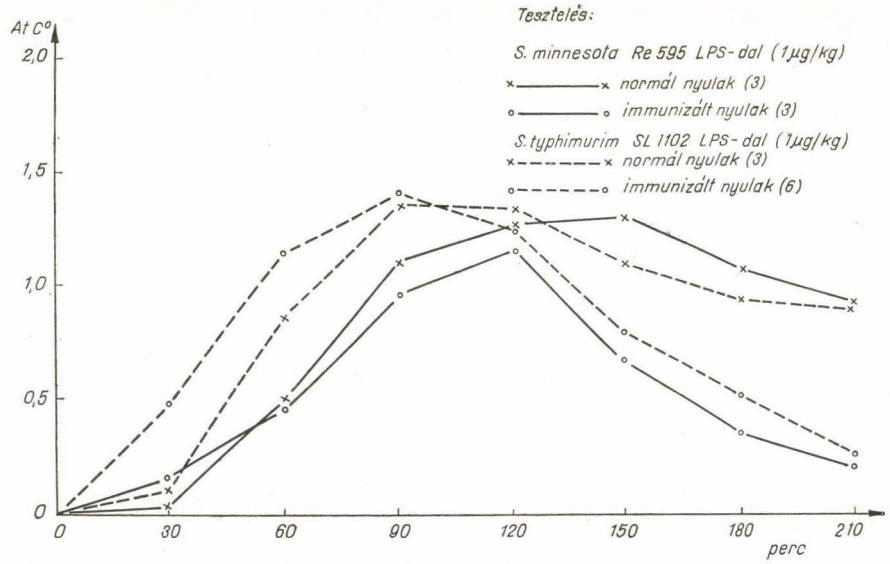


2. ábra. S. typhimurium SL 1102 törzzsel immunizált és normál nyulak lázreakciója (átlagértékek)

A továbbiakban azt vizsgáltuk, hogy milyen fokú azonosság lehet az *E. coli 083* és az *E. coli F 576*, továbbá az előbb említett két Salmonella Re mutáns pyrogenitásért felelős struktúrája között. Ennek érdekében a következő kísérletben a nyulakat az *E. coli F 576* jelzésű törzzsel immunizáltuk. A külön-



3. ábra. E. coli F 576 törzzsel immunizált és normál nyulak lázreakciója (átlagértékek)



4. ábra. E. coli F 576 törzzsel immunizált és normál nyulak lázreakciója (átlagértékek)

böző kivonatokkal elvégzett lázreakciók eredményeit a harmadik és negyedik ábrán szemléltetjük.

Megállapítható, hogy amikor az immunizált nyulakat a homolog *E. coli* F 576 LPS-al teszteltük, lényegesen kisebb hőemelkedést tapasztaltunk, mint a

normál kontroll nyulak esetében. Vagyis az antipyrogén immunitás eme LPS-pyrogén hatásával szemben is kialakult.

Ha viszont a lázreakciót az *E. coli 083* LPS-dal váltottuk ki, akkor az *E. coli F 576* törzzsel immunizált nyulak esetében is legalább olyan mértékű, ha nem nagyobb, lázat tapasztaltunk, mint a kontrollok esetében. Ez amellett szólhat, hogy a két coli törzs pyrogenitásért felelős receptora eltérő antigenitású.

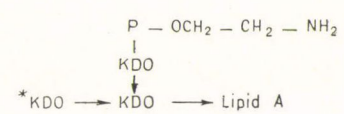
A továbbiakban azokról a megfigyelésekről számolunk be, melyekhez akkor jutottunk, amikor az *E. coli F 576* törzzsel immunizált nyulakat *S. minnesota Re 595* vagy *S. typhi murium SL 1102* glycolipiddel teszteltük.

A grafikonok lefutásából megállapítható, hogy az immunizált és a nem immunizált nyulak lázreakciója között csak csekély különbség figyelhető meg. Ez pedig azt jelentheti, hogy az *E. coli F 576* endotoxin pyrogenitásért felelős receptora, valamint a két Salmonella Re mutáns hasonló hatásért felelős struktúrája, antigenitás szempontjából különbözik egymástól.

Megbeszélés

Korábbi vizsgálatainkkal mi is igazoltuk az antipyrogen *(Ralovich és Láng* 1970, *Ralovich és Láng* 1972, *Ralovich és mts-ai* 1974), ill. antiendotoxikus immunitás létezését *(Ralovich* 1971, *Ralovich és mts-ai* 1974). Rámutattunk arra, hogy a jelenség mindig antigén specifikus. Továbbá eredményeink alapján felvetettük annak lehetőségét is, hogy bár minden endotoxin fiziológiai hatása látszólag azonos, az egyes endotoxinok pyrogenitásért felelős receptora antigenitás szempontjából különbözhet. Eme állításunk igazát, továbbá módszerünk reális értékét akartuk tisztázni jelen dolgozatunkban.

A Salmonella törzsek sejtfalának kémiai összetételét és szerkezetét több kutatócsoport is vizsgálta az elmúlt 20 év alatt. A vizsgálatok során különböző R mutánsokat izoláltak, és tisztázták az egyes mutánsok sejtfalából előállított LPS kémiai felépítését is. Jelen ismereteink szerint a Salmonella Re törzsek az egyik legdefektívebb sejtfal-mutánsok. Ezek sejtfalában a bonyolult LPS struktúra helyett már csak KDO-t, lipid A-t és etanolaminfoszfátot tartalmazó glycolipidet találtak. *(Stocker és mts-ai* 1966, *Lüderitz és mts-ai* 1966, *Lüderitz és mts-ai* 1971, *Gmeiner és mts-ai* 1971, *Lüderitz és mts-ai* 1973).



KDO= 2 — keto—3— deoxi — D — mannooktonsav

5. ábra. Az Re glycolipid szerkezete (Dröge és mts-ai 1970, Gmeiner és mts-ai 1971, Lüderitz és mts-ai 1973)

Egyes szerzők szerint a *S. minnesota Re 595* és a *S. typhi murium SL 1102* törzsekből izolált glycolipid összetétele és szerkezte feltehetően azonos *(Lüderitz és mts-ai* 1968, *Gmeiner és mts-ai* 1971, *Lüderitz és mts-ai* 1971). A glycolipid lehetséges szerkezete több szerző szerint is a következő *(Dröge és mts-ai* 1970, *Gmeiner és mts-ai* 1971, *Lüderitz és mts-ai* 1973).

A toxicitásért a lipid A struktúrája a felelős *(Westphal* és *Lüderitz* 1954, *Kim és Watson* 1967, *Nowotny* 1971, *Lüderitz és mts-ai* 1973) „Which is a common component of all LPS, and structurally identical or similar for Enterobacteriaceae" *(Lüderitz és mts-ai* 1968). A lipid A előállítható az LPS-ből és ellene specifikus immunsavó is termelhető *(Galanos és mts-ai* 1971). A szerkezeti felépítésére vonatkozóan is vannak elképzelések *(Lüderitz és mts-ai* 1973).

Úgy tűnik, hogy az antipyrogén, ill. antiendotoxikus immunitásban funkcionáló ellenanyagok specificitása alapvetően két determináns rész függvénye. Az egyik determináns rész a lipid A szerkezete, a másik a KDO-ból álló rész, ill. csillaggal jelölt KDO-hoz kapcsolódó további molekulák volnának (lásd az 5. ábrát). Az Re mutánsok esetében, mivel a lipid A-n kívül a KDO-hoz már további molekula nem kapcsolódik, a glycolipid egyedi antigénspecificitását valószínű a lipid A szerkezete határozza meg.

A korábban elmondottak értelmében az Re mutánsok glycolipidjének kémiai szerkezetét azonosnak tartják. Amennyiben az általunk alkalmazott aktív antipyrogén-immunitást vizsgáló eljárás megfelelő, akkor e két mutáns vonatkozásában azonos mértékű keresztvédést kell megfigyelnünk. Mint ezt már az „Eredmények" részben ismertettük (lásd első és második ábrát), a kémiai vizsgálatok eredményeivel összhangban, mind a *S. typhi murium SL 1102* törzzsel, mind pedig a *S. minnesota Re 595* törzzsel kiváltott immunitás azonos mértékben csökkentette mind a homolog, mind pedig a heterolog glycolipid pyrogén hatását. Ez azt jelenti, hogy módszerünk használható és az általa visszatükrözött különbségek értékelhetők.

A továbbiakban azt vizsgáltuk, hogy az *E. coli F 576* törzzsel nyúlban kiváltott immunitás csökkenti-e pl. az *E. coli 083*, ill a *S. typhi murium SL 1102* vagy a *S. minnesota Re 595* törzsek LPS-jának pyrogén hatását. Ezt azért vizsgáltuk, mert tudni akartuk, hogy a coli R2 core-típusú *E. coli F 576* törzs és az *E. coli 083* törzs pyrogenitásért felelős struktúrája között van-e antigénszerkezeti rokonság. Másrészt az is foglalkoztatott bennünket, hogy vajon az *E. coli F 576* jelű törzs és a Salmonella Re mutánsok között van-e valamilyen szerkezeti azonosság. Ugyanis *Schmidt és mts-ai* (1969) és *Schmidt* (1972) bizonyos serológiai keresztreakciót figyeltek meg a coli R2 „basal LPS" és a *S. minnesota R 60* core struktúrája között.

Mint a harmadik és a negyedik ábrán látható, egyik esetben sem tapasztaltunk kifejezett keresztvédést. Vagyis eredményeink ellene szólnak a szorosabb szerkezeti azonosságnak. A végleges válaszadás előtt azonban még további vizsgálatokat kell végeznünk.

Korábbi munkánkban *(Ralovich és mts-ai* 1974, *Ralovich és Láng* 1972) már beszámoltunk arról, hogy a *S. minnesota Re 595* törzzsel végzett immunizálás után a nyulakban *S. enteritidis* törzsből izolált LPS pyrogen hatása erősen redukált volt. Ez az adat, az eddig elmondottak alapján, amellett szól, hogy ebben a Salmonellában is az Re mutánsok glycolipidjében előforduló receptorral azonos vagy nagyon hasonló a toxicitásért felelős struktúra. Viszont, amikor az *E. coli 083 LPS*-del váltottuk ki a lázat, nem észleltük a pyrogen hatás ilyen csökkenését, ami azt jelenti, hogy az *E. coli 083* toxikus csoportjának a szerkezete különbözik a salmonellákétól. Más vizsgálataink alapján *(Ralovich és Láng* 1973) úgy tűnik, hogy a *Sh. sonnei I.* fázis LPS-jának a toxikus része is elüt antigenitás szempontjából a salmonellákétól, mivel a *S. minnesota Re 595* törzszsel immunizált és a homolog LPS-dal szemben védett nyulak a *Sh. sonnei* endotoxin i. v. injektálására azonnal lázzal reagáltak.

Összefoglalás

A szerzők az antipyrogén immunitás specificitásával és az egyes bélbaktériumok pyrogenitásért felelős struktúrájának hasonlóságával vagy különbségével foglalkoztak dolgozatukban. Vizsgálataikhoz a *S. minnesota Re 595* és a *S. typhi murium SL 1102* törzseket és a belőlük előállított glycolipidet, továbbá az *E. coli 083* és az *E. coli F 576* törzseket és az ezekből extrahált LPS-dot használták.

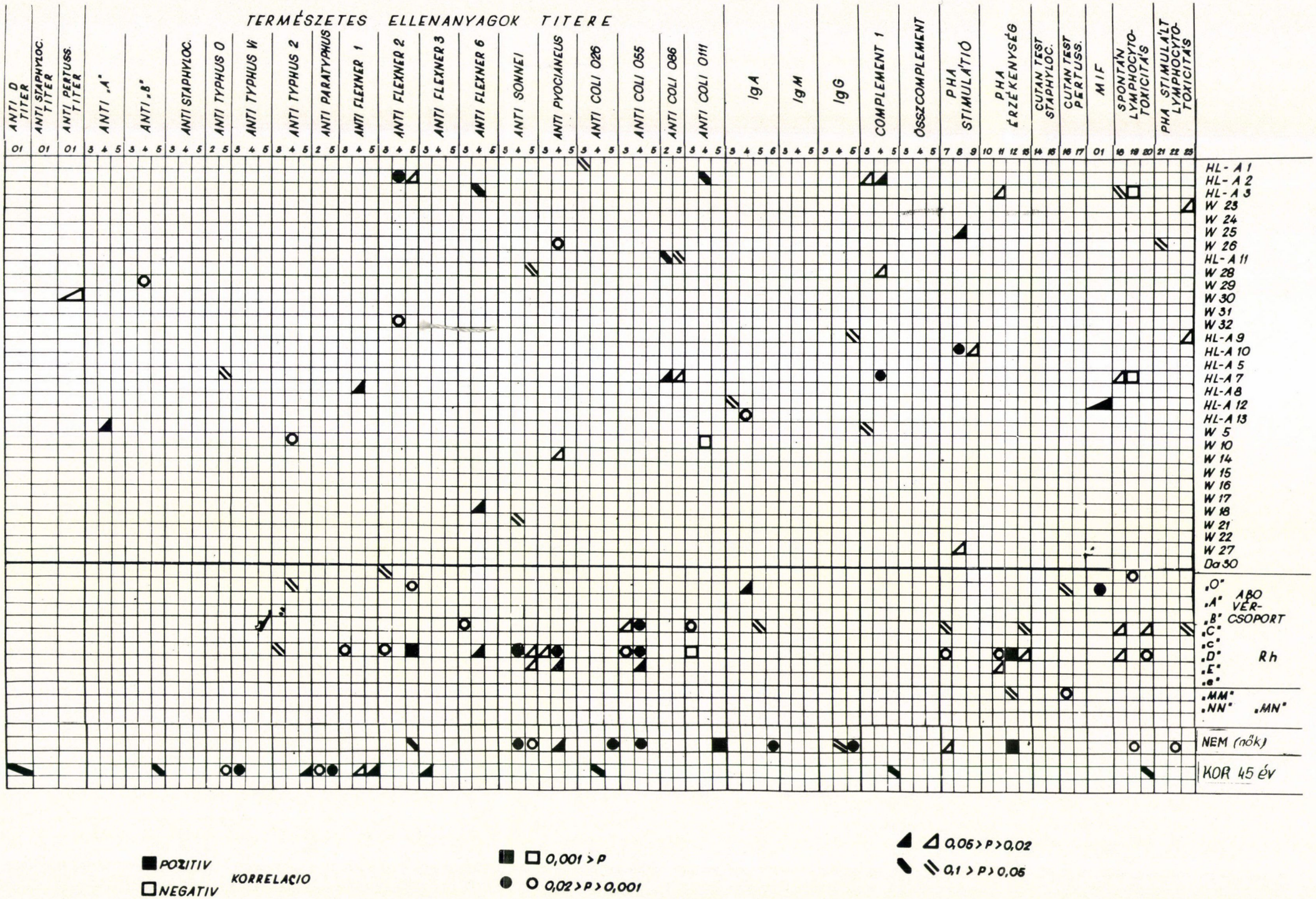
A kémiai vizsgálatok eredményeivel összhangban megállapították, hogy módszerük reálisan tükrözi vissza a pyrogenitásért felelős receptor antigenitását. Következésképpen az eljárásuk segítségével kimutatott különbségek azt jelentik, hogy az egyes endotoxinok pyrogenitásért felelős szerkezetének antigenitása eltérő.

Köszönetnyilvánítás: Köszönetünket fejezzük ki *dr. Alkonyi István* egyetemi tanárnak (POTE Biokémiai Intézet), *dr. Kontrohr Tivadar* kandidátus úrnak és *dr. Szendrei László* egyetemi tanársegédnek (POTE Mikrobiológiai Intézet) a munkával kapcsolatban nyújtott segítségért.

