ORVOSTUDOMÁNY

SZERKESZTI: KNOLL JÓZSEF

28.
KÖTET

A MAGYAR TUDOMÁNYOS AKADÉMIA V. ORVOSI TUDOMÁNYOK OSZTÁLYÁNAK KÖZLEMÉNYEI

1.
SZÁM

AKADÉMIAI KIADÓ, 1977

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

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 Intéze

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

28. kötet

AKADÉMIAI KIADÓ

Budapest, 1977

Orvostudomány

28. kötet

TARTALOMJEGYZÉK

Zsebők Zoltán, Szlávy László és Vadon Gábor: A szelektív angiográfiás eljárásról. 13
Felkai Dénes: A fejlődő országok egészségügye. 25
Ralovich Béla, Malcolm Voodbine és Manoucher Shahamat: Minimál táptalaj Listeria törzsek vizsgálatához. 43
Antoni Ferenc, Mandl József, Garzó Tamás és Mészáros Károly: Az izolált hepatocyták jelentősége a máj anyagcsere folyamatainak tanulmányozásában. 57
Magyar Kálmán, Tekes Kornélia, Zólyomi Gábor, Szüts Tamás és Knoll József: A para-Bróm-metilamfetamin (V-111) sorsa a szervezetben. 75
Lapis Károly és Szabó Dezső: A mellékvese daganatainak finomszerkezete. 101
Gegesi Kiss Pál: Az ember testi szervezetének és pszichikumának egymásra hatása és egymástól függése. 141
Radnót Magda: A retinoblastoma histogenesise. 167
Petri Gábor: A „paralytikus" ileus sympathicus idegrendszeri vonatkozásai. 173
Kesztyűs Lóránd: A nyúl-IgG fragmentumainak biológiai jelentősége. 203
Lapis Károly és Schaff Zsuzsa: A máj ultrastrukturális elváltozásai konstitucionális (idiopátiás) nem hemolitikus hiperbilirubinémiákban. 223
Knoll József: A mitokondriális monoaminooxidáz két fő típusa (MAO-A és MAO-B) és szelektív gátlóik. 239
Répássy Gábor, Schaff Zsuzsa, Lapis Károly, Marton Tibor, Jakab Ferenc és Sugár István: A heister-billentyű (valvula spiralis) nyálkahártyájának transmissiós és scanning elektronmikroszkópos vizsgálata cholelithiasisban. 259
Magyar Kálmán, Tekes Kornélia és Knoll József: A para-bróm-metilamfetamin (V-111) optikai izomérjeinek hatása a központi idegrendszer neurokémiai transzmissziójára. .. 265
Solti Ferenc: Újabb adatok a humán végtagi-peripheriás keringés regulációjáról. (Végtagkeringés vizsgálatok normális peripheriás érrendszer eseteiben.) 281
Lengyel Anna, Klembala Márta és Nász István: Adenovírusokkal kezelt emberi vörösvérsejtek lipoidjainak vékonyréteg kromatográfiás vizsgálata. 299
Sonkodi Sándor, Tichy Béla, Varga László, Mező Imre és Teplán István: Angiotensin eltűnése a portalis keringésből altatott patkányban. 309
Nemes Attila, Juhász Nagy Sándor, Sótonyi Péter és Somogyi Endre: Intermittáló hypoxiás terhelés hatásai a myocardiumon I. Physiologiai vizsgálatok koszorúereken. 321
Somogyi Endre, Sótonyi Péter, Juhász-Nagy Sándor és Nemes Attila: Intermittáló hypoxiás terhelés hatásai a myocardiumon II. Elektronmikroszkópos és elektronmikroszkópos cytokémiai vizsgálatok. 327
Markwardt Franz: Farmakológiai jelentőségű szintetikus szerinproteináz-gátlók kidolgozása. 339
Vizi E. Szilveszter: A neurokémiai ingerületátvitel preszinaptikus szabályozása. 349
Nász István és Ádám Éva: Adenovírus hexon fehérjék kristályosítása. 383
Mészáros Károly, Antoni Ferenc, Lapis Károly, Tompa Anna, Mandl József, Schaff Zsuzsa és Garzó Tamás: A galaktózamin májkárosító hatása. 395
Suba Zsuzsanna, Lapis Károly és Gráf Ferenc: A finomszerkezeti vizsgálatok lehetőségei a vérképzőszervi betegségek diagnózisának felállításában. 411
Antoni Ferenc: Az immunrendszer biokémiája. 427

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

28. kötet

AKADÉMIAI KIADÓ

Budapest, 1977

Semmelweis Orvostudományi Egyetem Radiológiai Klinika, Budapest

A SZELEKTÍV ANGIOGRÁFIÁS ELJÁRÁSRÓL

ZSEBŐK ZOLTÁN az orvostudományok doktora, SZLÁVY LÁSZLÓ az orvostudományok kandidátusa és VADON GÁBOR

Közlésre érkezett: 1976. IX. 8.

A szinte minden igényt kielégítő sugárfogó anyagok, a mind kedvezőbb tulajdonságú katheterek és az angiográfiához alkalmazott egyre tökéletesebb eszközök szinte az egész test érhálózatának röntgenvizsgálatához juttatták el a diagnosztikát.

A mellkasi és hasi szervek betegségeinek kórismézésében azokban a kórképekben, amelyek az érhálózat valamely elváltozásával járnak, az angiográfia új utakat nyitott meg. Az érhálózat röntgenvizsgálatának legfejlettebb módja az elkülönített (szelektív) érfeltöltés módszere. Ezzel az eljárással úgy végezzük az angiográfiát, hogy a sugárfogó anyagot csupán abba a véredénybe (pl. az arteria renalisba) fecskendezzük, amely csak a vizsgálni kívánt szervet, vagy annak csupán egy részét látja el. Így csak a vizsgálni kívánt területet tesszük ki kontrasztanyag hatásnak.

Ezúton egyfelől pontosabb adatokhoz juthatunk, mintha pl. hasi aortán át töltjük fel az onnan kiágazó véredényeken keresztül valamely szerv érhálózatát, ezen felül lényegesen kevesebb kontrasztanyag felhasználására van szükség, s ezzel kisebb a beteg megterhelése.

Organográfiának nevezhetjük azt az eljárást, amellyel egy szervnek csak a saját érhálózatát vizsgáljuk. A tüdő, a szív, máj, lép, pancreas és vese érhálózatának röntgenképéből következtethetünk az esetleges kóros érszerkezetre, az eltérés okára. A célzott vizsgálatot leggyakrabban rosszindulatú daganatok felderítése céljából alkalmazzuk, ezek ugyanis szinte minden esetben az érhálózat jelentős elváltozásával járnak együtt, s ezek kimutatásában pótolhatatlan értékű az organográfia.

Jelentős szerepe van ennek a módszernek egyéb, érhálózat elváltozással járó kórképek, mint pl. a koszorúér betegségek kórismézésében is.

A szelektív angiográfiás vizsgálatok közül a legjelentősebbek:

1. A tüdő egyes lebenyeinek célzott vizsgálata (angio-pneumográfia).
2. A koszorúserek (coronarográfia) röntgenvizsgálata.

3. Az aortaívből kiinduló egyes véredények (a. subclavia, a. vertebralis) feltöltése kontrasztanyaggal.
4. A hasi főverőér páratlan ágainak sugárfogó anyaggal végzett röntgen ábrázolása. Így többek között a máj, hasnyálmirigy és a lép ereinek ábrázolása (hepatopancreaticolienográfia).
5. A vese (renovasográfia) és mellékvese arteriák szelektív angiográfiája.

A szelektív angiográfia alkalmazási köréről, módszeréről, eredményeiről nagyszámú közlés jelent meg. Célunk most és itt az, hogy összefoglaló áttekintést adjunk és tapasztalatainkat összegezzük először mellkasi, majd a hasi szervek célzott angiográfiás vizsgálatával kapcsolatban.

Az első kérdés, hogy milyen kockázattal jár az eljárás, és szabad-e vállalnunk ezt a kockázatot?

A kockázat semmivel sem nagyobb, mint más angiográfiás eljárások esetében s bizonyos összefüggésben áll a vizsgálatot végző személy

1. gyakorlottságával,
2. tapasztalatával,
3. az alkalmazott sugárfogó anyag töménységével,
4. kémiai szerkezetével és
5. a befecskendezett anyag mennyiségével.