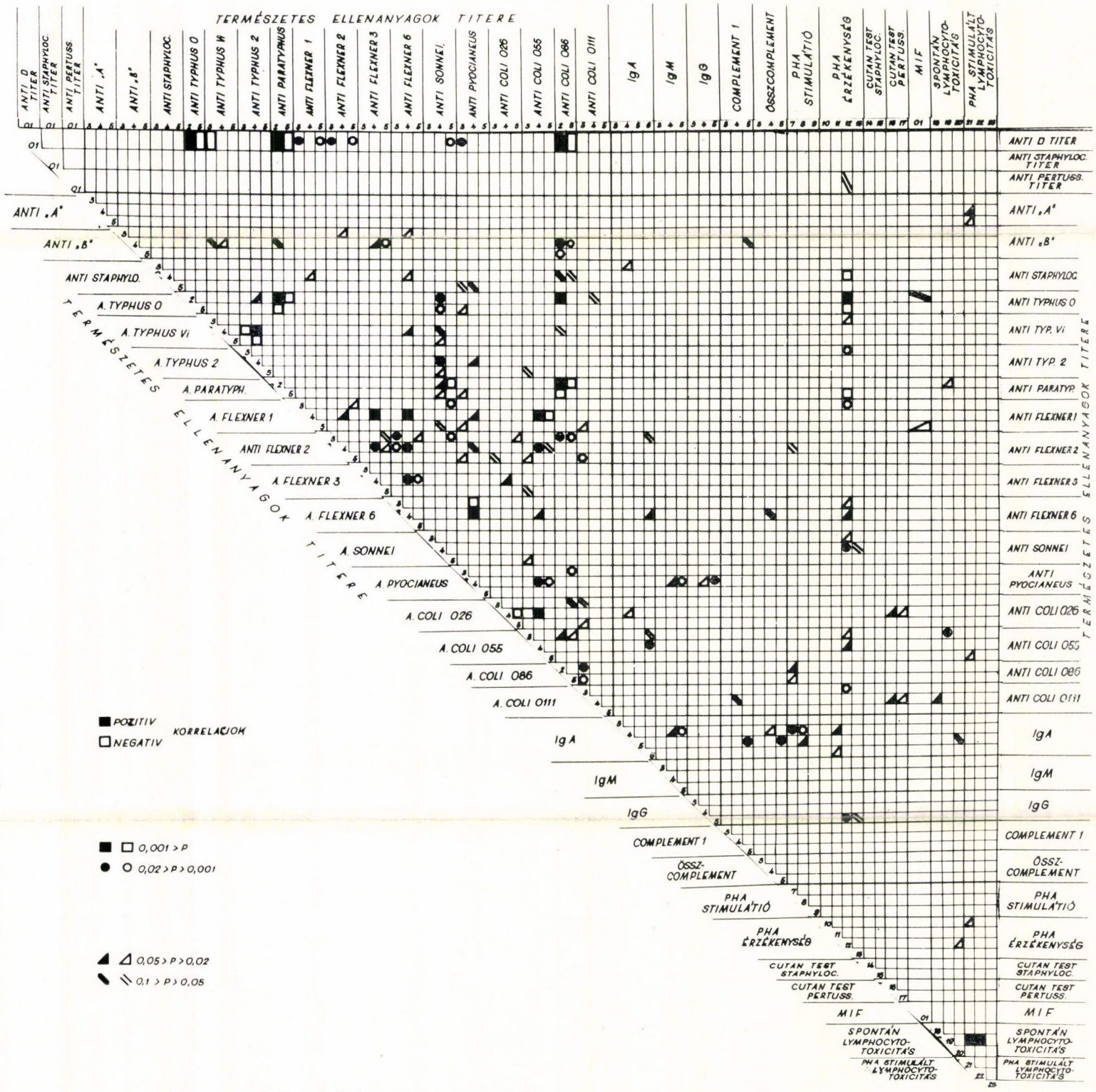
IRODALOM

Dröge, W., Lechmann, V., Lüderitz, O. és *Westphal, O.:* Eur. J. Biochem. **14,** 175 (1970).
Galanos, C., Lüderitz, O. és *Westphal, O.:* Eur. J. Bicohem. **24,** 116 (1971).
Gmeiner, J., Simon, M. és *Lüderitz, O.:* Eur. J. Biochem. **21,** 355 (1971).
Kim, Y. B., és *Watson, D. W.:* J. Bact. **94,** 1320 (1967).
Lüderitz, O., Galanos, C., Risse, H. J., Ruschmann, E., Schlecht, S., Schmidt, G., Schulte-Holthausen, R., Wheat, R., Westphal, O. és *Schlosshardt, J.:* Ann. N. Y. Acad. Sci. **133,** 349 (1966).

Lüderitz, O., Galanos, C., Lehmann, V., Nurminen, M., Rietschel, E. T., Rosenfelder, G., Simon, M. és *Westphal, O.: I.* Infect. Dis. **128,** Suppl. S17 (1973).
Lüderitz, O., Jann, K. és *Wheat, R.:* Comprehensive Biochemistry (Eds.: *Florkin, M., Stotz, E. H.*) Vol.: 26A, Elsevier Publ. Co., Amsterdam, 1968, p. 105.
Lüderitz, O., Westphal, O., Staub, A. M. és *Nikaido, H.:* Microbial Toxins (Eds.: *Weinbaum, G., Kadis, S., Ajl, S. J.*) Vol.: 4, Academic Press, New York, 1971, p. 145.
Nowotny, A.: Naturwissenschaften **58,** 397 (1971).
Pharmacopeia Hungarica (Ed.: *Schumann, Z-né.*) Vol.: 1, Medicina Könyvkiadó, Budapest, 1967, p. 173.
Ralovich, B.: A salmonellosisok pathomechanismusának, immunologiájának és a kórokozó virulentiájának problémái. Kandidátusi értekezés, Pécs, 1971.
Ralovich, B., és *Láng, Cs.:* Orvostudomány **21,** 325 (1970).
Rolovich, B., és *Láng, Cs.:* Acta physiol. Acad. Sci. hung. **42,** 75 (1972).
Ralovich, B., Emődy, L. és *Láng, Cs.:* JHEMI **18,** 439 (1974).
Schmidt, G.: Zbl. Bakt. I. Abt. Orig. A. **220,** 472 (1972).
Schmidt, G., Jann, B. és *Jann, K.:* Eur. J. Biochem. **10,** 501 (1969).
Stocker, B. A. D., Wilkinson, R. G., és *Mäkelä, P. H.:* Ann. N. Y. Acad. Sci. **133,** 334 (1966).
Westphal, O., és *Lüderitz, O.:* Angew. Chem. **66,** 407 (1954).
Westphal, O., Lüderitz, O., és *Bister, F.:* Z. Naturforsch. **7b,** 148 (1952).

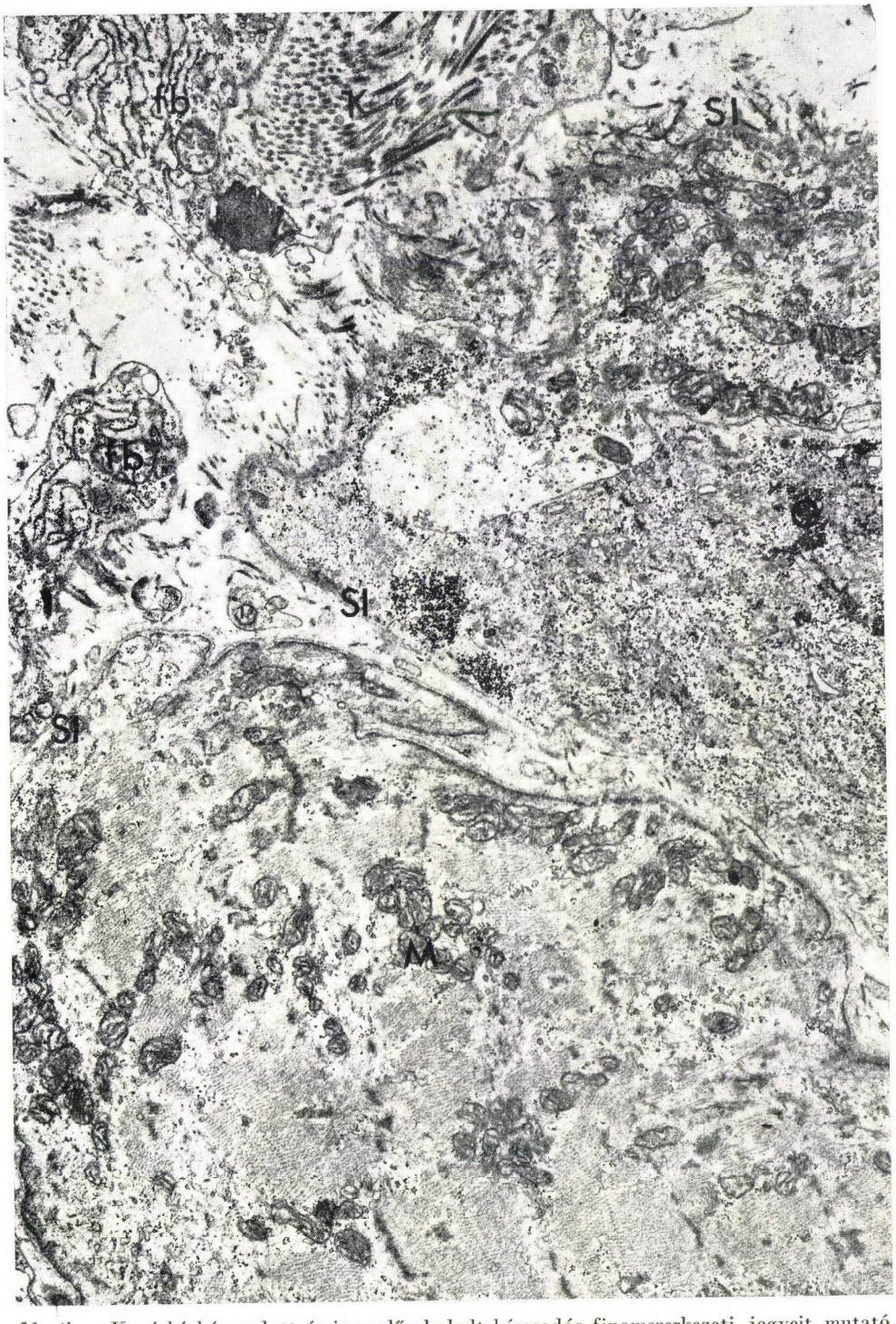


1 ábra: Az immunreaktivitás paramétereinek korrelációi s HL-A és a vércsoport antigénekhez



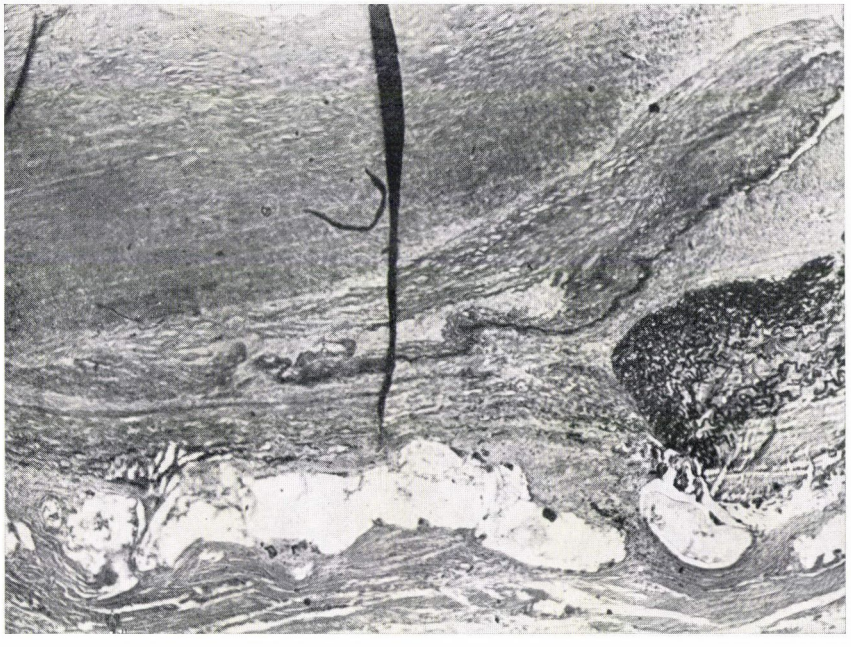
2 ábra: A különböző immunreaktivitás parameterek egymás közötti korrelációi

Az 1-es és 2-es ábra jelzéseinek értelmezése: 0 = gyenge immunválasz; 1 = erős immunválasz; 2 = természetes ellenanyagok alacsony titerértékei a kontroll csoporthoz viszonyítva, vagy a természetes ellenanyagok alacsony és közepes érzékei a „Workshop" csoport adatai alapján; 3 = az immunvizsgálatok alacsony értékei; 4 = az immunvizsgálatok közepes értékei; 5 = az immunvizsgálatok magas értékei; 6 = abnormalisan magas immunglobulin értékek; 7 = alacsony c. p. m. értékek; 8 = közepes c. p. m. értékek; 9 = magas c. p. m. értékek; 10 = PHA hypersensitivitás (alacsony PHA dózisoknál észlelt maximális stimulálhatóság); 11 = PHA normosensitivitás (közepes PHA dózisoknál észlelt maximális stimulálhatóság); 12 = PHA hyposensitivitás (magas PHA dózisoknál észlelt maximális stimulálhatóság) ;13 = jellegtelen PHA sensitivitás; 14,16 = hyporeaktív; 15,17 = hyperreaktív; 18,21 = szignifikans cytotoxicus aktivitás, tekintet nélkül annak erejére; 19,22 = 4,5% ^{51}Cr release feletti cytotoxicus aktivitás; 20,23 = 15% ^{51}Cr release feletti cytotoxicus aktivitás; A = spontán lymphocytoxicus aktivitás; B = PHA jelenlétében kifejtett cytotoxicus aktivitás;

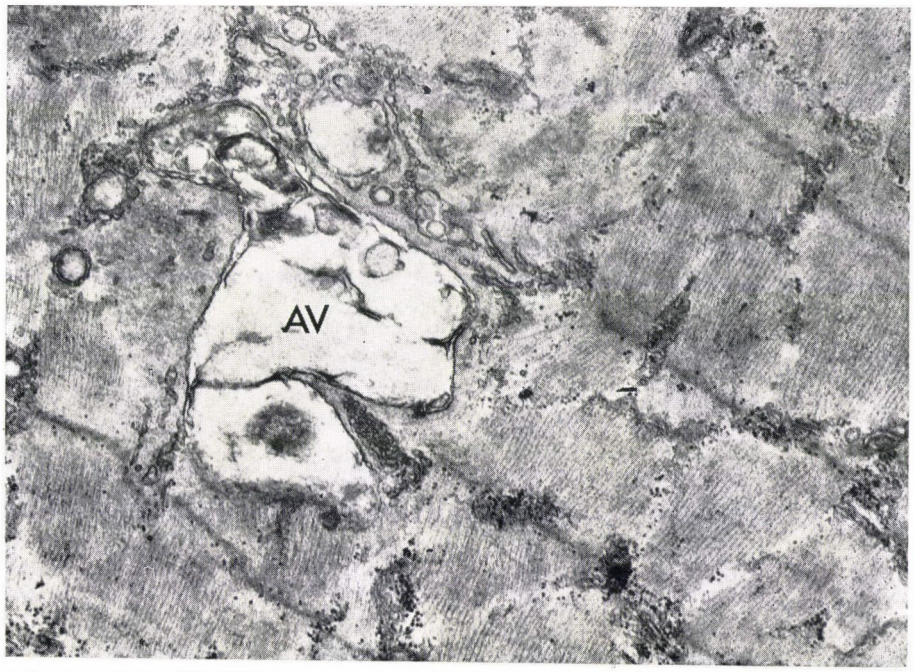


11. ábra. Kevésbé károsodott és igen előrehaladt károsodás finomszerkezeti jegyeit mutató izomrost foglal helyet egymás mellett. A kollagén rostokban gazdag endomysiumban fibroblastsejt-nyúlványok figyelhetők meg. Sl: sarcolemma, M: mitochondrium, G: glycogen, K: kollagén, fb: fibroblast-sejtnyúlvány. Nagyítás: 14 700×

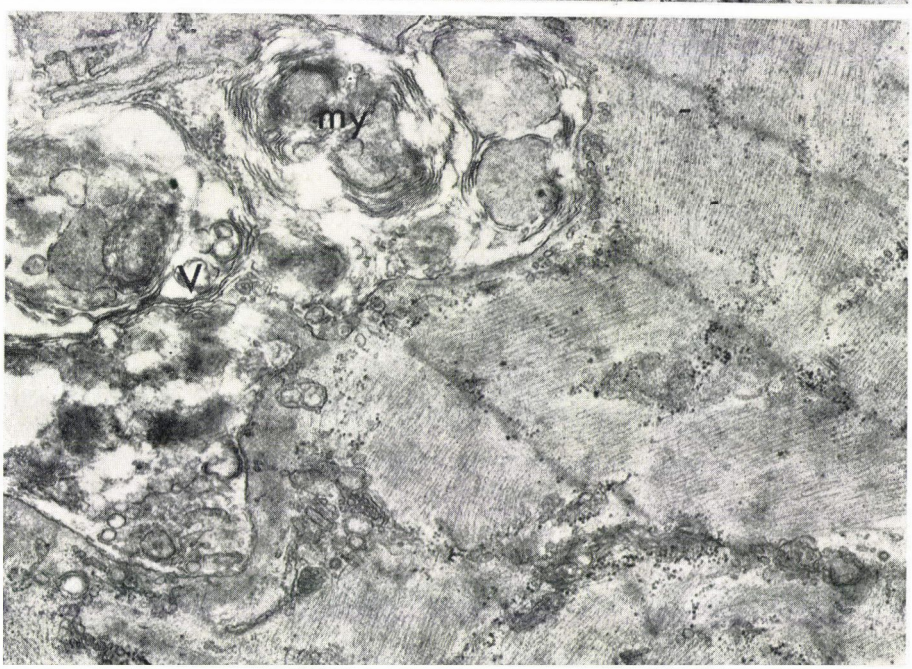
12. ábra. Az izomrostok között keskenyfalú capillaris foglal helyet. Intracapillarisan plasmasejt és lymphocyta figyelhető meg. Cap: capillaris, Ly: lymphocyta, Pl: plasmasejt, M: mitochondrium, Sl: sarcolemma, Mf: myofibrillum. Nagyítás: 15 200×



11. ábra: A saját vena transplantatum és az a. femoralis superficialis közötti vég a véghez anastomosis részlete 13 hónappal a műtét után. Fenn neointima. Jobbra kifejezett elasticus lamellákat mutató arteria-részlet. Balra középen vena folt. Jobbra lenn az illesztés helyén var at. Az adventitialis rész mind a venafolt, mind az arteria mentén histotechnikai úton kioldott ragasztóanyag helyét mutatja, (lenn) kötőszövettel körülvéve