(Zsebők és *Szlávy* 1974.) *A kockázatot vállalni kell, ha a vizsgálatból nyerhető pozitív előjelű adat értékesebb, mint a vállalt negatív előjelű kockázat nagysága, amellyel a vizsgálat jár.*

Kockázatot jelent ugyanis nemcsak a sugárfogó anyag befecskendezése, hanem többek között és főképp a kathéter bevezetése, mozgatása az érlumenben, a véredény falán végzett minden beavatkozás.

A másik kérdés az, hogy milyen hatásfokú ez a vizsgálat és milyen megbízható az ebből alkotott vélemény?

Számos közlésben foglalkoznak ezzel a szerzők. Ezek közül hivatkozunk *Cormier* (1966) beszámolójára, aki 6%-ban jelöli meg a diagnosztikai tévedések arányát olyan betegeknél, akik az arteria mesenterica superior és az arteria mesenterica inferior területének angiográfiás vizsgálatával daganatok fennállását és helyét igyekeztek kideríteni.

A vizsgálat kiviteléről annyit mondhatunk, hogy elvi részük megegyező, amennyiben leginkább *Seldinger*-eljárással, vagy ennek valamely módosítása szerint vezetjük be a szelektív vizsgálatra alkalmas, különféle (pl. Judkins stb.) különlegesen kialakított kathétert a vizsgálni kívánt területet ellátó verőérbe. *A kathéter bevezetése a kis átmérőjű véredénybe nagy tapasztalatot és gyakorlatot kíván.*

A *Seldinger*-eljárást oly sokszor ismertették, hogy ennek tárgyalásától eltekinthetünk. Annyit említünk meg csupán, hogy a mellkasi nagy véredények

(aortaív és ágai) és a *hasi* szervek szelektív angiográfiáját szinte kivétel nélkül mindig az arteria femoralison át felvezetett kathéterrel végezzük, így juttatjuk a feltölteni kívánt véredénybe a sugárfogó anyagot.

Ezeknek a vizsgálatoknak is szorosan értelmezett *javallata* és *ellenjavallata* van.

Indokolt az elkülönített-célzott érhálózat röntgenvizsgálat általában akkor, ha olyan elváltozást tételezünk fel, amely a kóros érhálózati szerkezettel jár együtt, s a röntgenképből bizonyítani, vagy jellegzetes tünetek hiányában kizárni nem tudjuk a feltételezett folyamatot.

Az *ellenjavallat* rövid megfogalmazásban így jelölhető meg:

1. Mellőzendő minden angiográfia allergiás betegnél, különösen, ha a kórelőzményben kontrasztanyag túlérzékenység, vérzési vagy véralvadási zavar szerepel.
2. El kell tekinteni tőle akkor is, ha a várható kórismézési adat más úton, kisebb kockázattal megszerezhető.
   Így pl. egyáltalán nem kockázatos a radioizotópos vesevizsgálat, mellyel olyan adatokhoz juthatunk, amelyek feleslegessé tehetik az angiográfiát.
3. Nem végezhető el angiográfia keringési elégtelenség állapotában és a vese kiválasztási tevékenységének súlyos zavarában (magas maradék nitrogén) sem.

A célzott angiográfiát végezhetjük helyi érzéstelenítésben és általános érzéstelenítésben is. Mindkét eljárás mellett pro és contra érveket szoktak felsorolni. Minden esetben mérlegelni kell, melyik módszer a célirányos és melyik jár a kisebb kockázattal. *Nem kell dogmatikusnak lenni!*

A szelektív angiográfia a már említett *elvi* szempontokat tekintetbe véve elsősorban az érhálózat anatómiai, morfológiai viszonyainak felderítésére alkalmas. Kimutathatjuk kb. 1.0 mm átmérőjű véredényekig terjedően:

1. az elzáródást (embolia, thrombosis, infarctus),
2. a kiöblösödést (aneurysma),
3. az arterio-venosus összeköttetést,
4. a kóros érhálózatot (fejlődési rendellenesség, pl. angioma),
5. traumás elváltozásokat (az ér elszakadása),
6. gyulladáshoz társuló történéseket,
7. valamint a degeneratív folyamat okozta jellegzetes eltéréseket.

1. A célzott angio-pneumográfiáról

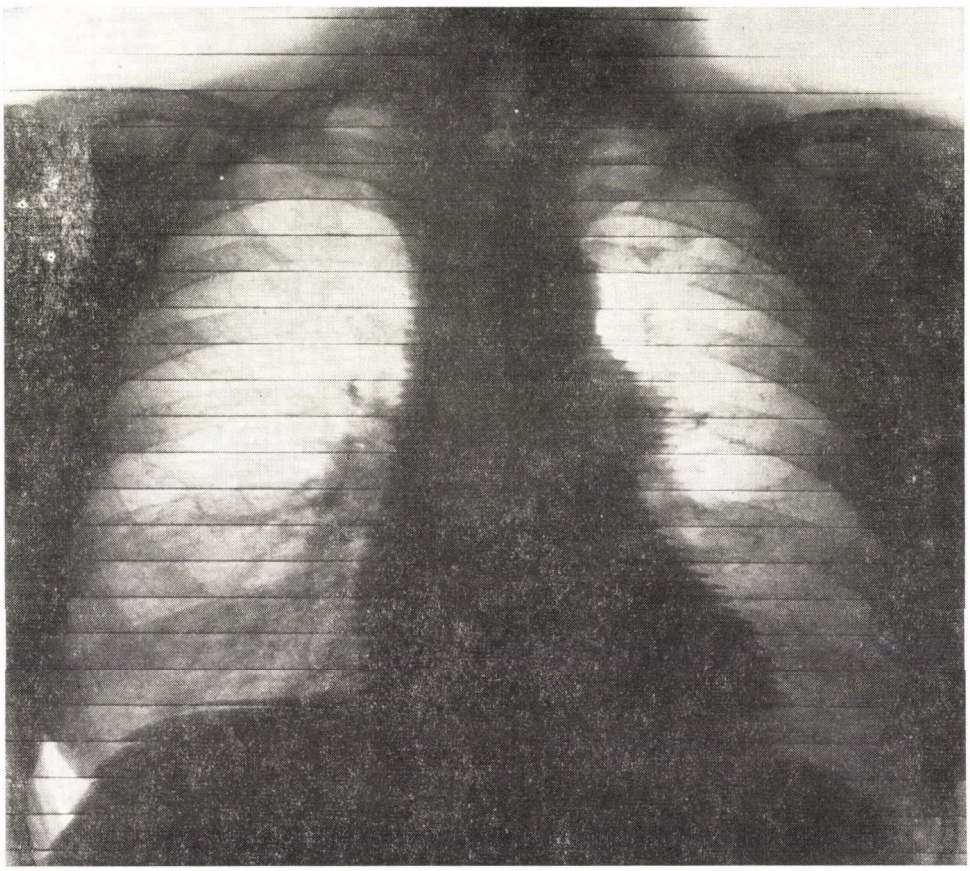
A szívkathéterezéssel végrehajtott angiocardiográfia széles körben ismeretes eljárás.

A szelektív angio-pneumográfia ennek továbbfejlesztése. A methodikája annyiban nehezebb, hogy utóbbinál a kathérerrel túl kell haladni az a. pulm.

conus pulmonalisán s be kell jutni vele a jobb, ill. bal főtüdőverőér ágba, s onnan az egyes lebenyeket ellátó kisebb véredény törzsbe.

Az eljárás nagy gyakorlatot, türelmet kíván a vizsgálótól. Újabban forgalomba kerültek olyan szerkezetek, melyek a kathéter kormányozását a kívánt irányba megkönnyítik. A kathéter felvezetését természetesen képerősítő-televíziós-lánc közbeiktatásával röntgen ellenőrzéssel végezzük. Az angiopneumográfia jelentősége és alkalmazásának gyakorisága csökkent a *radioizotóppal végezhető tüdőscintigráfia* elterjedésével, mely aránylag „egyszerű" és kockázat nélküli, bár bizonyos tekintetben *nem pótolhatja az angio-pneumográfiát, mellyel tisztázni tudjuk egyes tüdőbeli árnyékok hovatartozását, mibenlétét, pontos helyét a véredényágakhoz képest, s a tüdőérhálózat szerkezeti viszonyait.* A röntgenfelvételeket az angiocardiográfiánál bevált metodika szerint készítjük.

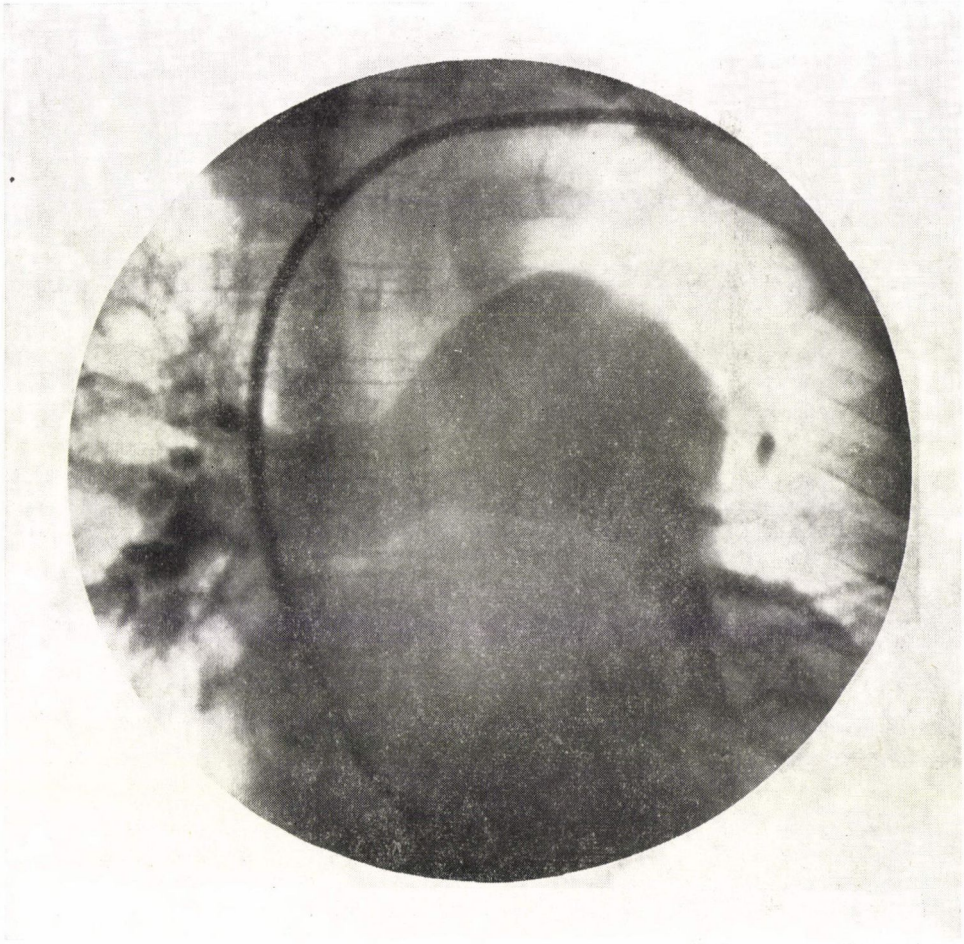
2. *A coronarográfia* csak lassan tudott tért hódítani. Mint az agy, éppúgy a szív is a sebészeti beavatkozás tekintetében hosszú ideig a „nolite tangere"



1. ábra. Mediastinalis tumort utánzó pulmonalis törzs aneurysma. a) *Kymogram.* Jól látható a pulmonalis „terime" synchron pulsatiója.

csoportba tartozott. A technikai feltételek is hiányoztak ahhoz, hogy célzott vizsgálatra mindenben alkalmas kathéterrel, röntgenberendezéssel végezhessük el a koszorús erek feltöltését sugárfogó anyaggal és ábrázolását a röntgenfelvételen (*Zsebők* és *Szlávy*, 1974).

A megoldatlan technikai kérdések miatt kellett kezdetben, még jó 10 évvel ezelőtt is a vizsgálatot szívmegállítással végrehajtani. Napjainkban viszont ez a vizsgálat hazánkban is mindennapos, de *nem rutin eljárás!* A coronarográfia jelentősége abban van, hogy a szív koszorús ereinek az anatómiai viszonyairól, morfológiai elváltozásairól, szűkületéről, elzáródásáról, a szívizom vérellátásáról semmi más eljárással meg nem szerezhető tájékozódást nyerhetünk. Főképp tervezett korrekciós műtét előtt a vizsgálat nélkülözhetetlen (*Favaloro* 1971, *Dawson* 1974). Angina pectoris esetén vagy

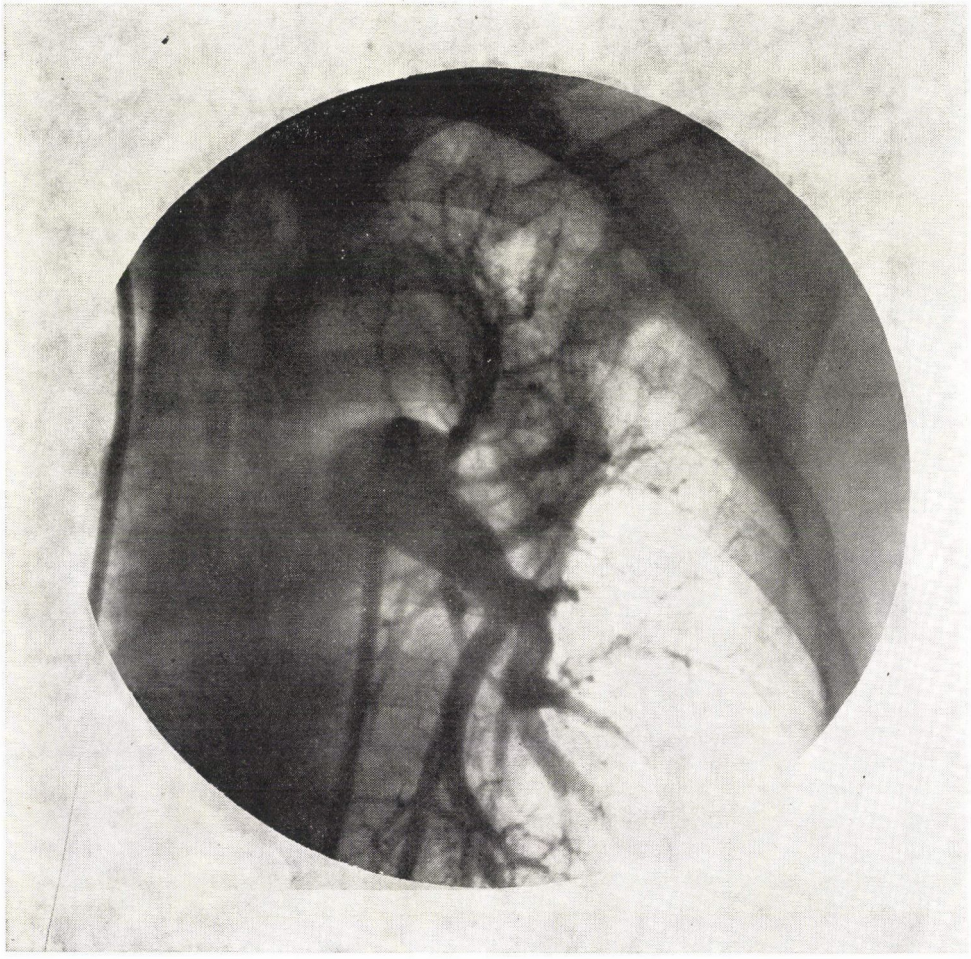


b) *Célzott angiografia.* Női ököl nagyságú pulmonalis törzs aneurysma látható

myocardialis infarctus utáni állapotban kerül sor erre a szelektív érvizsgálatra. A coronarográfia javallata, éppígy módszere napjainkban pontosan kialakított *(Reeves* 1974).

A röntgenvizsgálat kivitelérőI ehelyütt annyit, hogy legalább 3 irányból kell készítenünk röntgenfelvételt a szív koszorúsereinek (a jobb és bal, fő- és mellékágak) lehető jó ábrázolása céljából. Egyet, az elsőt a jobb, az ún. II. ferdében, mikoris a fekvőhelyzetű mintegy 30°-kal jobbra fordított beteg bal testfelszínéről merőlegesen esik be a centralis röntgensugár.