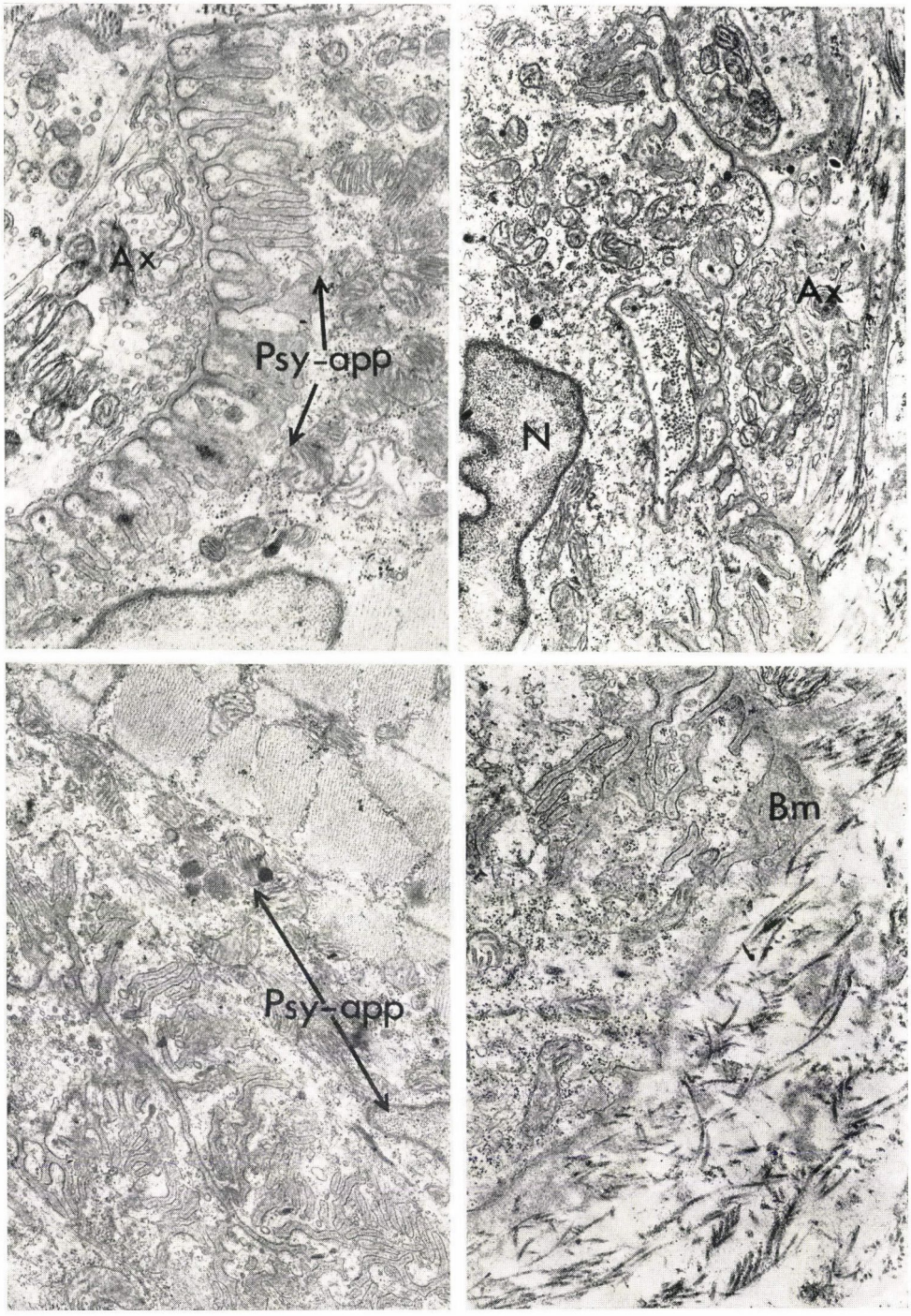


a

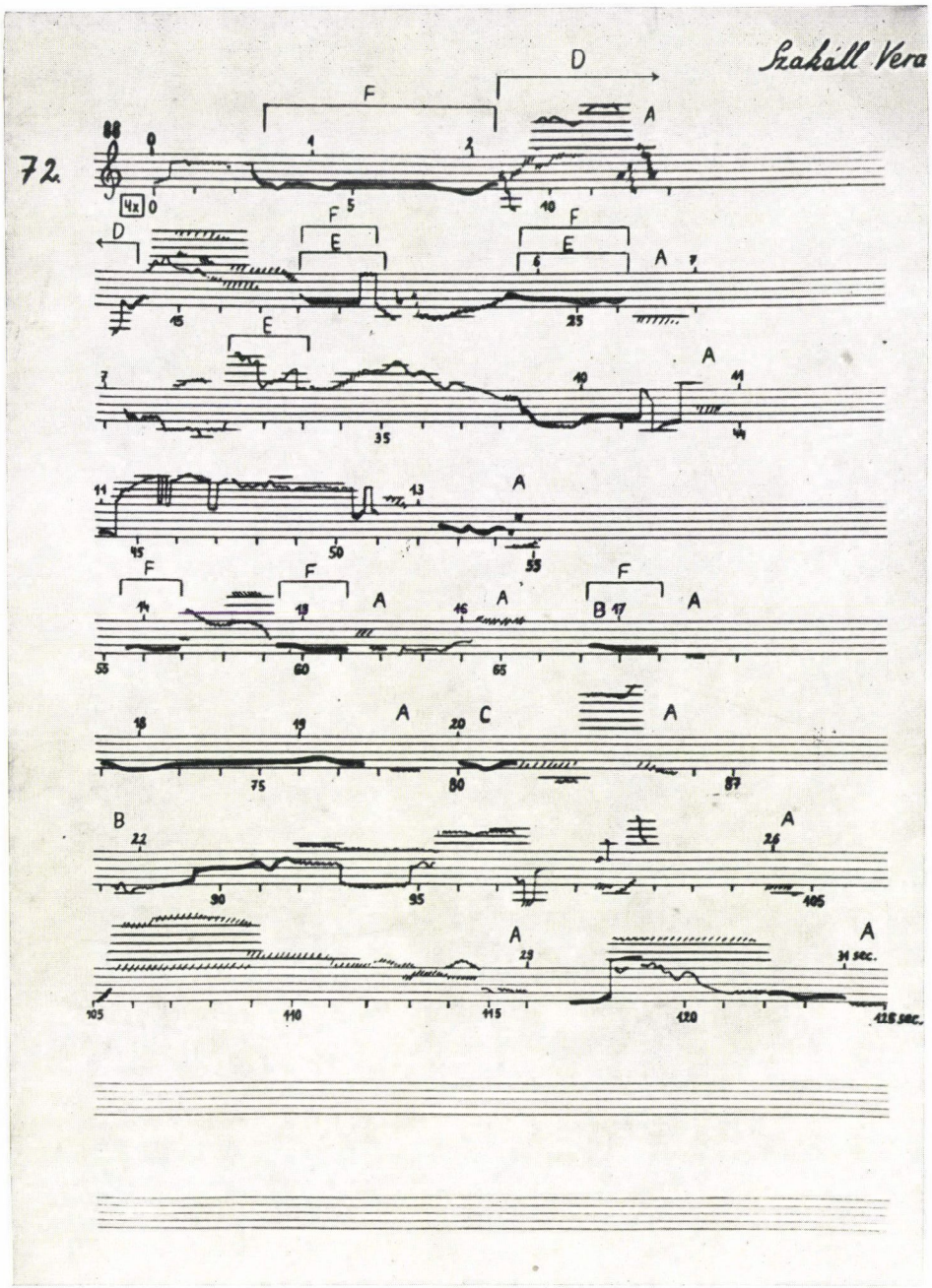


b

9. ábra. a) A basalis sarcoplasmában károsodás jeleit mutató myofibrillumoktól határoltan körülírt óriás-vacuola figyelhető meg. Környezetében számos apró, sorokba rendeződő vesicula foglal helyet. AV: vacuola. *b)* A vacuolában myelin-figura, töredezett vesicularis képletek, szerkezet nélküli anyaghalmazok foglalnak helyet. my: myelin-figura, V: vesicula. Nagyítás: a: 22 000×; b: 22 000×

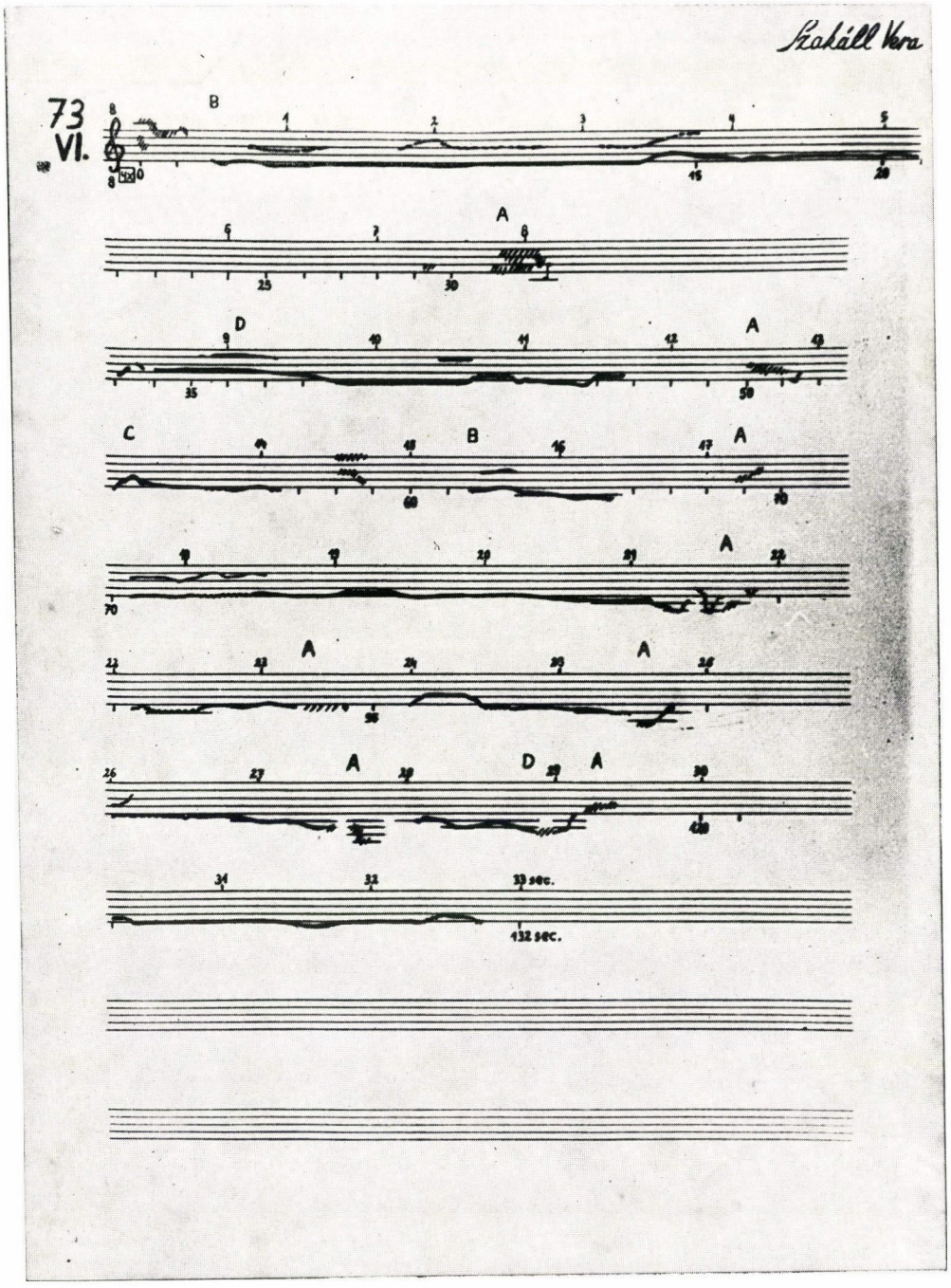


10. ábra. a) A neuromuscularis junctió finomszerkezeti képe viszonylag jól megőrzött, a postsynaptikus apparatusban a redők kisfokú torzulása látszik. Ax: terminalis axon, Psy-app: postsynaptikus apparatus. *b)* A postsynaptikus apparatus kiterjedt, a redők megrövidültek, a terminalis axonban a vesiculák száma a szokottnál kevesebb. N: mag, Ax: terminalis axon. *c)* A synaptikus rés kiszélesedett, a postsynaptikus apparatus erősen torzult. Psy-app: postsynaptikus apparatus. *d)* A terminalis axon retrahalt, a synaptikus résben basalmembranszerű anyag és kollagén rostok szaporodtak fel. Bm: basalmembranszerű anyag. Nagyítás: a: 16 500×; b: 16 500×; c: 18 500×; d: 16 500×



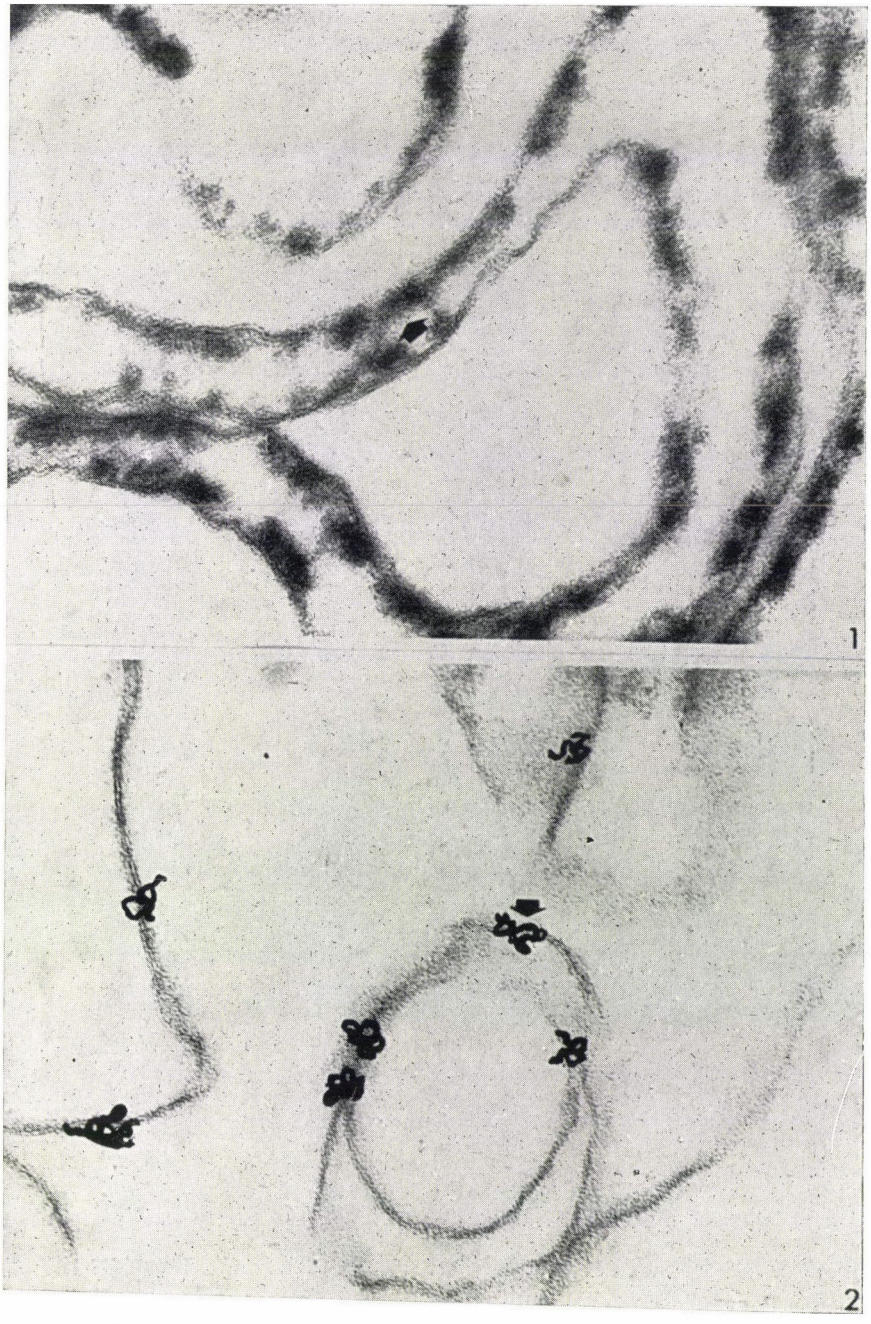
1. Sz. V. sírásának ábrázolása 4 hónapos korban.

8 és 88 a violinkulcs felett az ábrázolt hangmagasságnál *1* vagy 2 oktávval magasabb hangadást jelent.
8 a violinkulcs alatt az ábrázolt hangmagasságnál *1* oktávval mélyebb hangadást jelent.