A második felvételt az első, vagyis a bal ferdében készítjük, miközben mintegy 60°-kal fordítjuk el a beteget bal felé és a jobb testfelszínről merőlegesen esik be a centralis sugár.



2. ábra. Bal felső lebeny daganat célzott angiografiás vizsgálata. A daganatnak megfelelő helyen a véredények dislocaltak. Amputált megtört véredény nem hatlátó

Így általában jó képet nyerhetünk nemcsak a ramus descendens anterior és posteriorról, a ramus circumflexusról, de a septum ágakról is. Újabban a lehető még részletesebb elemezés, és ehhez szükséges egyéb vetületi képek előállítása céljából (ami elsősorban és főképp a bal koszorúsér és ágainak jó ábrázolása és elemzése céljából szükséges) olyan különleges sebészeti képerősítőszerkezetet készítettek, mellyel a beteg elmozdítása nélkül lehet tetszőleges szögállásban bármely — balról jobbra vagy jobbról balra vetített felvételt készíteni a koszorúserekről, még 45°-os caudalis, ill. cranialis elvetítéssel is. A coronarográfiás vizsgálat során is nemcsak sorozatképeket készíthetünk, hanem a 7—9 collos képerősítő közbeiktatásával a látható feltöltéses képet



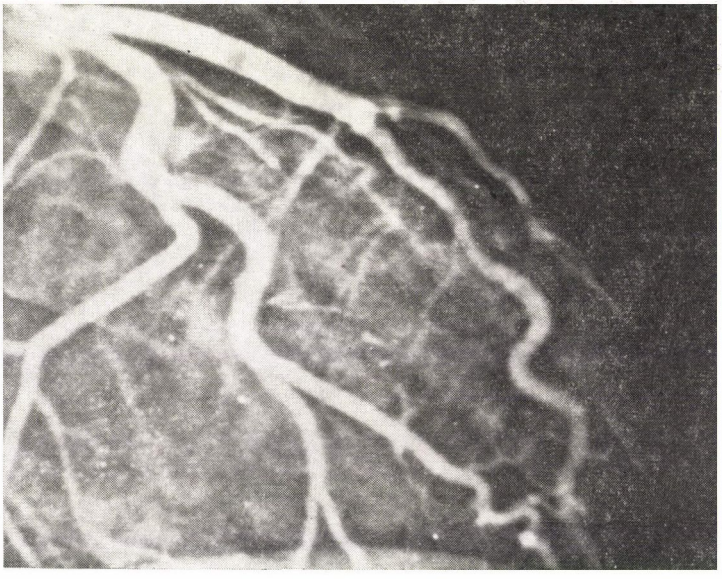
3. ábra. Jobb hilusban ülő daganat célzott angiografiás vizsgálata. A jobb oldali pulmonalis arteria ágak a daganat területén komprimáltak, befogottak, amputáltak. Inoperabilis daganat

röntgen mozgóképre veszik fel, vagy vidikon kamera használatával tv-monitorra vihetjük a képet s onnan készíthetünk fényképfelvételt.

3. *Az aortaív nagy ágainak* célzott vizsgálatára legtöbbször a degeneratív elváltozás talaján kialakult panaszok feltérképezése céljából kerül sor, míg

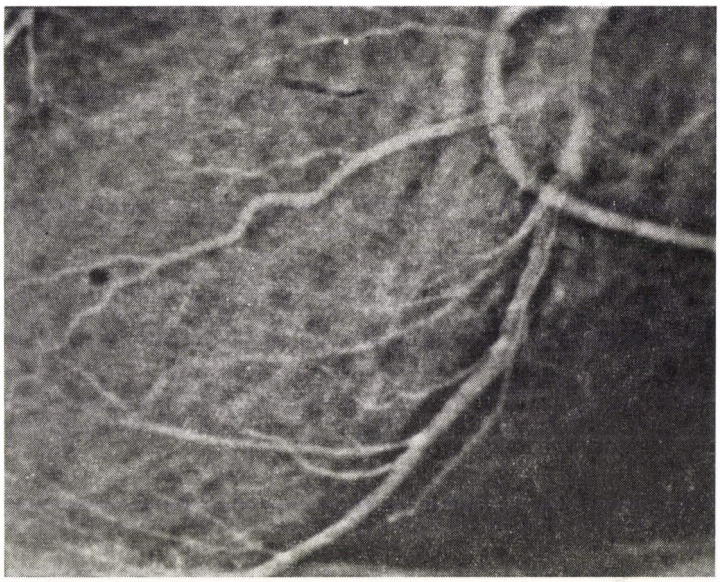


4. ábra. Jobb oldali célzott coronarogram (oldal irányú felvétel). Normál anatómiai viszonyok

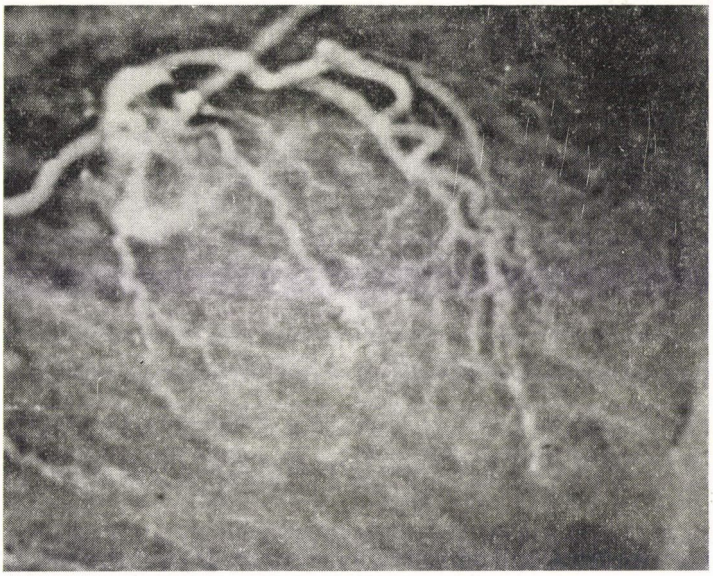


5. ábra. Bal oldali célzott coronarogram. Az elülső leszálló ágon szűkület látható. A szűkület mögötti szakaszon az ér kanyargós lefutású

lényegesen ritkábban végezzük sérüléshez társuló, illetve daganatos folyamat vagy fejlődési rendellenesség okozta érelváltozások kimutatására (*Abrams* 1971). Degeneratív folyamatban az angiográfiás vizsgálatnak a következő kérdésekre kell választ adnia:

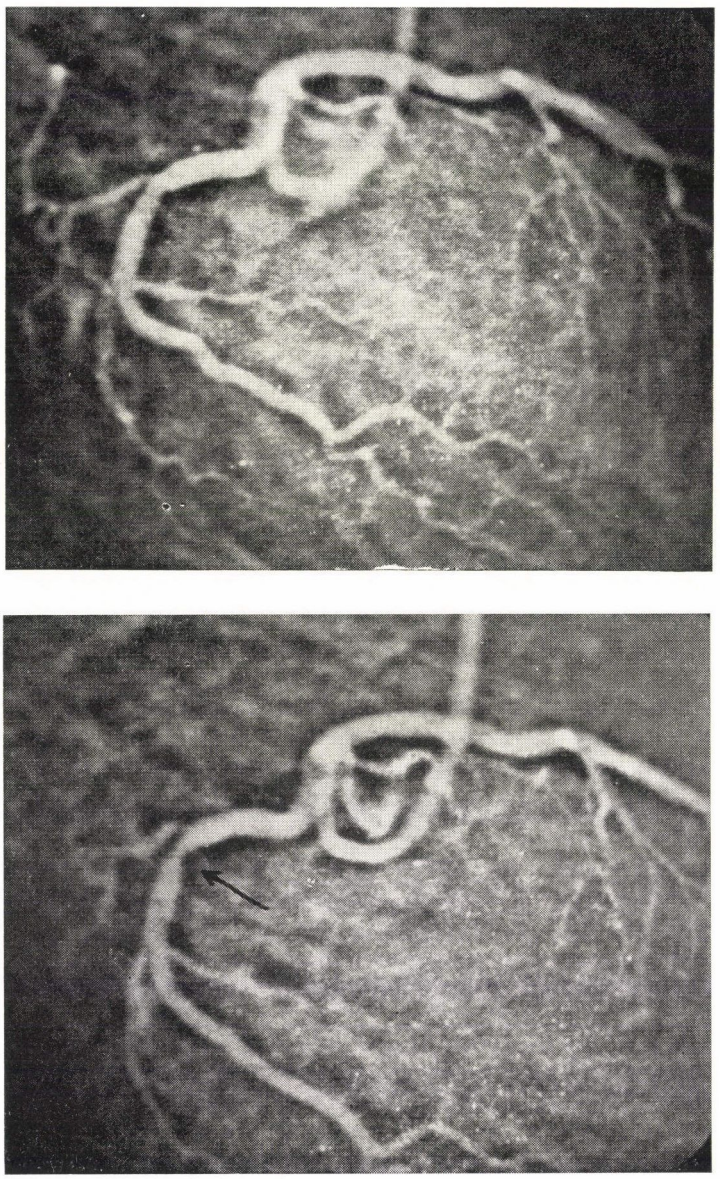


6. ábra. Bal oldali célzott coronarogram. Az elülső leszálló ágon kétszeres szűkület van. (Körkörös és ék alakú.) A szűkület mögötti szakaszon áramlási phenomen figyelhető meg



7. ábra. Bal oldali coronarogram. Oldal irányú felvétel. A bal elülső leszálló ágon elzáródás utáni revascularisatio figyelhető meg. A jelzett területen számos új véredény látható

1. melyik véredényrészletet érinti a degeneratív folyamat,
2. milyen kiterjedésű,
3. az adott elváltozás a keringési viszonyokat mennyiben változtatta meg, s ez hogyan függ össze a beteg panaszaival?

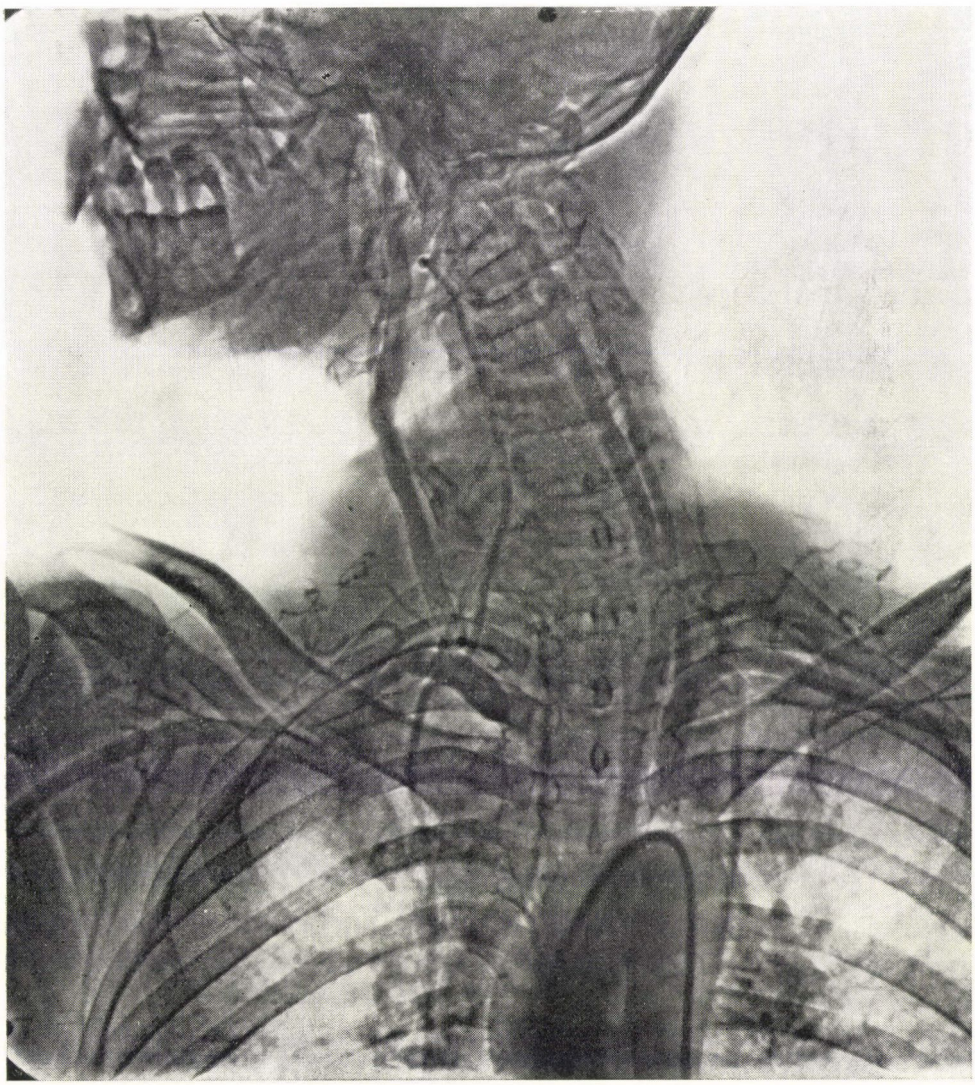


8. ábra. Bal oldali coronarogram. Oldal irányú felvétel. a) *Diaphyllin előtt.* A coronarogram gyakorlatilag „negatív". b) *Diaphyllin után.* A bal körbefutó ágon 50%-ot meghaladó szűkület mutatható ki (nyíl)

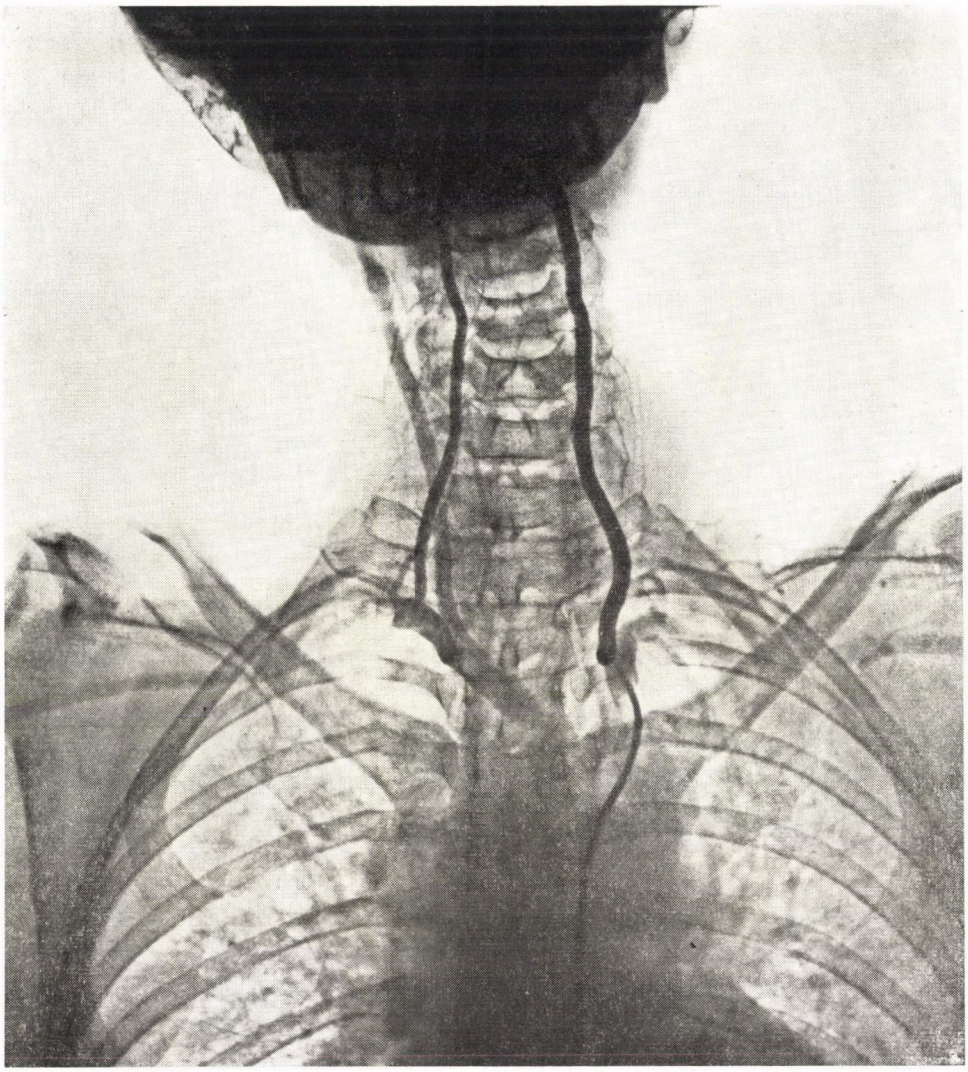
A nyaki régióban előforduló daganatoknál a cél részint az érszerkezet, másrészt a véredényekhez való viszony tisztázása.