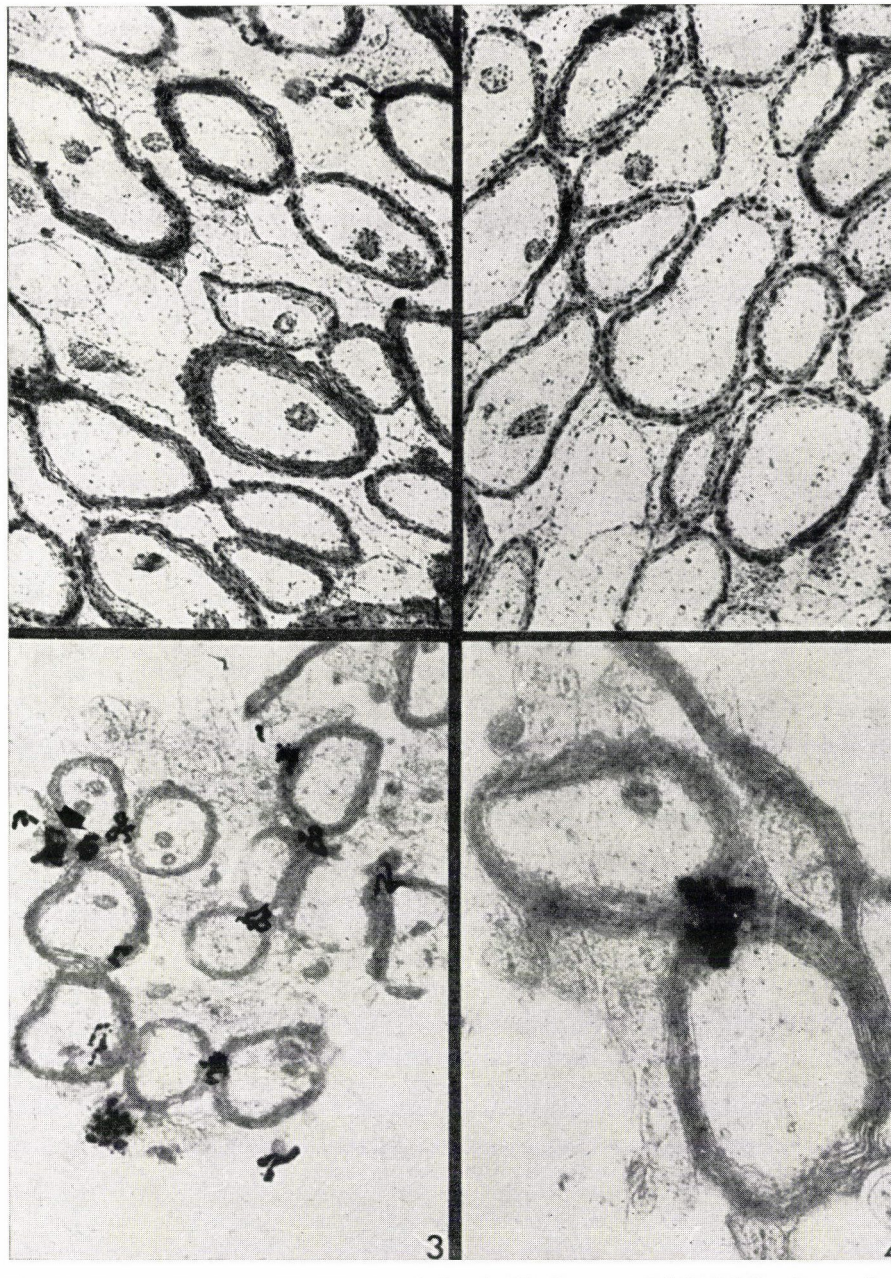


2. Sz. V. sírásának ábrázolása 11/2 éves korban

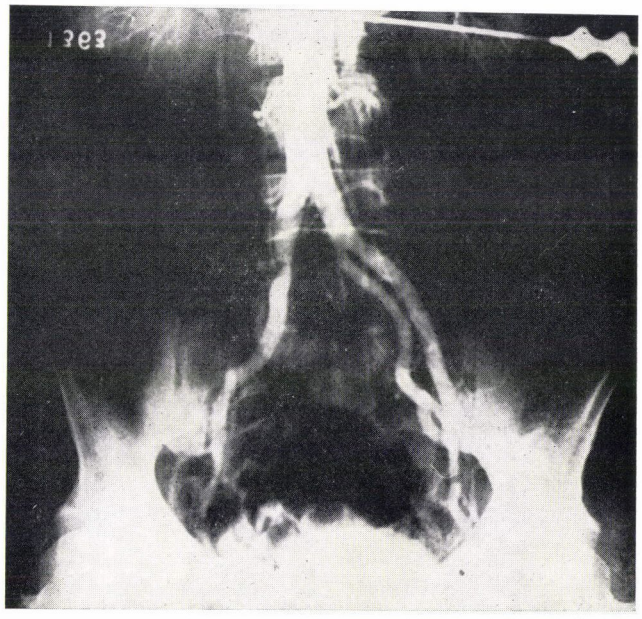
4 4-szeres hanglassítást (nagyítást, nyújtást) jelent
a kottavonalak feletti mérce a természetes hangadás idejét jelenti másodpercekben
a kottavonalak alatti mérce a lassított hangadás idejét jelenti másodpercekben



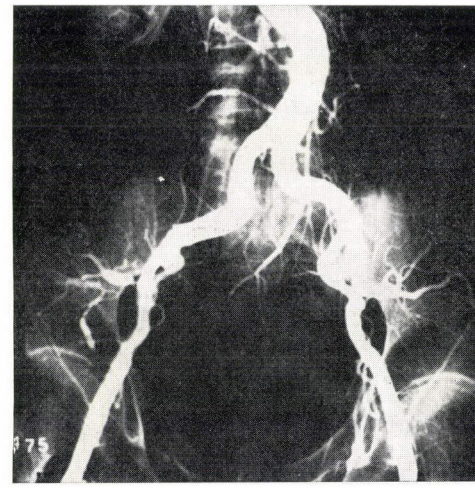
1. ábra. 1. Izolált membranon elvégzett reakció, jellegzetes lokalizációt mutat a membran belső felszínén. 76 400×. 2. A jelzett gátló a membranon lokalizálható. 58 600×

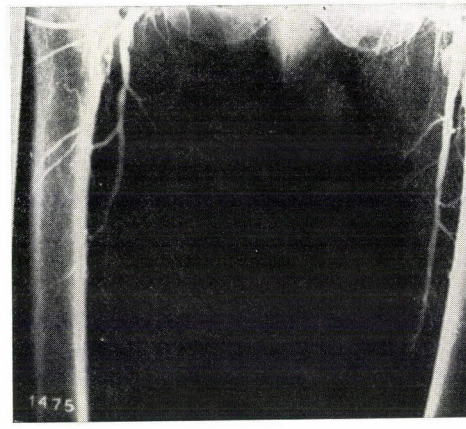


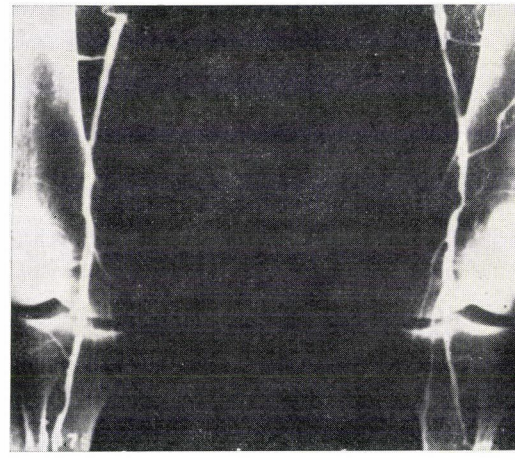
2. ábra. 1—2. A reakció a myelin hüvelyen helyezkedik el, mennyiségéből ítélve igen erős aktivitásra utalhat. 10 200×. 3—4. A jelzett gátló a myelin hüvelyre lokalizálódik. 5 600× 16 000×



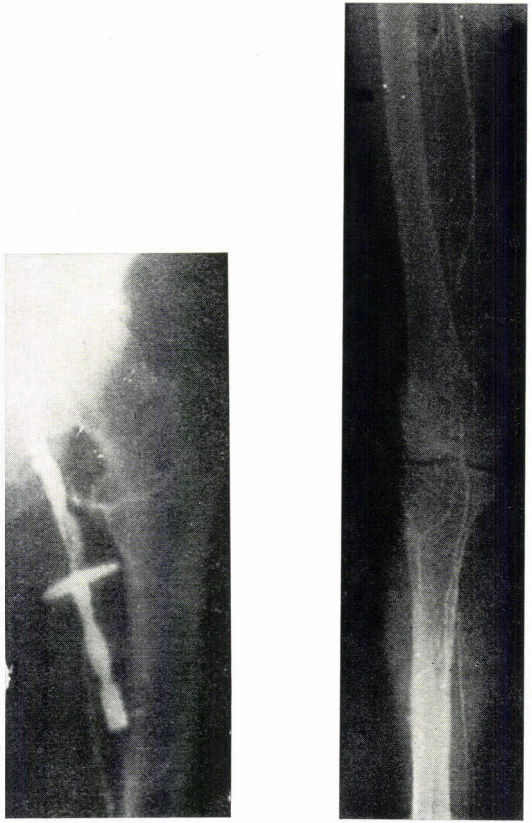
1. a, b. ábra: a) Az aorto-arteriographia a jobb iliaca externa elzáródását mutatja, *b)* a műtét után 3 hónappal készült kontroll angiogram



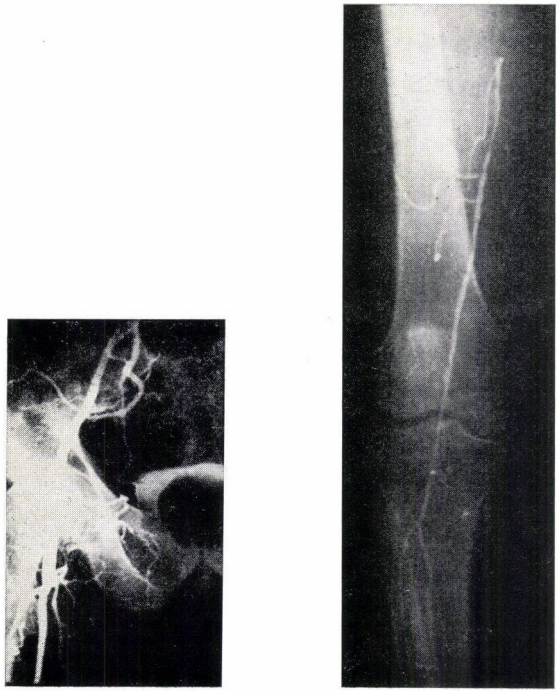




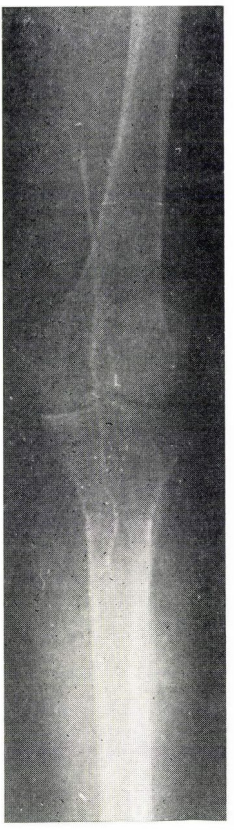
2. a, b, c. ábra.: A serioaorto-arteriographias vizsgálat képein a jobb femoralis elzáródása, a bal femoro-poplitealis szakasz nagyfokú kaliberingadozása látható



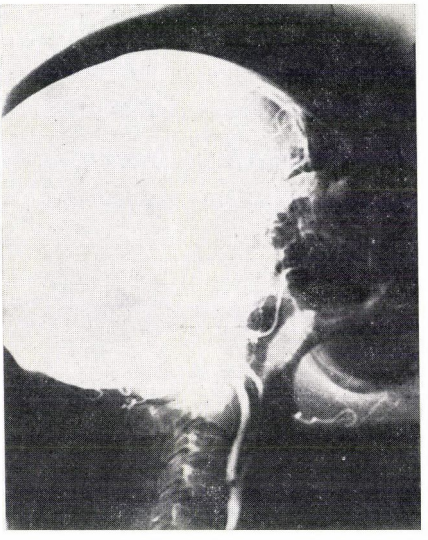
3. a, b. ábra: Az a. femoralis elzáródása az eredéstől a Hunter-csatornáig



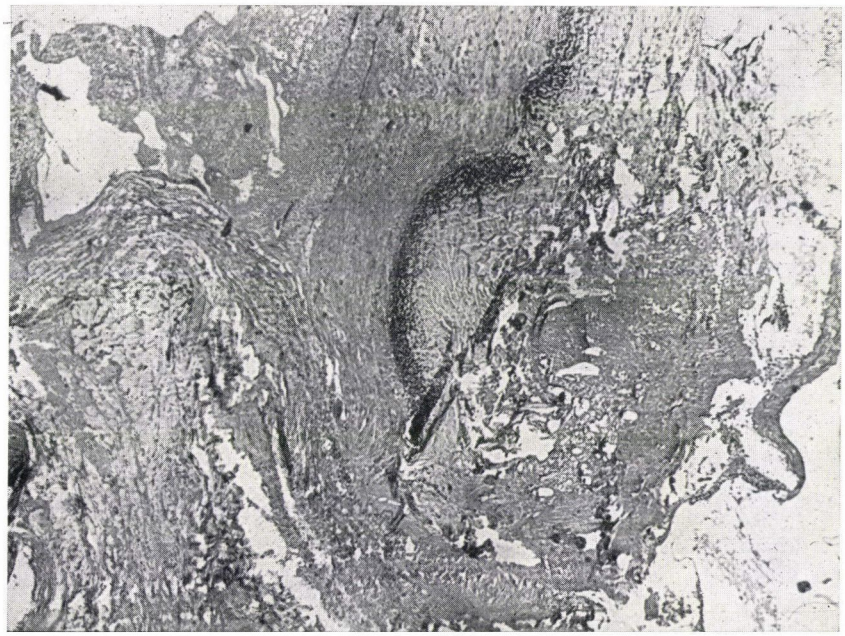
4. a, b. ábra: Az angiogram a femoralis superficialis hosszú elzáródását mutatja



5. ábra: Az a. poplitea elzáródása, amely alatt és felett az érfal kaliberingadozó

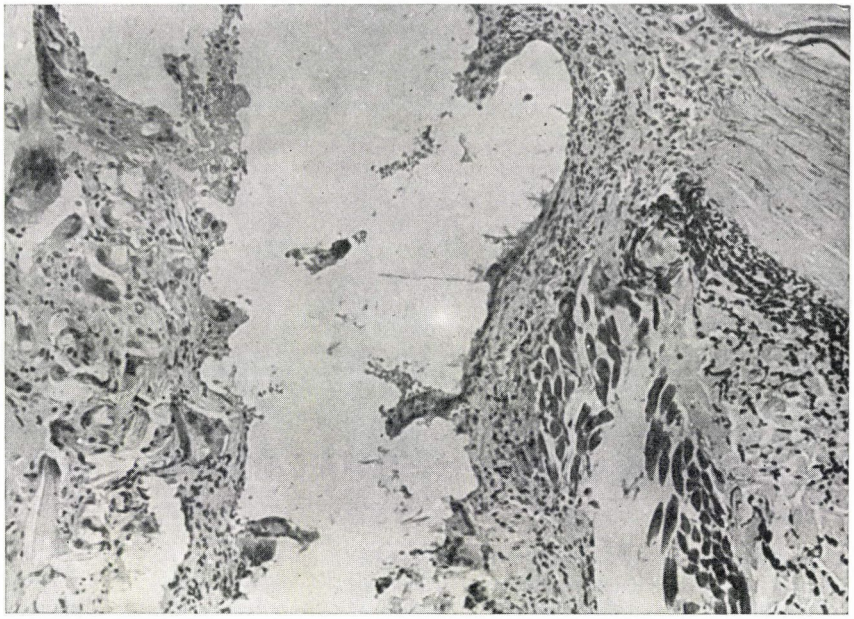


6. ábra: A jobb a. carotis interna stenosisa közvetlenül az oszlás felett

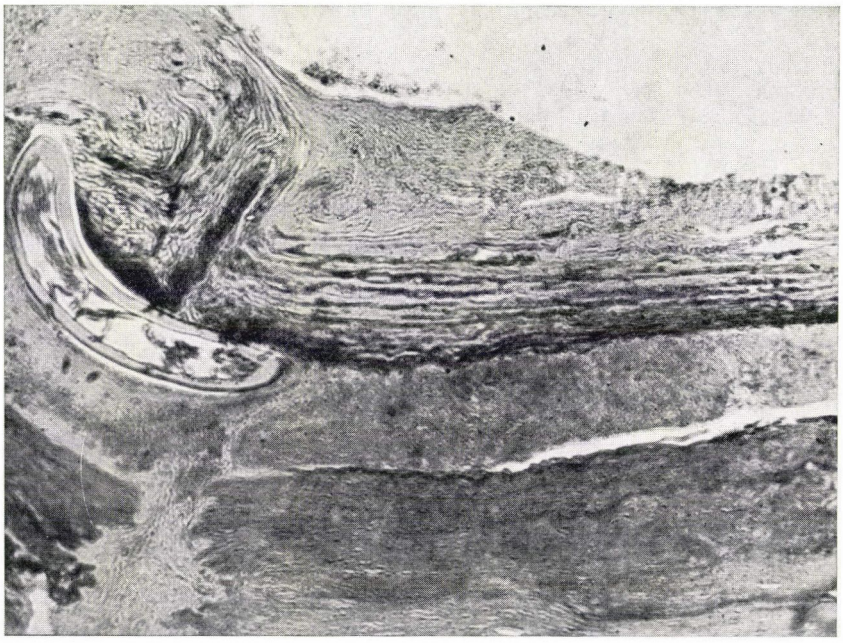


7. ábra: Az arteriafal és a duplafalú venafolt találkozási helyének képe 20 nappal a műtét után. Balra fenn szálcsás fibrin, mely az illesztésnél létrejövő tölcsérszerű behúzódás területében az intimához tapad. Jobbra kifejezett elasticus lamellákat mutató arteriarészlet, melyhez adventitialisan szövetragasztó kioldása utáni üreg csatlakozik.
Balra venafolt. Haematoxylin-orcein 40×