Sérülések és fejlődési rendellenességek gyanújakor az angiográfiás vizsgálattal — az adott érelváltozások és klinikai kép közötti összefüggést kívánjuk tisztázni.

4. A hepato-pancreatico-lienográfiáról röviden a következőket mondhatjuk: az általánosan ismert klinikai diagnosztikai eljárásokkal a máj morfológiai viszonyairól, kóros elváltozásairól csak szerény tájékozódást szerezhe-



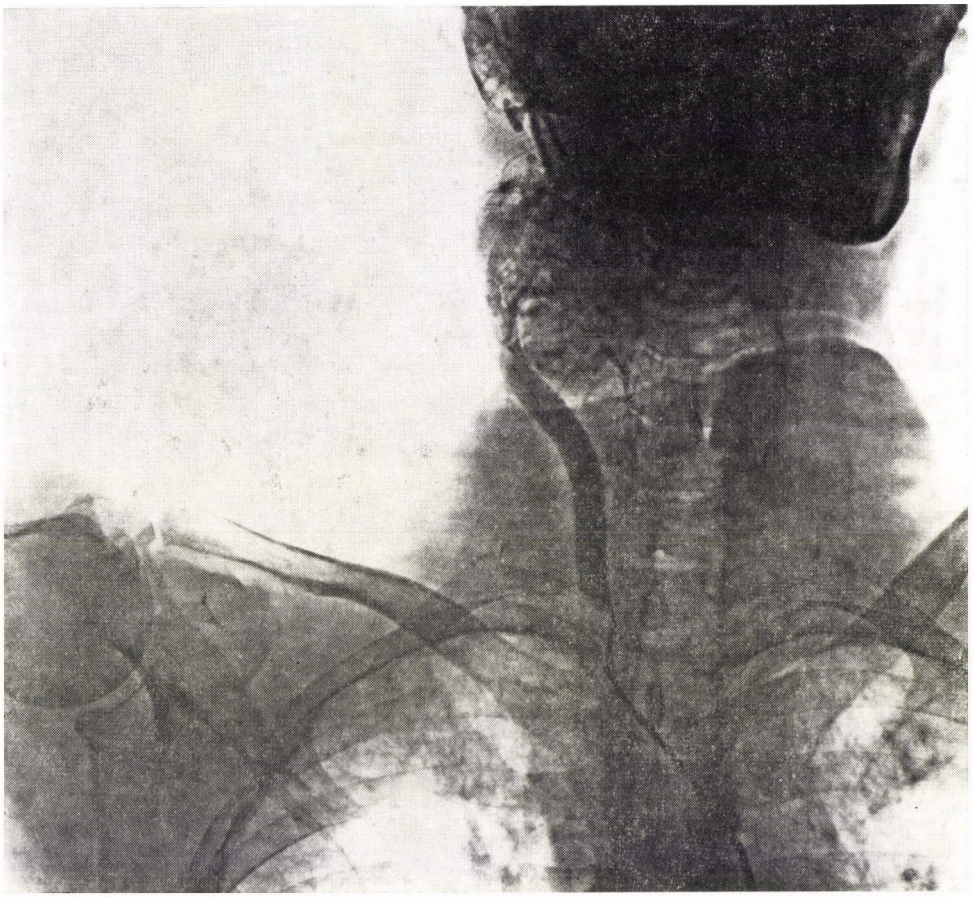
9. ábra. Teljes ivaortografia. Az arteria anonyma 3—4 cm hosszúságú elzáródása figyelhető meg



10. ábra. Aortaív syndroma — többszörös elzáródással. Katheter a bal a. vertebralisban. Ezen keresztül telődik az ellenoldali subclavia részlet — kétszeres valvularis jellegű stenosissal

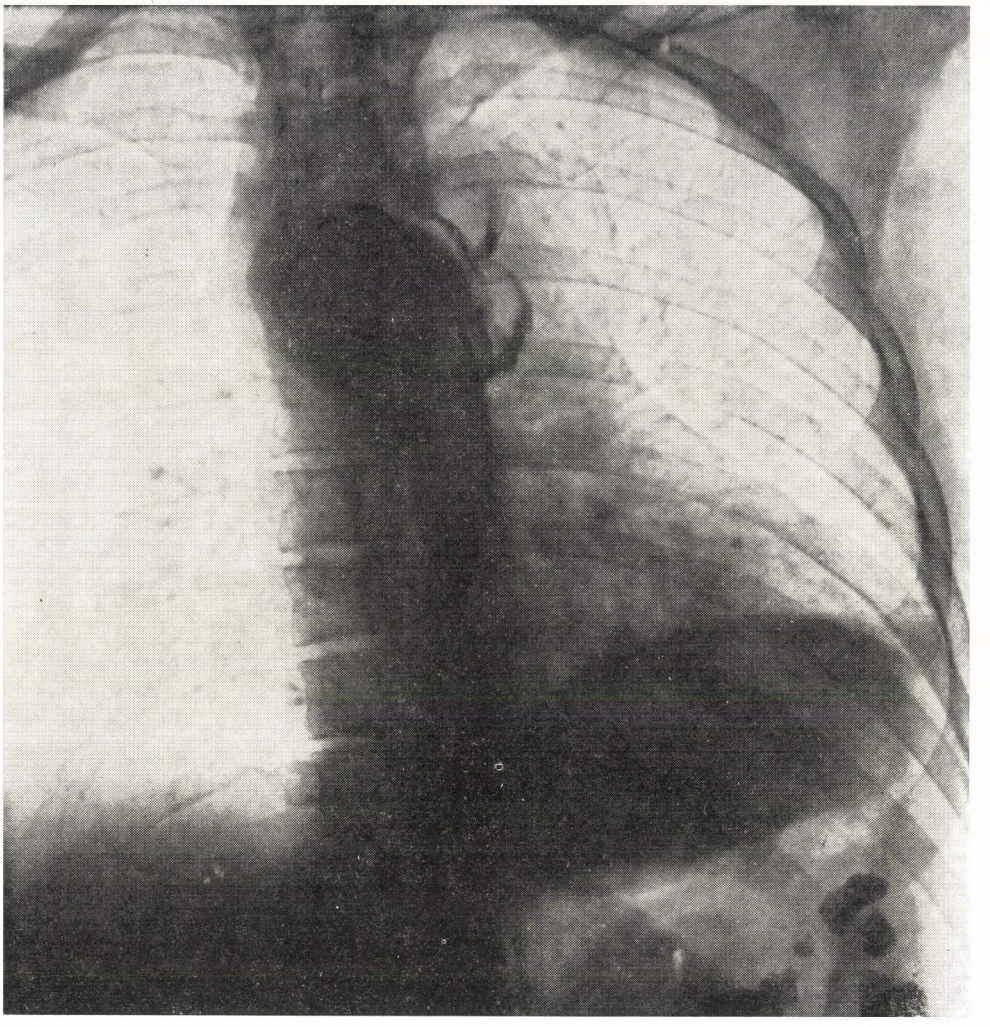
tünk, s utóbbiakról csak előrehaladott folyamatok esetén. A máj elsődleges vagy másodlagos daganatait vagy más, a májállományban beágyazott folyamatokat, cystákat, stb., melyeket röntgenvizsgálattal leginkább csak a szomszédos szerveken előidézett jelenségekből valószínűsíthetünk, amikor már tetemes terjedelműek. A májfunkciós próbák is cserben hagynak bennünket, ha a kóros elváltozás nem okoz tetemes parenchyma pusztulást, működés kiesést. A máj szerkezetének elemzésében azonban az angiográfia elsőrendű

fontosságú, főképp a májdaganatok felderítésében, a folyamat kiterjedése és elhelyezkedése tekintetében juthatunk értékes adatokhoz. A szelektív hepatográfiával érdús vagy éppen érszegény daganatokat már akkor ki tudunk mutatni, amikor a daganat csupán 1—2 cm átmérőjű. A kóros érszerkezetből messzemenő következtetéseket vonhatunk le az elváltozás jó-, ill. rosszindulatúsága tekintetében (13., 14., 15. sz. ábra).