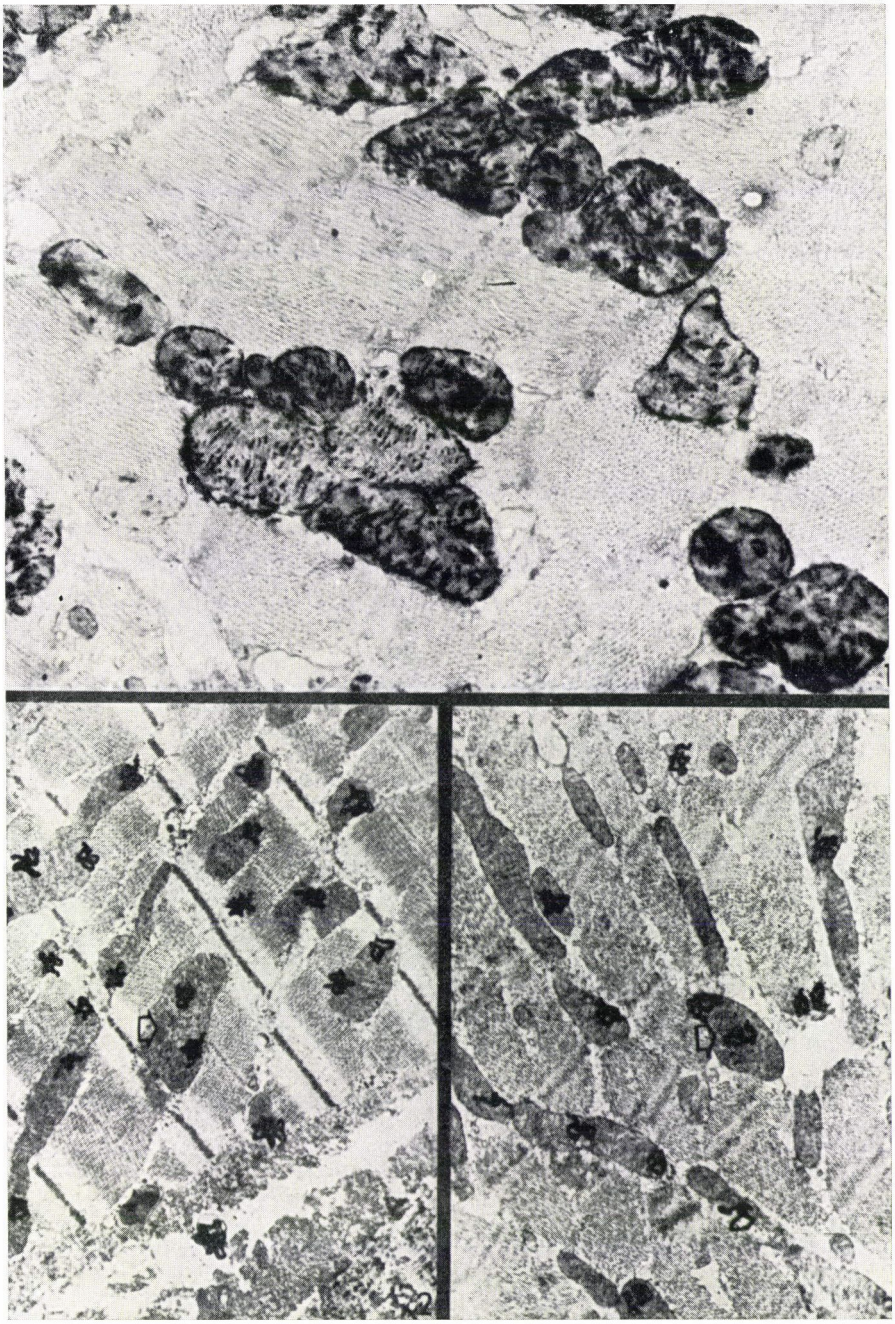
8. ábra: Az arteriafal és a szimplafalú venafolt átmenetének képe másfél hónappal a műtét után. Fenn lumen, összefolyó neointima réteg. Ez alatt balra kifejezett elasticus lamellákat és vastag, tömött mediat mutató arteria, jobbra köteges mediajú, elszórt elasticus rostozatú vena. Az illesztés alatt adventitialisan histotechnikai úton kioldott szövetragasztó világos helye. Haematoxylin-orcein 40×



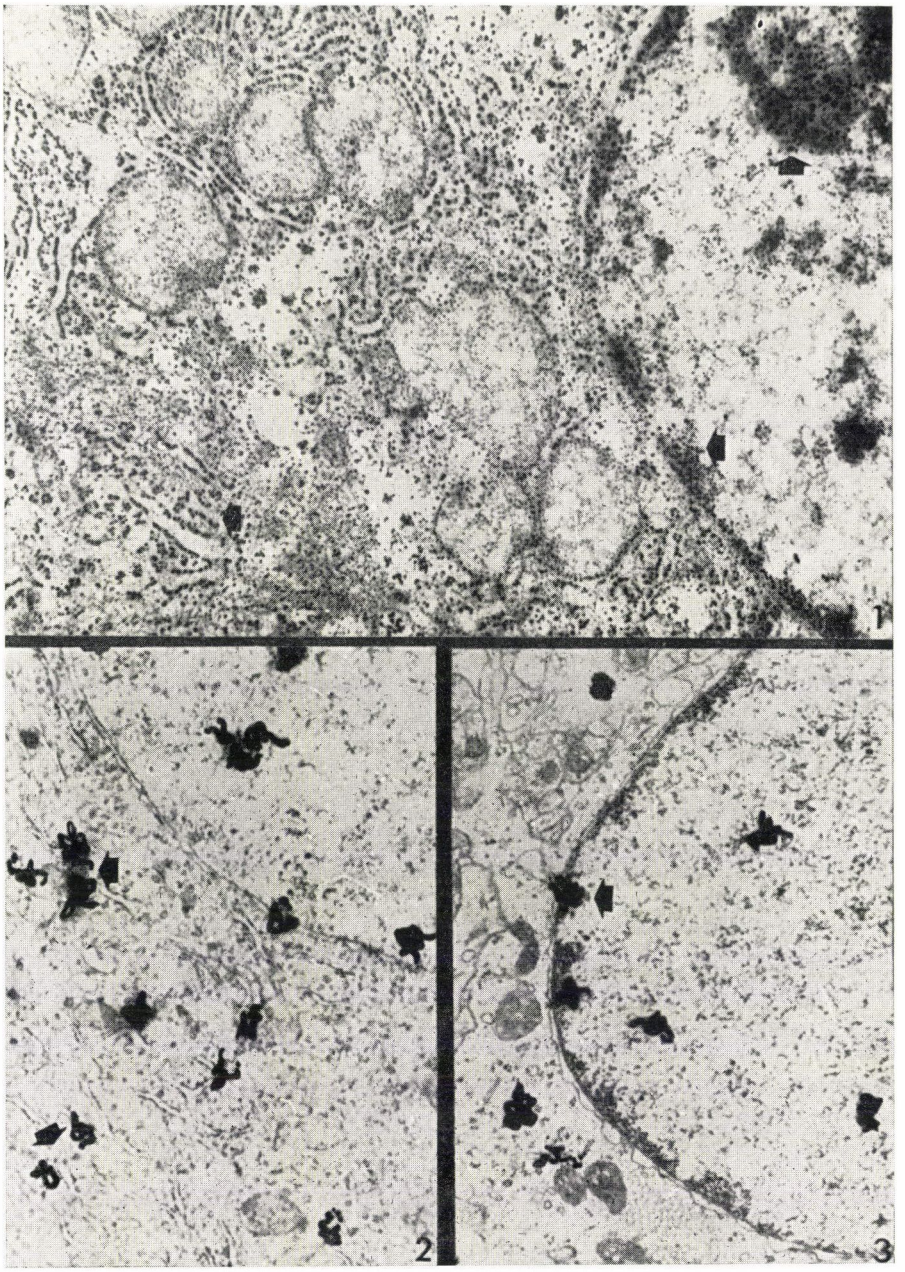
9. ábra: Ragasztó és varróanyag környezetében kialakult óriássejtes és chronicus lobos reactio másfél hónappal a műtét után. Jobbra fenn arteriafal, jobbra lenn varróanyag, középen a histotechnikai eljárás miatt kioldott ragasztó helye, jobbra bőséges óriássejtes reactio. Haematoxylin-orcein 120×



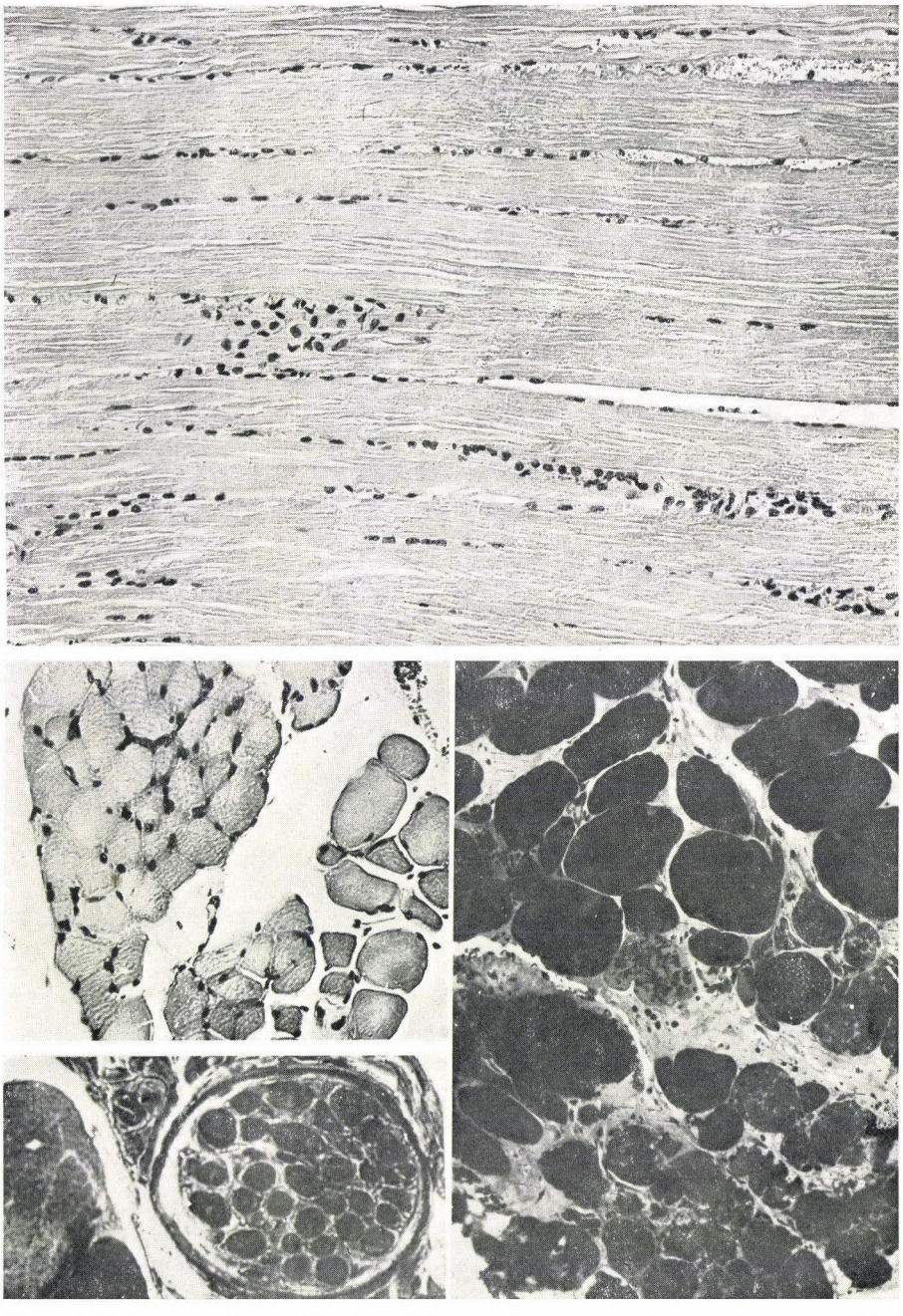
10. ábra: Az arteria iliaca communis arteriotomia zárásának helye 6 hónappal a műtét után. Fenn lumen, alatta vastag neointima. Balra lenn a sebszéleket összetapasztó kötőszöveti zóna, szomszédságában fonál hosszmetszet. Haematoxylin-orcein 40×



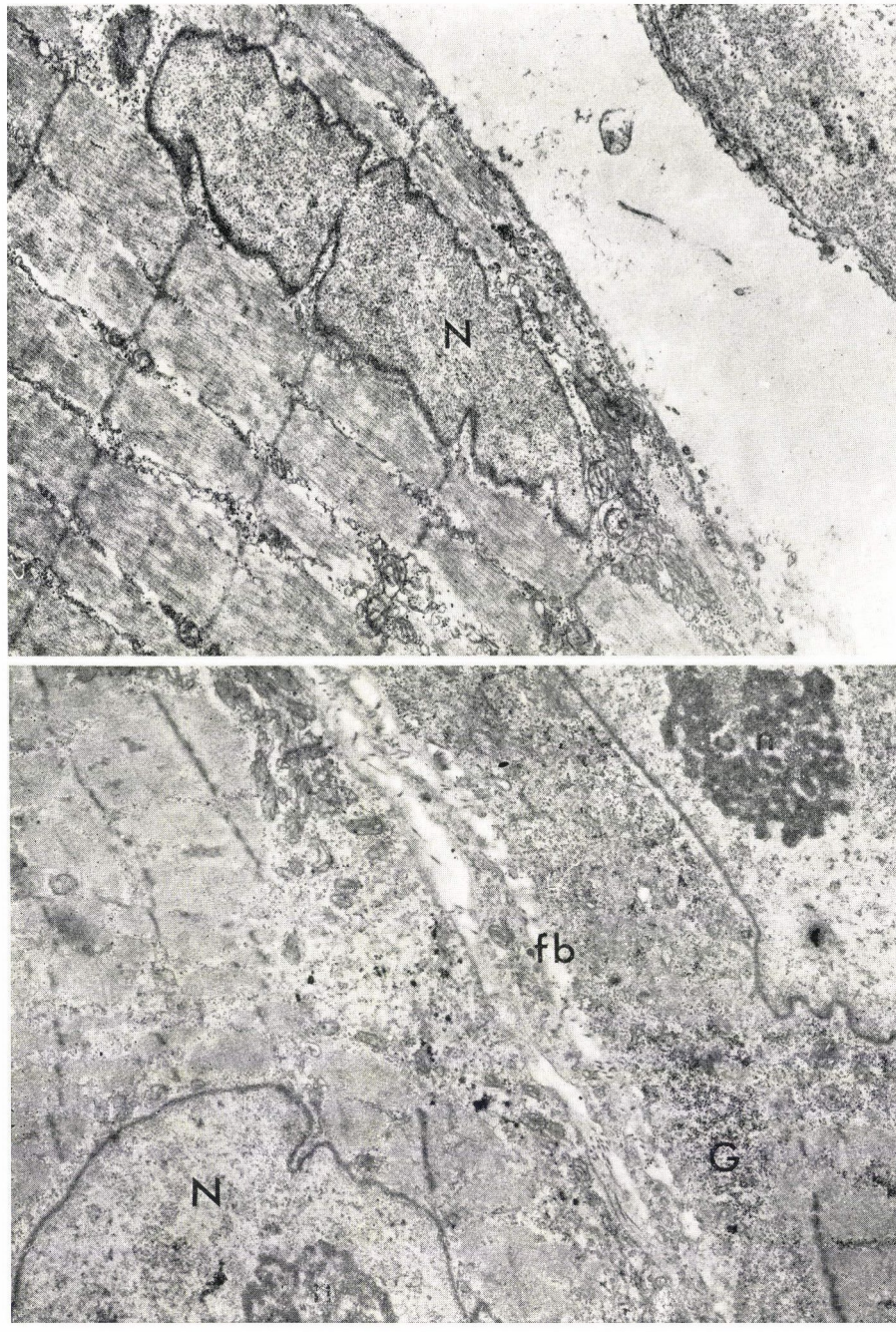
3. ábra. 1. Szukcinodehidrogenaz mitokondrialis elhelyezkedése látható. 12 200 X. 2—3. A jelzett gátló a mitokondriumba bejut, abban azonban nem lokalizálható annak egyes részeihez. 8 800 ×



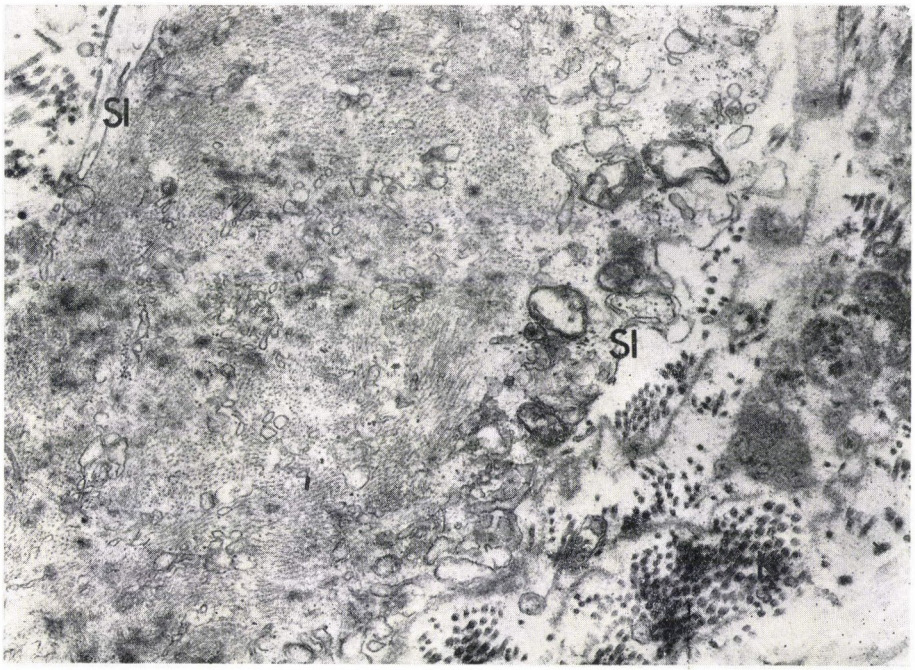
4. ábra. 1. Endonukleaze jellegzetes lokalizációja látható. 21 000×. 2—3. A jelzett gátló a mag mellett a durva felszínű endoplazmatikus retikulumokban is megjelenik. 9 200×



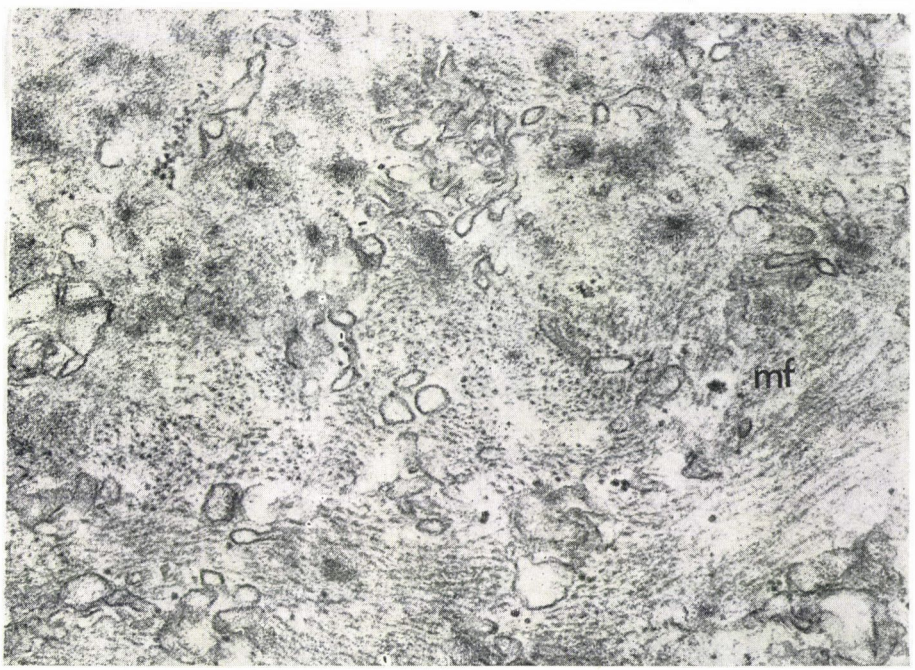
1. ábra. a) Az izomrostok magállománya felszaporodott, egy-egy izomrostban centralis irányban eltolódott. *b* Normális és károsodott izomrostköteg foglal helyet egymás mellett. Az utóbbiakban egy-egy izomrost lekerekedett, egyneművé vált. *c)* Félvékony metszet; az idegrost kóros eltérést nem mutat. *d)* Félvékony metszet. Az izomrostok egy részében a sarcoplasma szemcséssé vált, összecsapzódott. Nagyítás: a: 280×; b: 200×; c: 300×; d: 260×



2. ábra. a), b) Az izomrostmagvak nucleolusai szembetűnőek, foltozott jellegűek. A felszaporodott glycogen állomány helyenként kisebb mezőkbe tömörül. N: mag, n: magvacska, G: glycogen, fb: fibroblastsejt-nyúlvány. Nagyítás: a: 16 000×; b: 9800×

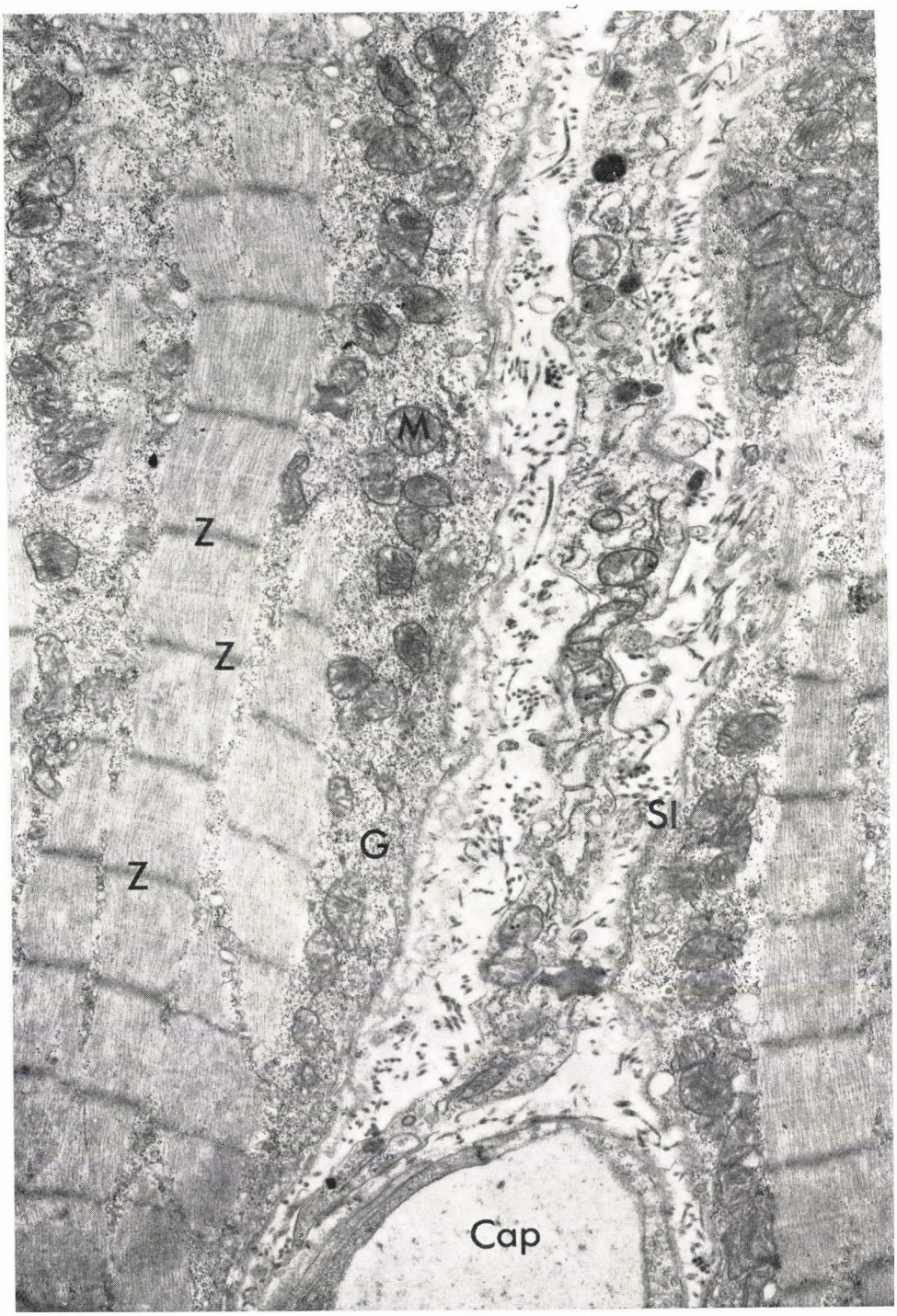


a

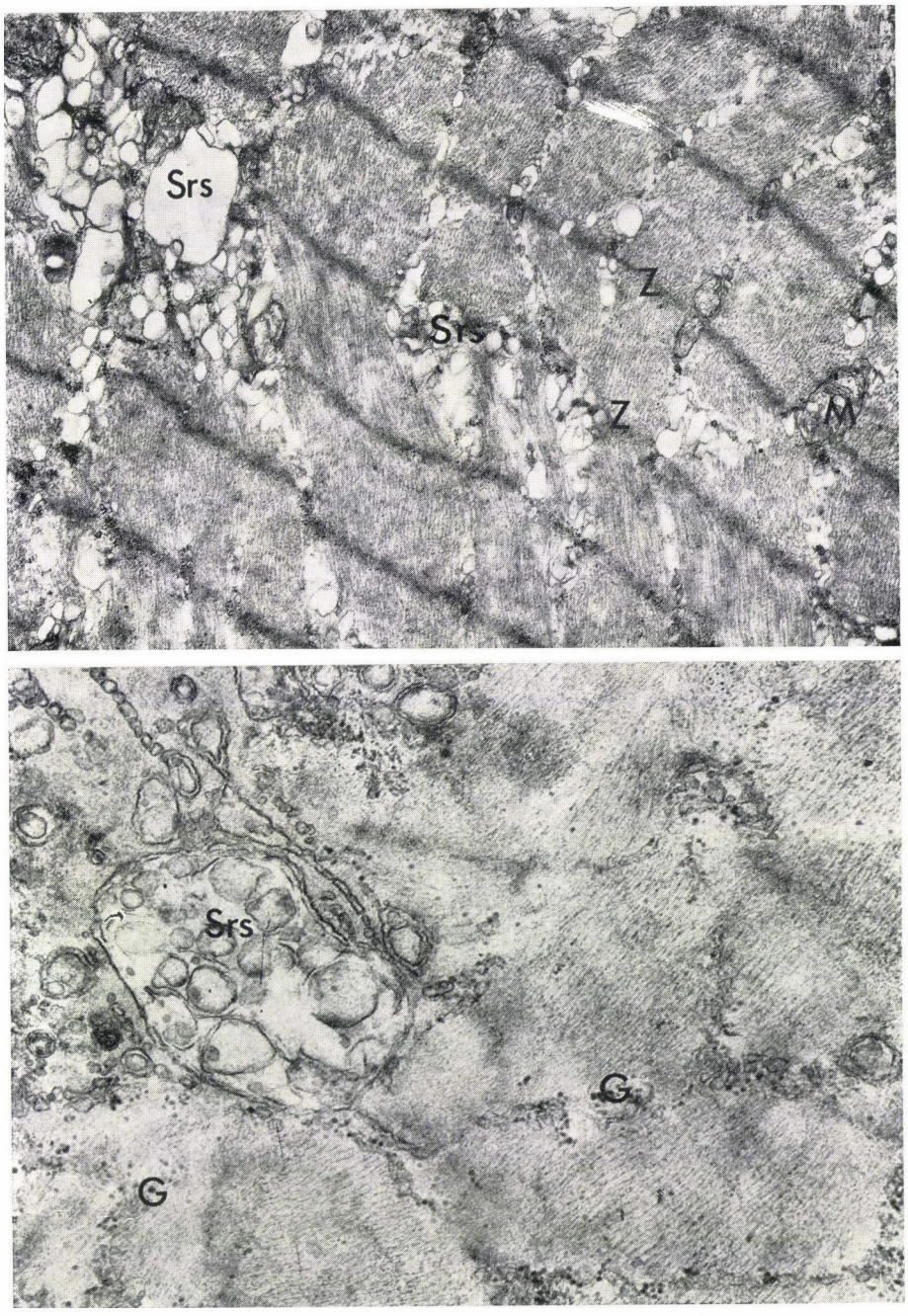


b

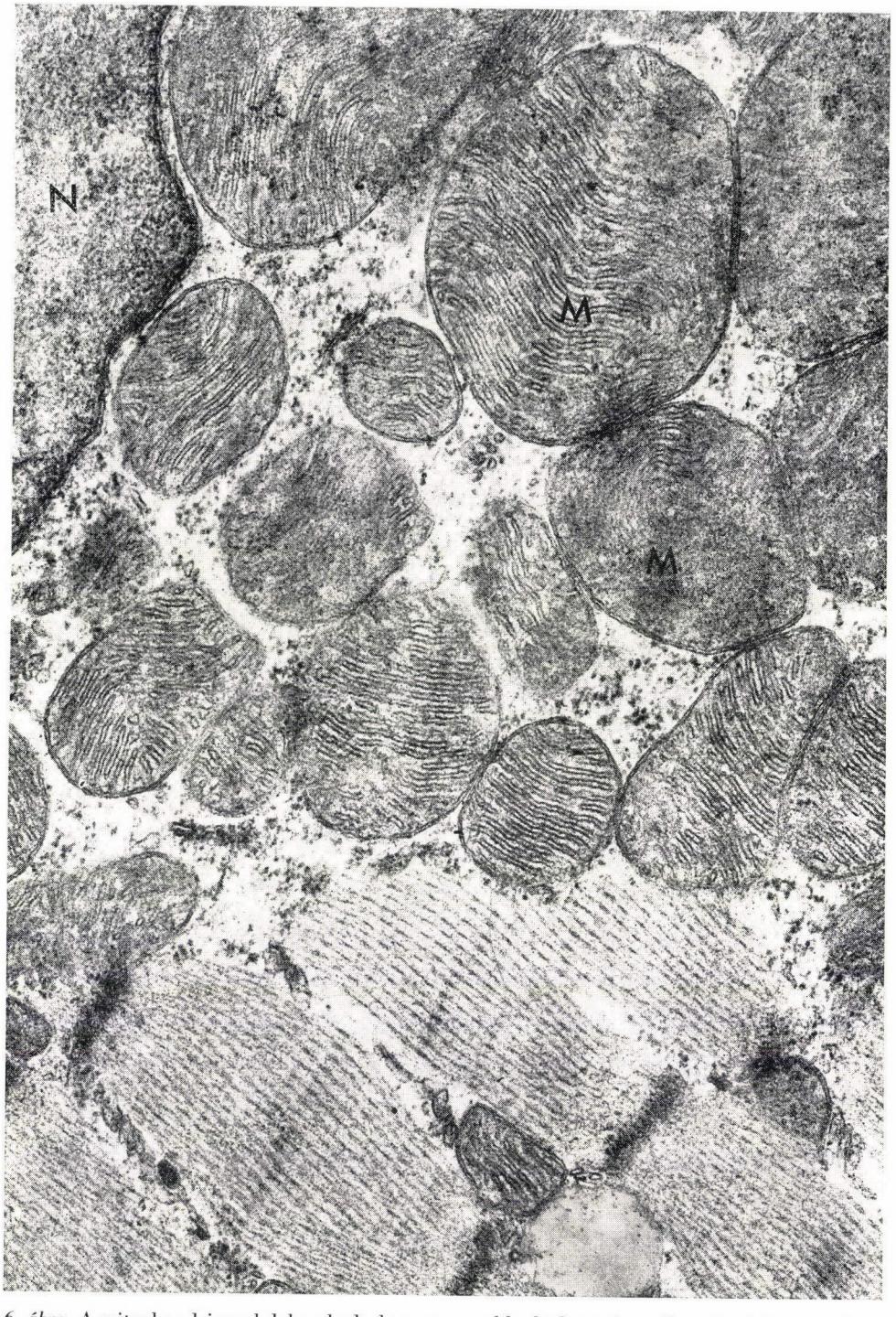
3. ábra. a) Az elkeskenyedett izomrostban a fibrillaris kötegezettség, a filamentumok orientációja felbomlott, néhány ballonszerűen tágult mitochondrium maradvány és számos változatos átmérőjű vesicula figyelhető meg. A környezetben, a sarcolemma közelében kollagén rostok foglalnak helyet. Sl: sarcolemma, K: kollagén rost. *b)* A basalis sarcoplasmában mind a vékony (actin), mind a vastag (myosin) filamentumok töredékei felismerhetők. mf: myofilamentum. Nagyítás: a: 15 000×; b: 18 000×



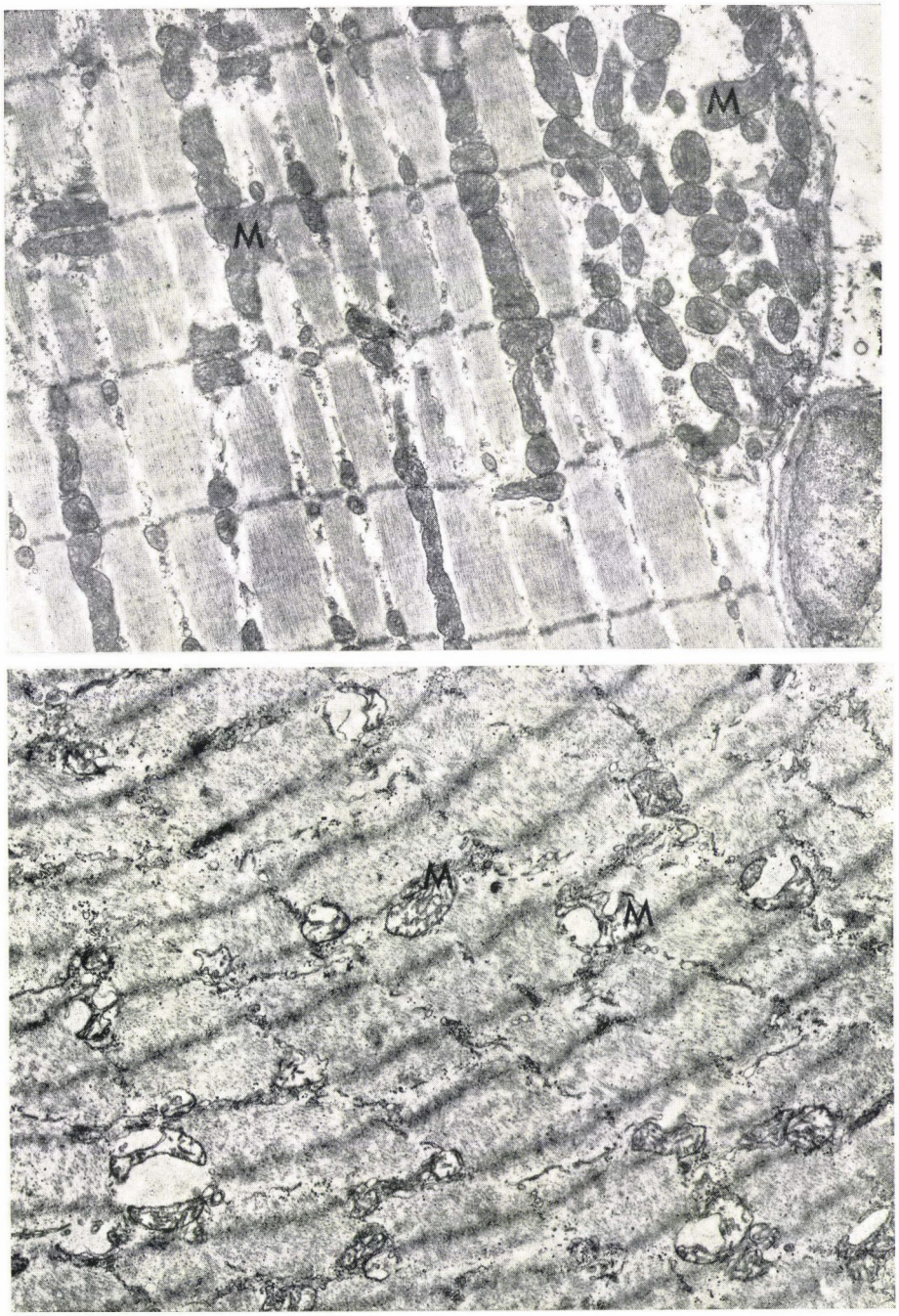
4. ábra. A sarcomerek centralisan elődomborodnak, a Z-képleteknek megfelelően a myofibrillumon behúzódások figyelhetők meg. A subsarcolemmalis mitochondriumok felszaporodtak. Az endomysiumban fibroblastsejt-nyulvány foglal helyet. Z: Z-képlet, M: mitochondrium, Sl: sarcolemma, fb: fibroblastsejt nyúlványa, Cap: capillaris, G: glycogen szemcse. Nagyítás: 15 000×