11. ábra. Jobb oldali submandibularis regióban női ököl nagyságú typusos malignus angiostructurát mutató — környezete felé élesen határolt daganat

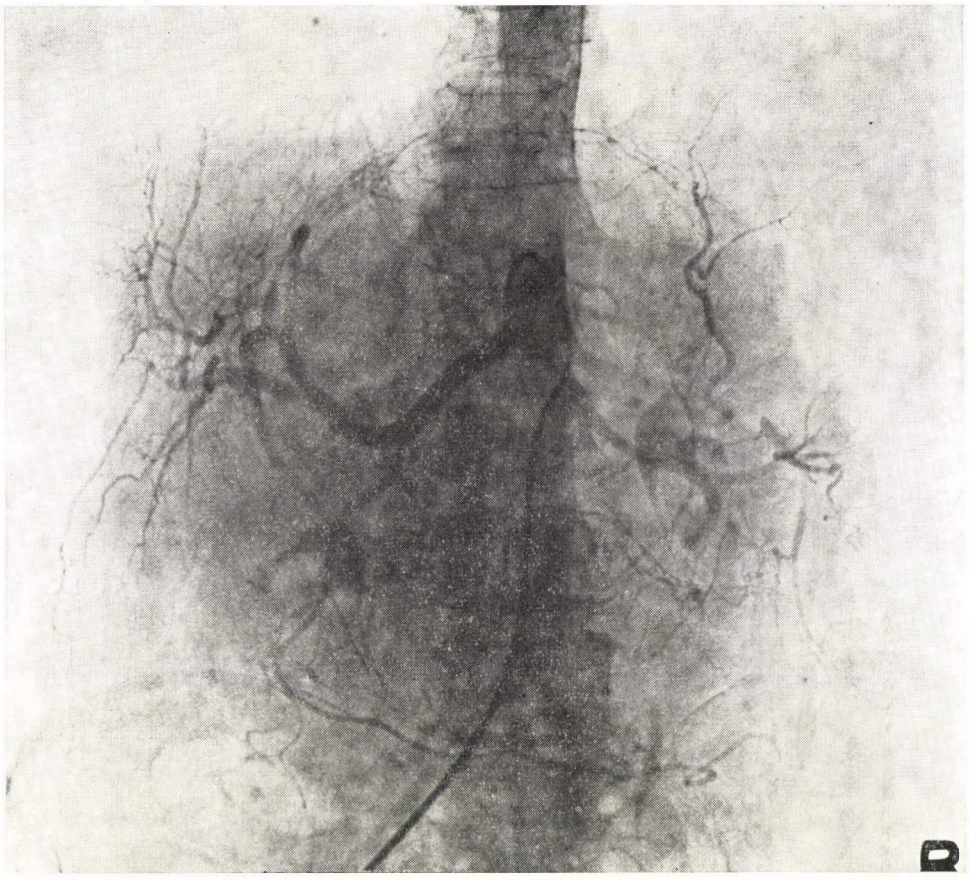
A különböző aethiológiájú májelváltozások (pl. cirrhosis), portocavalis (shunt) készítése előtt, májdaganatok elkülönítésére, valamint, ha a klinikai tünetek alapján az arteria hepatica valamely direct elváltozása tételezhető fel, hasonlóképp indokolt ez az arteriográfiás vizsgálat (*Bartley* 1967, *Preger* 1967, *Rossi* és *Gould* 1970).



12. ábra. Traumás aortaív aneurysma célzott vizsgálata. Az aortaíven 5 × 3 cm nagyságú aneurysma van

A portalis hypertensio vizsgálatára is sikerrel alkalmazhatjuk a májangiográfiát. A tervezett műtéti beavatkozás előtt, az érhálózat angiográfiás vizsgálatával deríthetjük ki pontosan, hogy a kóros állapotot létrehozó, fenntartó akadály az érpálya mely területén van (16. sz. ábra) *(Varon* és *Wolf* 1968, *Panke és mtsai* 1959).

Az angiográfia szolgálhat az izotóp-vizsgálat kiegészítéseként is, az egyébként „néma" májmetastasisok felderítésére. Ezek hosszú ideig tünetmentesen lehetnek jelen és laboratóriumi módszerekkel nem tudjuk kimutatni őket *(Rossi* és *Gould* 1970).



13. ábra. Coeliacográfia. Pancreas cysta meszesedéssel. Az a. coeliaca ágai ívben széttoltak, gyermekfejnyi terime rajzolódik körül

A nem daganatos elváltozások közül a cystás jellegű betegségek, mint az echinococcus, a májtályog felderítésében, valamint a májsérülések, a májszétszakadás kimutatására értékes módszer az angiográfia.

Amit a májról mondtunk, érvényes a lép vonatkozásában is, sőt a pancreasfej rákról is értékes információkhoz juthatunk az angiográfiás módszerrel (Stein 1969).

Az idevonatkozó statisztikai adatok 80—85%-os biztonsággal kimutatott esetekről adnak számot, amennyiben a szelektív eljárással feltöltött gastroduodenalis, illetve gastroepiploicus érhálózat elváltozásai és a korai venás telődés olyan jellegzetes képet adnak, amelyekből következtethetünk a folyamat fennállására. Az insulinoma felderítése is hálás területe ennek a vizsgálóeljárásnak *(Lunderquist* 1965).



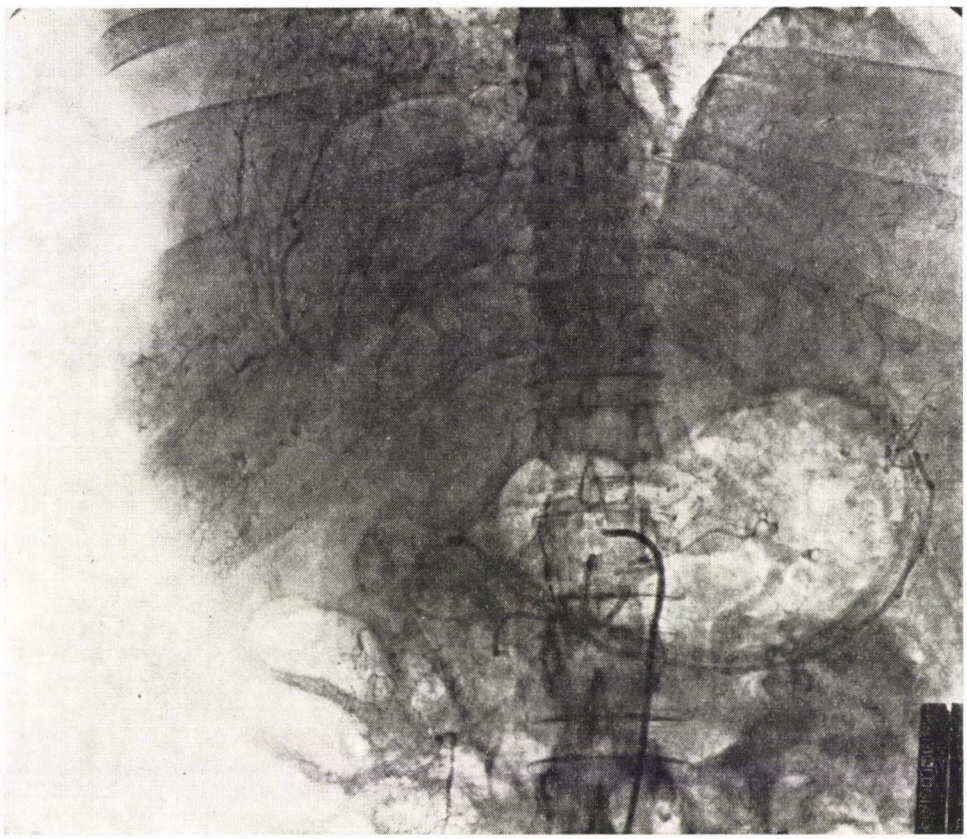
14. ábra. Abdominalis aortografia. Emberfejnyi echynococcus cysta a májban. Az a. hepatica ívben erősen lenyomott, a cysta érszegény

Kevésbé alkalmas a methodika viszont a krónikus pancreatitis kimutatására.