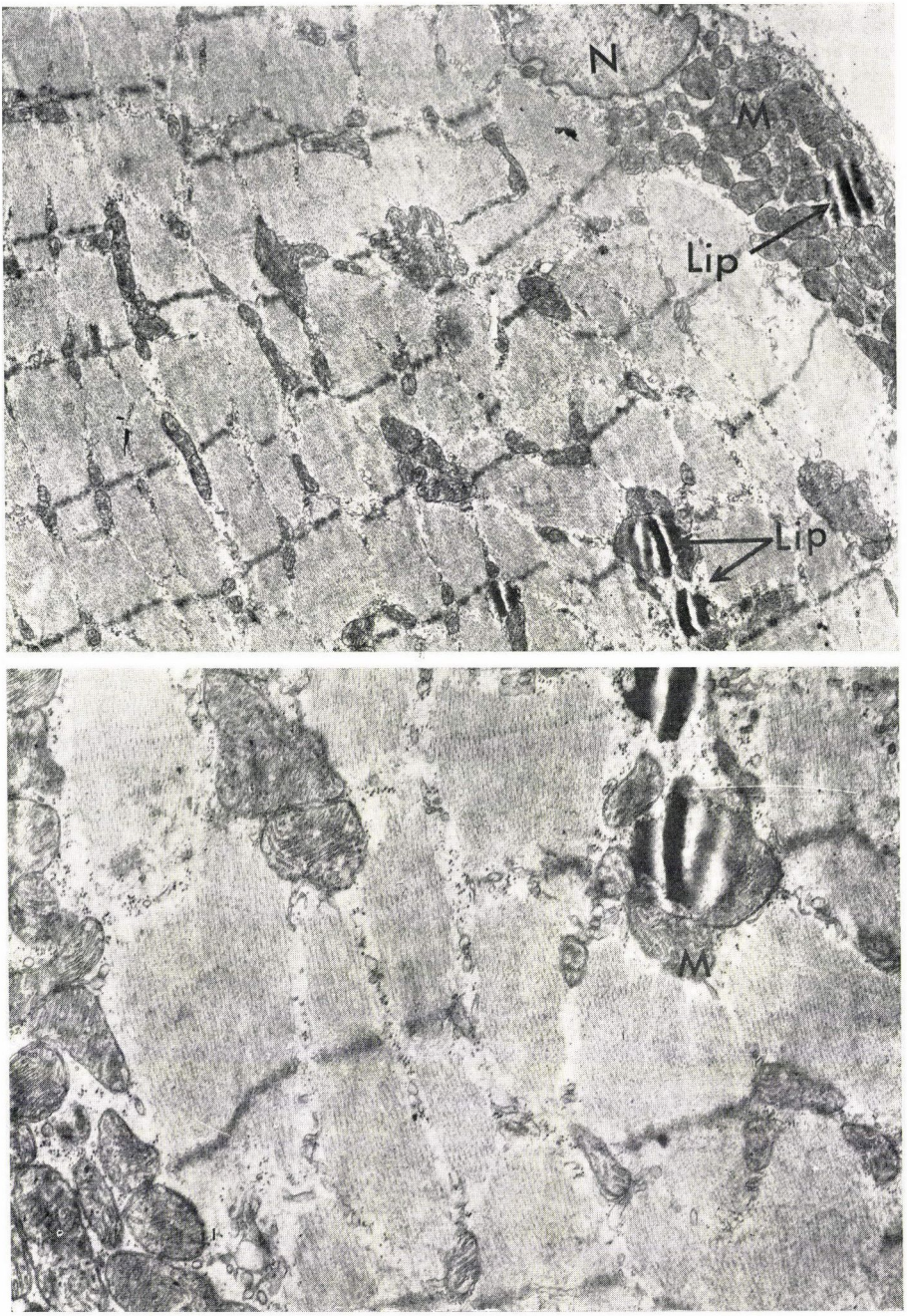
5. ábra. a), b) A sarcoplasmatikus reticulum rendszer tágult, kisebb-nagyobb átmérőjű vesiculák formájában figyelhető meg. A vesiculák helyenként nagyobb csoportokba tömörülnek. Srs: sarcoplasmatikus reticulum rendszer, Z: Z-képlet, M: mitochondrium, G: glycogen szemcse. Nagyítás: a: 22 000×; b: 30 000×



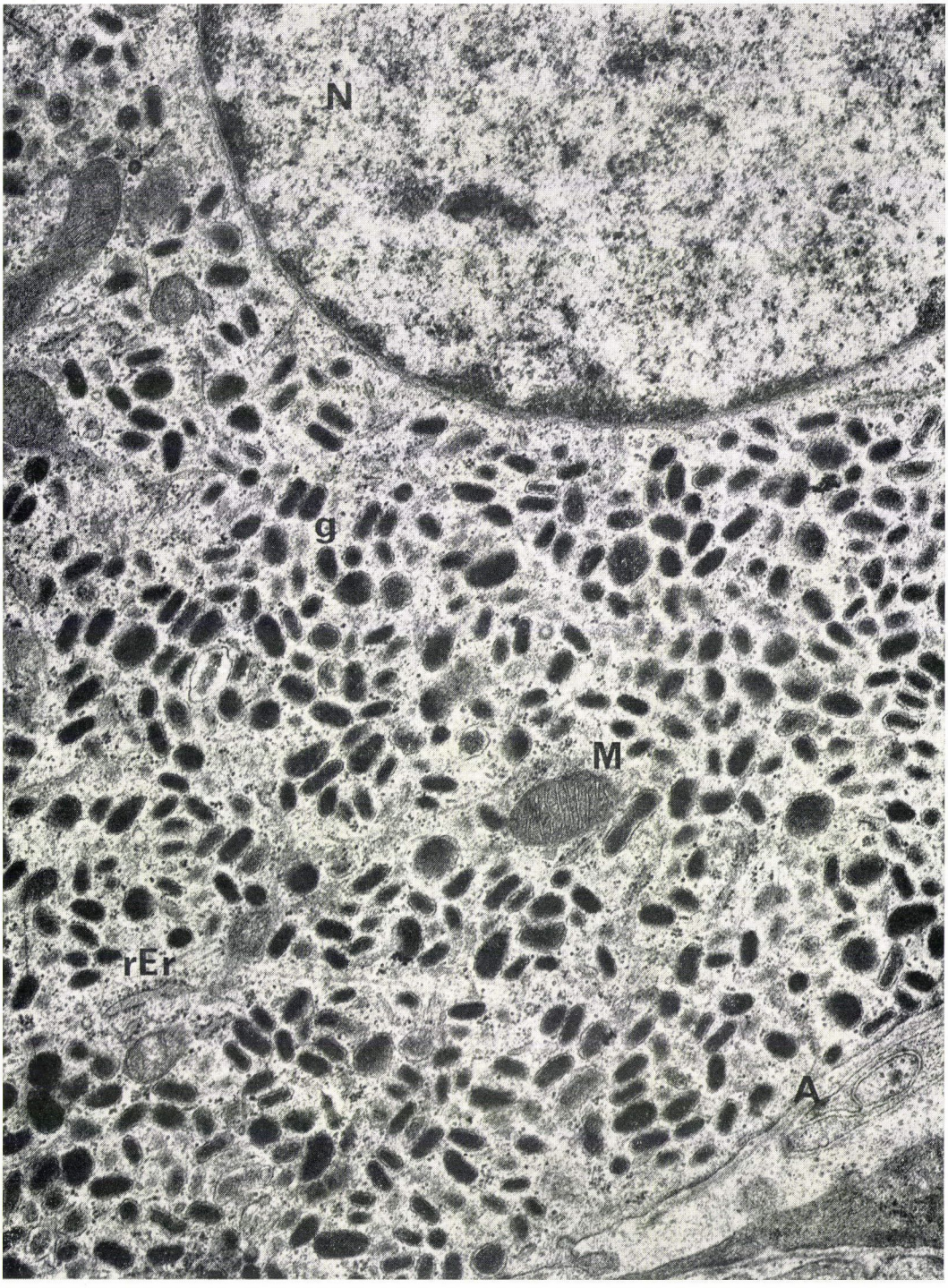
6. ábra. A mitochondriumok lekerekedtek, megnagyobbodtak, a crista-állomány felszaporodott, a mitochondrialis matrix elektronsűrűsége megnövekedett, egyes mitochondriumokban a crista-állomány feltöredezett. M: mitochondrium, N: mag. Nagyítás: 55 800×



7. ábra. a) A subarcolemmalis és interfibrillaris mitochondriumok egyaránt felszaporodtak, megnagyobbodottak, a mitochondrialis matrix elektrondensitasa megnövekedett. M: mitochondrium. *b)* A mitochondriumok duzzadtak, ballonszerűen tágultak, a crista-állomány feltöredezett, a mitochondrialis matrix megkevesbedett, az elektrondensitas csökkent. A contrahált állapotban levő myofibrillumokban a myofilamentumok feltöredeztek. M: mitochondrium. Nagyítás: a: 10 500×; b: 14 600×

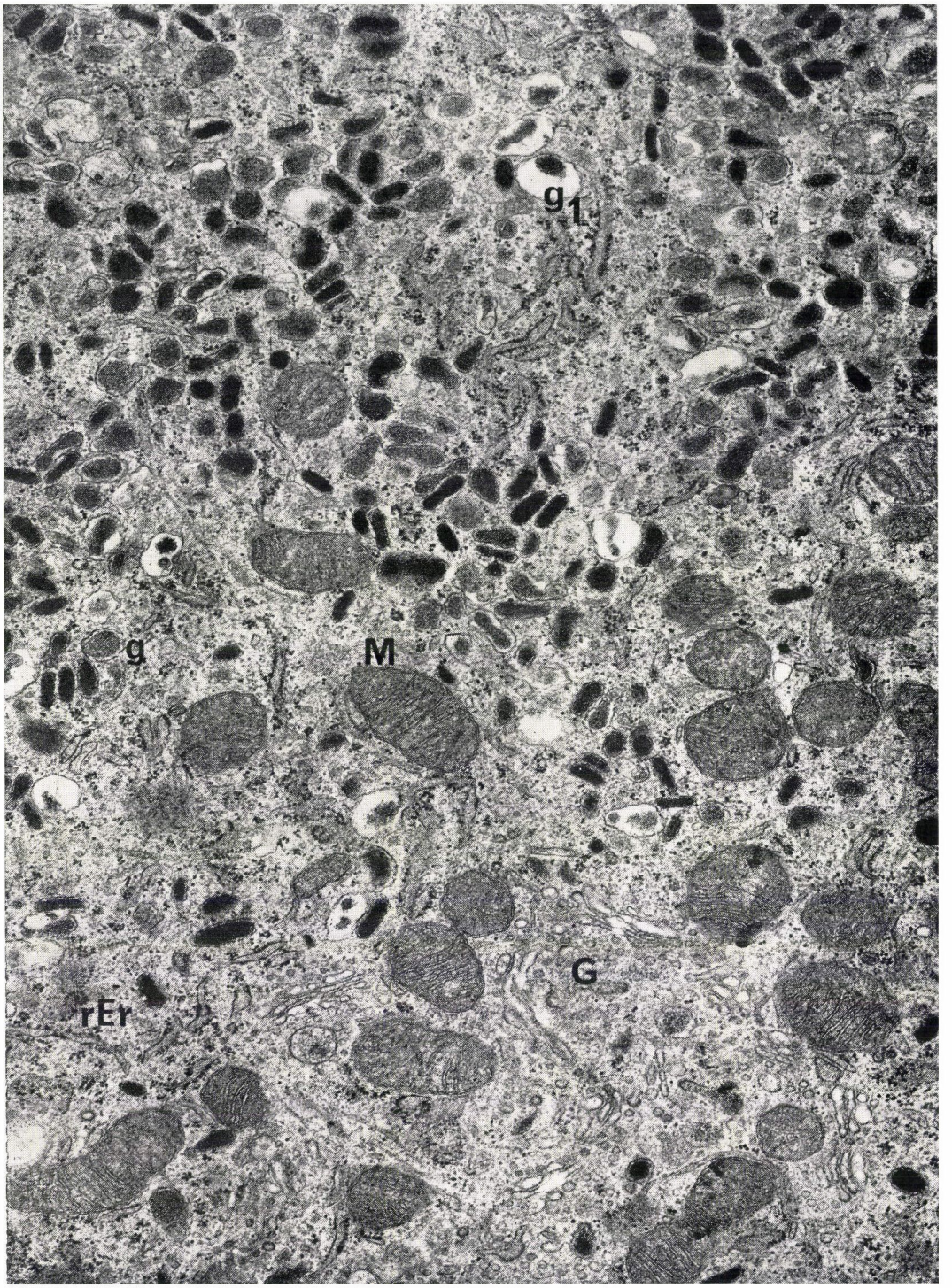


8. ábra. a), b) Intramitochondrialis inclusioként lipidcseppek figyelhetők meg. Az elváltozás egyaránt érinti a subsarcolemmalis és interfibrillaris mitochondriumokat. Lip: lipid-csepp, M: mitochondrium, N: mag. Nagyítás: a: 14 600×; b: 22 000×

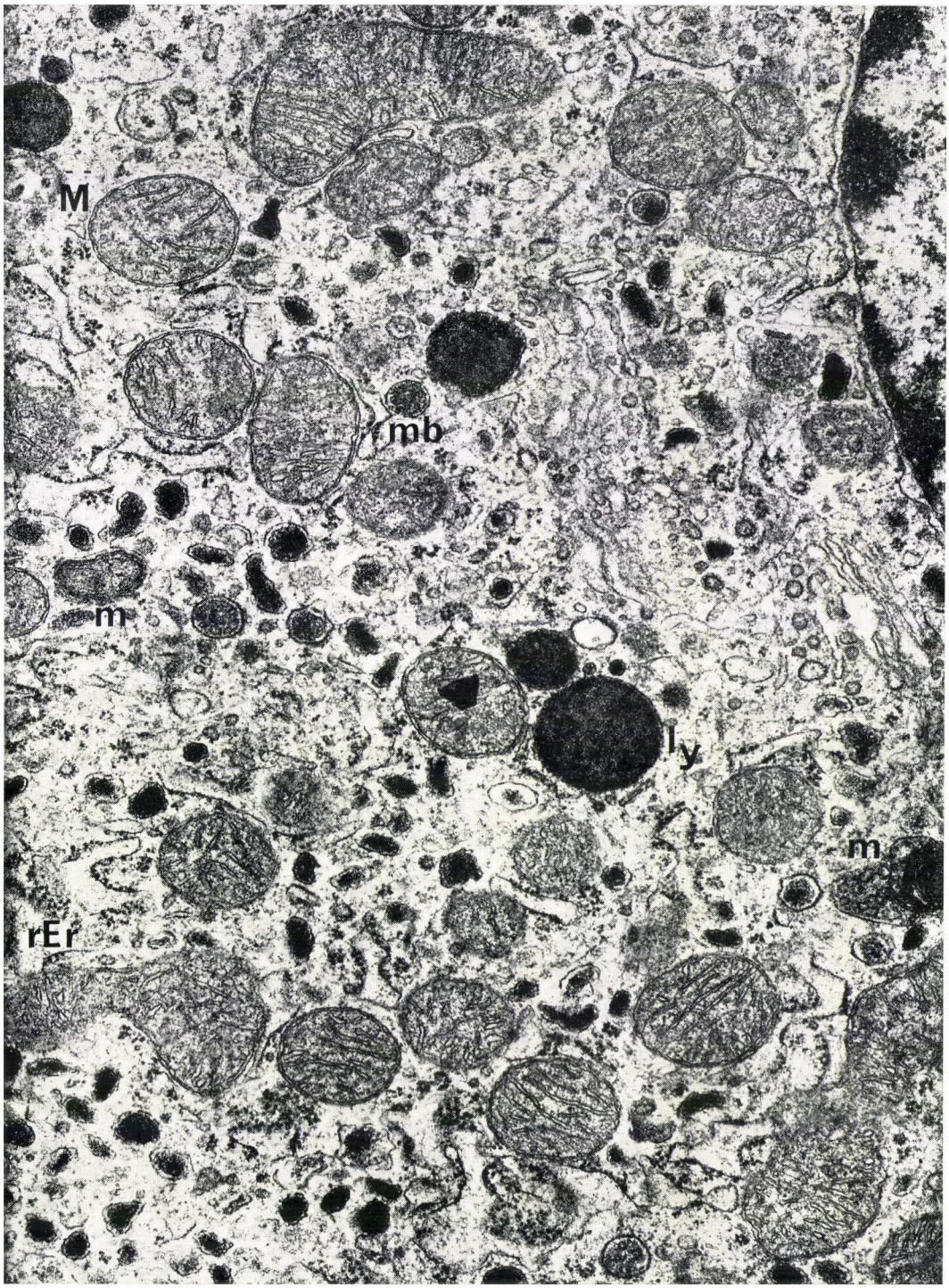


1. ábra: Normál patkány mellékvese velősejt részlete. A sejtmagtól (N) a sejt apikális pólusáig (A) nagyszámú catecholamin tartalmú secretios szemcse (g) látható a cytoplasmában. A secretios szemcsék gömbölyded vagy hengerded alakúak, — állományuk erősen elektrondenz. A cytoplasmában egy-egy mitochondrium (M) és a durva felszínű endoplasmás reticulum tubulusai (rEr) figyelhetők meg.

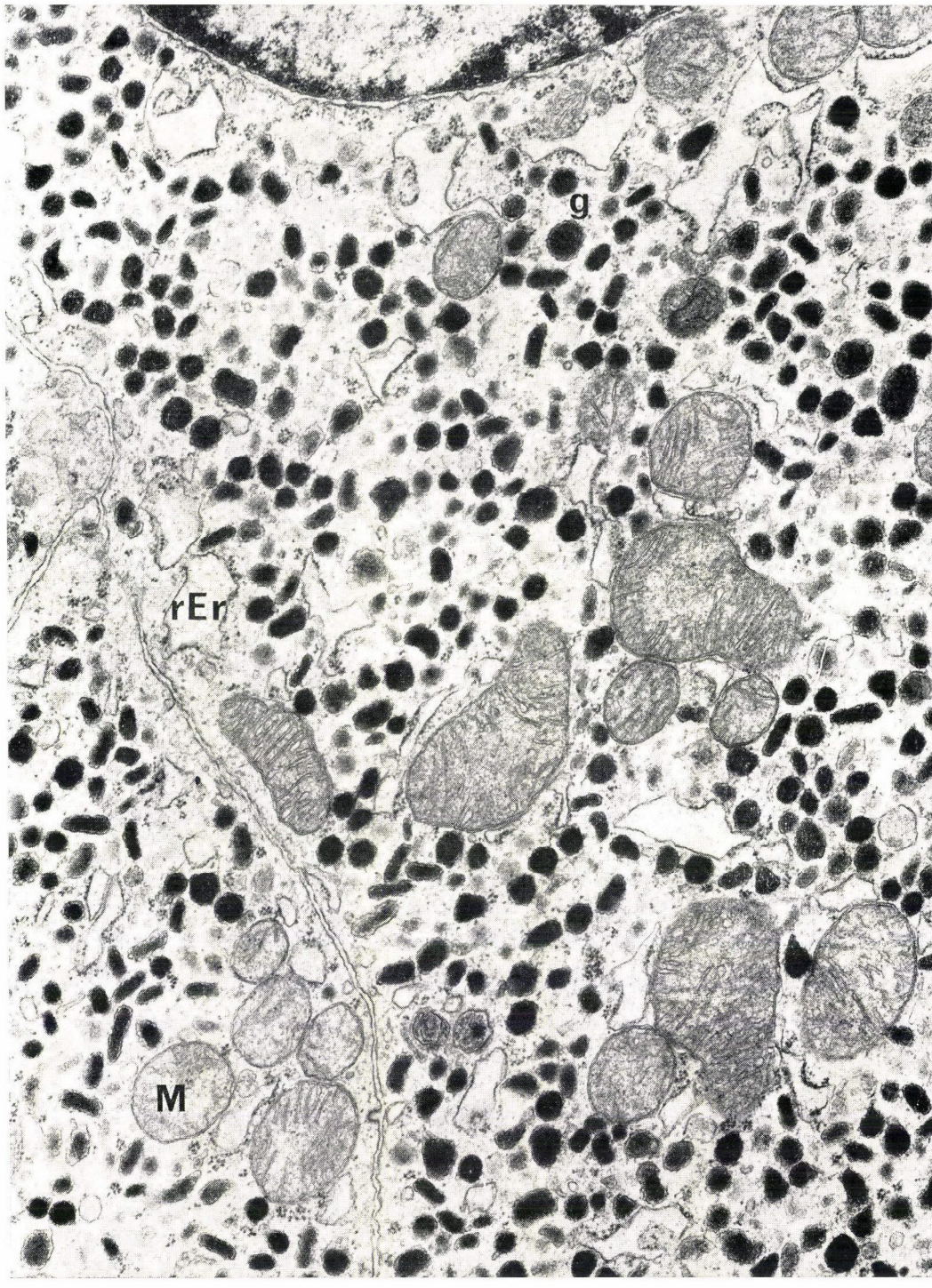
X 30 000



2. ábra: Patkány mellékvese chromaffin sejtje 24 órával a 4×50 mg/kg Sanegyt kezelést követően. A cytoplasmában dominál az olyan secretios szemcsék jelenléte (g), melyek elektrondenzitása alacsony. Számos duzzadt, kevés secrétumot tartalmazó szemcse (g_1) is látható a sejtekben. A mitochondriumok (M) és a durva felszínű endoplasmás reticulum (rEr) szerkezete jól megtartott, a Golgi zónában azonban (G) kevés az újonnan képződő secretios szemcse.
X 21 000

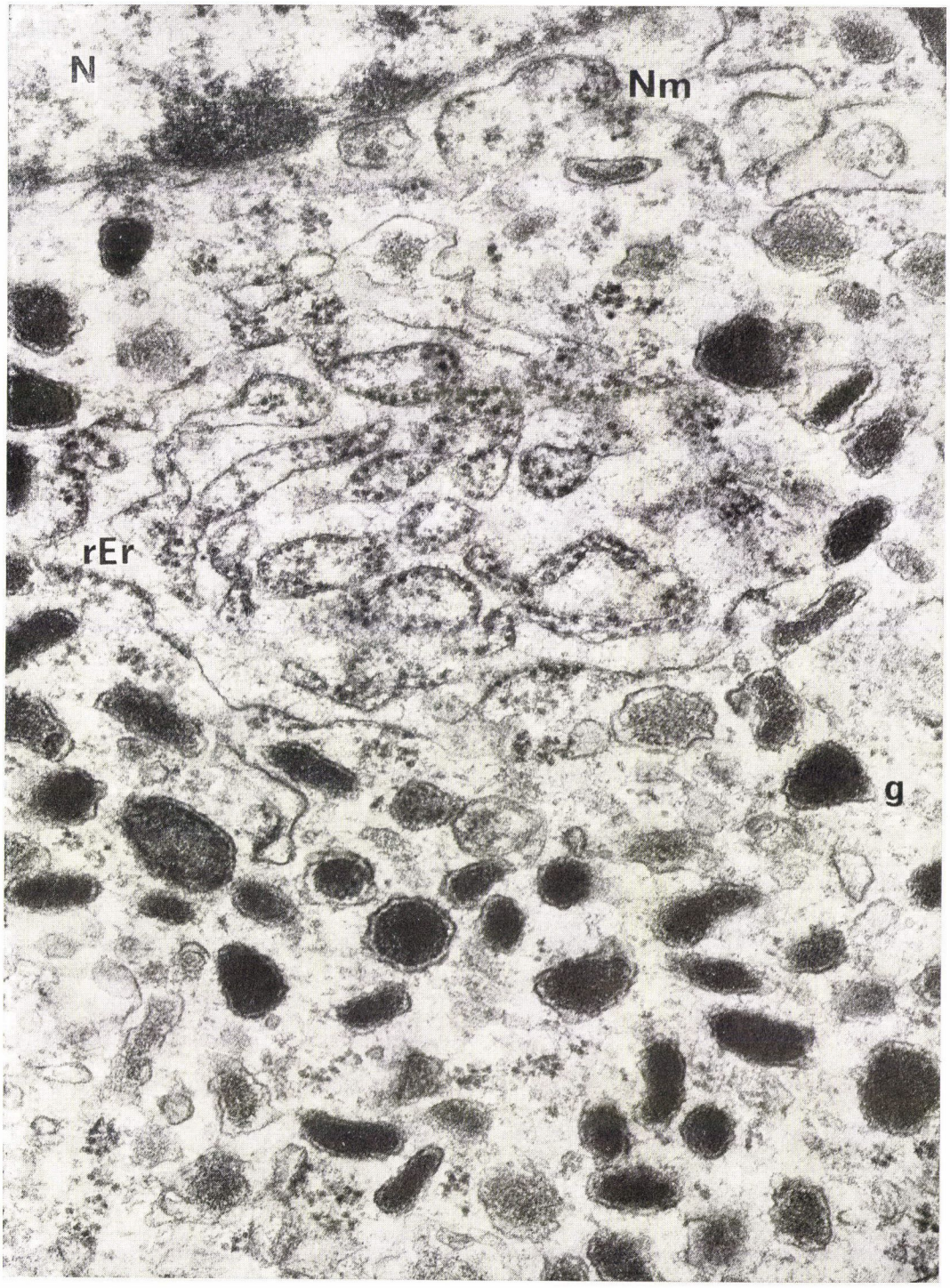


3. ábra: Sanegyt kezelt patkány mellékvese velősejtjének részlete 2½ órával az utolsó kezelés után. Szembetűnő a mitochondriumok (M) duzzanata, multivesicularis testek (mb) és lysosomák (ly) jelenléte. A durva felszínű endoplasmás reticulum tubulusai (rEr) rendszerint tágultak. A myelin figurák (m) nagyobb gyakorisággal észlelhetők mint a kontroll sejtekben. X 31 000



4. ábra: Mellékvese velősejt részlete 4×50 mg/kg Sanegyt kezelést követő 48. órában. A secretios szemcsék (g) alakja, mérete, denzitása nem tér el a kezeletlen kontroll állatok chromaffin sejtjeiben látható szemcséktől. Az erősen duzzadt mitochondriumok (M) és a tágult durva felszínű endoplasmás reticulum tubulusok (rEr) jelenléte arra utal, hogy a szerhatás ezeken a sejtorganellumokon érvényesült.

X 21 000



5. ábra: Chromaffin sejt részlete, 2½ órával az utolsó Sanegyt dósis után. A secretios szemcsék (g) szabálytalan alakúak, elektrondenzitásuk változó. A maghártya (Nm) tágult, és a mag (N) szomszédságában sajátosan összecsapzódott durva felszínű endoplasmás reticulum tubulusok (rEr) láthatók.

X 60 000

A kiadásért felel az Akadémiai Kiadó igazgatója

Műszaki szerkesztő: Agócs András

A kézirat nyomdába érkezett: 1975. III. 11. — Terjedelem: 12,6 (A/5) ív

75.1560 Akadémiai Nyomda, Budapest — Felelős vezető: Bernát György

ÚJABB EREDMÉNYEK A BIOLÓGIAI KUTATÁSOK TERÜLETÉN

Az Akadémiai Kiadó folyóiratai

ÁLLATTANI KÖZLEMÉNYEK

A Magyar Biológiai Társaság Állattani Szakosztályának folyóirata
Szerkesztő: ANDRÁSSY ISTVÁN

A folyóirat olyan tudományos értékű zoológiai cikkeket közöl, melyeket a szerzők a Szakosztály ülésein bemutattak. A közlemények felölelik az állattan minden ágát általános állattan, rendszertan, szervezettan, ökológia, ősállattan stb.).

Megjelenik évente egy kötet 4 füzetben. Évi előfizetési ára: 30,— Ft

---

ANTHROPOLÓGIAI KÖZLEMÉNYEK

A Magyar Biológiai Társaság Anthropológiai Szakosztályának folyóirata
Szerkeszti: NEMESKÉRI JÁNOS

Általános, történeti és ethnikai embertani, valamint populációgenetikai kutatásokról közöl önálló tanulmányokat, ismertetéseket, híranyagot.

Megjelenik évente egy kötet 2 füzetben. Évi előfizetési ára: 30,— Ft

---

BOTANIKAI KÖZLEMÉNYEK

A Magyar Biológiai Társaság Botanikai Szakosztályának közleményei
Szerkeszti: HORVÁTH IMRE és MARÓTI MIHÁLY

A botanika összes ágára kiterjedő cikkeket közöl, beszámol a Szakosztály tudományos előadásairól, nemzetközi kongresszusokról, ismerteti a legújabb szakkönyveket.

Megjelenik évente egy kötet 4 füzetben. Évi előfizetési ára: 48,— Ft

BIOLÓGIA

Elméleti és kísérleti biológiai folyóirat

Szerkeszti: CSABA GYÖRGY

Beszámoló a legújabb hazai biológiai kutatások eredményeiről, elméleti tanulmányok irodalmi áttekintések, könyvismertetők, kongresszusi beszámolók a következő tárgykörökben: elméleti és molekuláris biológia, cytológia, genetika, ontogenetika, filogenetika

Megjelenik évente egy kötet 2 füzetben · Évi előfizetési ára: 30,— Ft

---

A MAGYAR TUDOMÁNYOS AKADÉMIA BIOLÓGIAI TUDOMÁNYOK OSZTÁLYÁNAK KÖZLEMÉNYEI

Szerkeszti: BALOGH JÁNOS

Az Osztály tudományos eredményei, akadémiai nagygyűlések előadásai és vitaanyaga, hazai szimpóziumok, konferenciák anyaga olvasható a lapban.

Megjelenik évente egy kötet 4 füzetben · Évi előfizetési ára: 60,— Ft

Kiváló tudósok
korunk tudományos kérdéseiről
mindenkihez

szólnak a

Korunk tudománya

c. sorozat köteteiben:

Bonta János

A KORSZERŰ ÉPÍTÉSZETI KÖRNYEZET

108 oldal · Fűzve 14,— Ft

Kellner Béla

RÁKKUTATÁS, DAGANATELLENES KÜZDELEM

Eredmények és kilátások

92 oldal · Fűzve 10,—Ft

Baránszky-Jób Imre

AZ ALUMÍNIUMRÓL

226 oldal · Fűzve 22,— Ft

Csáki Frigyes

BEVEZETÉS AZ AUTOMATIKÁBA

160 oldal · Fűzve 16,— Ft

AKADÉMIAI KIADÓ

Egy új és korszerű tudományág számos problémáját tárják fel a

TUDOMÁNYSZERVEZÉSI FÜZETEK

c. sorozat egyes kötetei.

Eddig megjelent kiadványok:

BALÁZS TIBOR

A TUDOMÁNYOS KUTATÁSTÓL AZ IPARI GYÁRTÁSIG
AZ IZZÓLÁMPA TÖRTÉNETE NYOMÁN

165 oldal · Fűzve 20,— Ft

SZAKASITS D. GYÖRGY

A TUDOMÁNYOS KUTATÁS SZEREPE A GAZDASÁGI FEJLŐDÉSBEN

143 oldal · Fűzve 16,— Ft

KLÁR JÁNOS

A KUTATÁSSZERVEZÉS GAZDASÁGI KÉRDÉSEI

165 oldal · Fűzve 20,— Ft

A TUDOMÁNY NÉHÁNY ELMÉLETI KÉRDÉSE

Írták: Bóna Ervin, Farkas János stb.

291 oldal · Fűzve 34,— Ft

CSÖNDES MÁRIA—SZÁNTÓ LAJOS—VAS ZOLTÁN PÉTER

TUDOMÁNYPOLITIKA ÉS TUDOMÁNYSZERVEZÉS MAGYARORSZÁGON

233 oldal · Fűzve 22,— Ft

RÓZSA GYÖRGY

TUDOMÁNYOS TÁJÉKOZTATÁS ÉS TÁRSADALOM

155 oldal · Fűzve 20,— Ft

VAS ZOLTÁN PÉTER

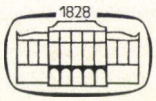
A BRAIN DRAIN. AZ AGYAK ELRABLÁSA

160 oldal · Fűzve 20,— Ft

PACZOLAY GYULA

TUDOMÁNYOK ÉS RENDSZEREK. TUDOMÁNYTERÜLETEK KÖZÖS TÖRVÉNYSZERŰSÉGEI

293 oldal · Fűzve 33,— Ft



AKADÉMIAI KIADÓ

A KORSZERŰ MŰVELTSÉGHEZ KEVÉS
HA CSAK SAJÁT SZAKTERÜLETÜNK EREDMÉNYEIT ISMERJÜK!

A
MAGYAR TUDOMÁNY
MINDEN TUDOMÁNYÁG KÖZÖS FÓRUMA

Ezt bizonyítja az alábbi válogatás az 1973-as évfolyamból:

— közérdekű cikkek:
országos szintű távlati kutatási tervekről
a tudományos-technikai forradalom kérdéseiről
a tudományágak hazai helyzetéről
a matematika modern fejezeteiről
a tudománypolitika és tudományszervezés időszerű kérdéseiről
a környezetvédelemről
a városrendezésről stb.

— viták:
a nyelvészeti strukturalizmusról
a fiatal kutatók helyzetéről
a hazafiság és internacionalizmus kérdéséről

— akadémiai hírek:
a közgyűlésről
az MTA újságjairól
tudományos pályadíjakról
a kutatóintézeteket érintő fontos rendelkezésekről

— megemlékezések
— könyvbírálatok
— körkép a hazai tudományos könyvkiadásról

A
MAGYAR TUDOMÁNY

megjelenik évente 12 számban.
Évi előfizetési ára: 60,— Ft.
Megrendelhető az Akadémiai Könyvesboltban (1052 Budapest, Váci utca 22) vagy az Akadémiai Kiadó Terjesztési Osztályán (1363 Budapest, Alkotmány utca 21.)

Ára: 24,— Ft

TARTALOMJEGYZÉK

Megemlékezés Kellner Béláról 145

Gegesi Kiss Pál: Az Akadémia szerepe az orvostudomány és az egészségügy fejlődésében. ... 149

Lapis Károly: MC-29 vírussal csirkében keltett májrákból kialakított transplantálható hepatoma finomszerkezeti vonásai. IV. ... 157

Gyurkó György és Nemes Zoltán: Szövetragasztó alkalmazása a helyreállító érsebészetben. ... 185

Solti Ferenc: Újabb adatok az agyi vérkeringés human szabályozásáról pathológiás állapotokban. ... 197

Medveczky Péter, Csuzi Sándor, Nász István és Antoni Ferenc: Adenovírussal asszociált endonukleáz kimutatása. ... 213

Makói Zita, Szőke Zsuzsa, Sasvári Lajos, Kelemen József és Regöly-Mérei Andrea: Sírás elemzés Cri du chat syndroma esetében. ... 223

Somogyi Endre és Sótonyi Péter: A jelzett gátlók alkalmazásának lehetőségei az elektronmikroszkópos citokémiában. ... 229

Ralovich Béla és Emődy Levente: Adatok a listeria immunitás problémájához. ... 237

Ralovich Béla, Láng Csaba és Verténvi Adél: Adatok az antipyrogen immunitás specificitásához. ... 243

Megjelent: 1976. III. 12.

Index: 26.615