Az art. mesenterica superior katheterezésével végrehajtott arteriográfiás vizsgálat a portalis hypertensio következményeként kialakuló haematemesis okának felderítésére szolgálhat (*Boijsen* és *Reuter* 1966).

A szelektív vese arteriográfia alkalmas:

1. a világra hozott fejlődési rendellenességek (mint patkóvese, ectópiás vese, a vese hypoplasia),
2. különböző sub- és intracapsularis cysták (17. sz. ábra),
3. polycystás vese,
4. rosszindulatú daganatok (elsősorban a hypernephroma, ritkábban a sarcoma, nephroblastoma (Wilms-tumor) vagy más daganatos elváltozások felderítésére (18. sz. ábra).

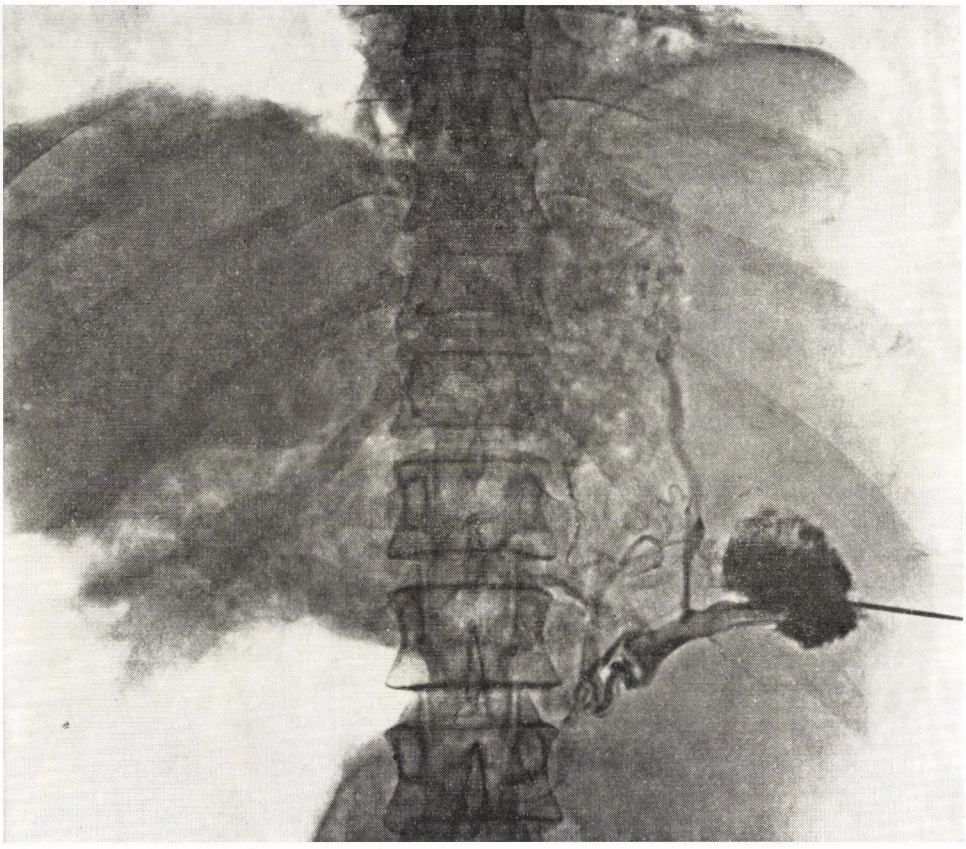


15. ábra. Az a. mesenterica superior szelektív angiografiája. Pancreas daganat májmetastasisokkal. Az a. mesenterica superiorba fecskendezett kontrasztanyag a pancreaticoduodenalisokon keresztül kitölti a coeliaca rendszert is. A pancreas fejnek megfelelően tumoros érrajzolat, a máj jobb lebenyében 2 diónyi érgazdag metastasis

Adott esetben a szövetpusztító, de nem kevésbé a vese traumás elváltozása, a vese szétszakadása, továbbá az arteriovenosus sipoly is kellő biztonsággal felderíthető ezzel a módszerrel, továbbá degeneratív és gyulladásos

folyamat által okozott elváltozások feltérképezésére, vese arteria elzáródásának (thrombosis, embolia) a kimutatására alkalmas a célzott vese angiográfia.

Az utóbbi időben egyre többször kerül felhasználásra olyan esetekben is, amikor arra kell választ adnunk, hogy az átültetett vese életképes-e, vagy pedig eltávolításra szorul-e.

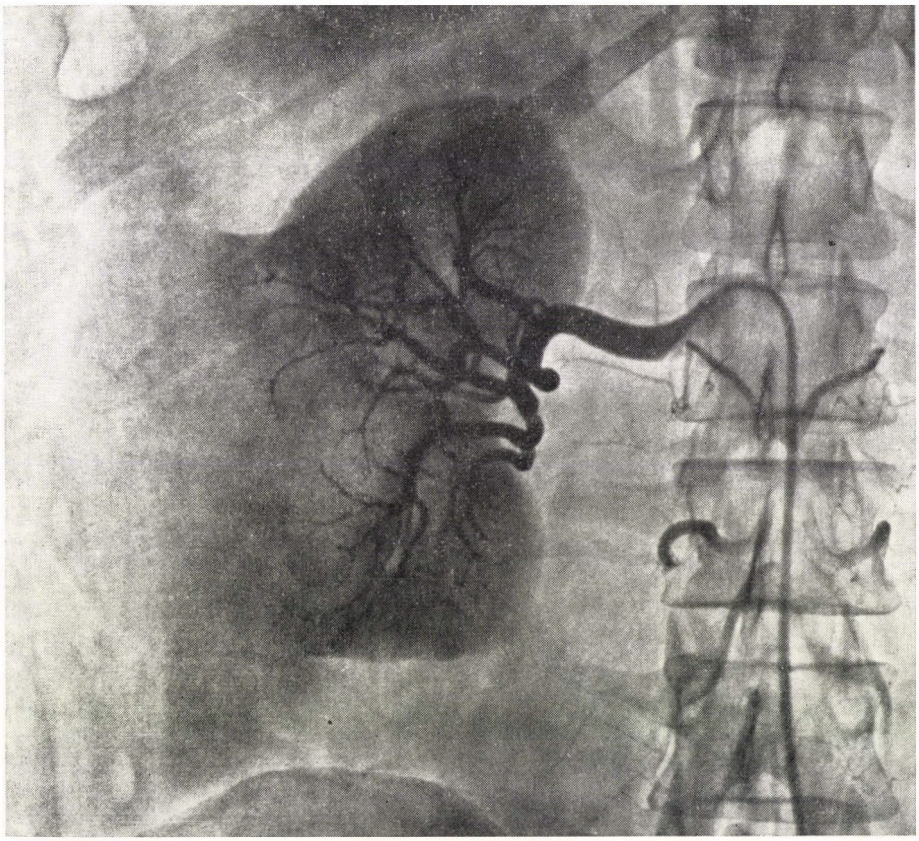


16. ábra. Direct splenoportografia. Vena portae thrombosis. A kontrasztanyag collateralisokon, a vv. gastricae brevesen keresztül jut a cava rendszerbe. A vena portae félárnyékosan egyenetlenül telődött

A mellékvese adenomák igazolása vagy kizárása szempontjából a szelektív angiográfia döntő jelentőségű lehet. Tájékozódhatunk a mellékvese, illetve a vese felső pólusában elhelyezkedő pheochromocytoma, vagy cortexből kiinduló malignus tumor jelenlétéről.

Mindezek alapján elmondható, hogy megfelelő indikáció mellett végzett célzott angiográfiás vizsgálat segítségével egy-egy esetben olyan kérdésekre

tudunk választ adni, amire a legközelebbi múltig a rendelkezésünkre álló eljárások szolgáltatta adatok birtokában nem volt lehetőségünk. Éppen ezért megfelelő indikáció esetén bátran élni kell ezzel a viszonylag új eljárás nyújtotta lehetőséggel.



17. ábra. Szelektív vese angiográfia. Subcapsularis vesecysta. A vese alsó kétharmadában lateralisan kipúposodik. Ennek megfelelően az erek széttoltak, a parenchymában kiesés látható

Összefoglalás

Szerzők munkájukban a célzott angiográfia értékét tárgyalják: a tüdő elváltozások, a szív saját véredényrendszerén jelentkező megbetegedések kimutatásában. Továbbá az aortaívből eredő nagy véredények különböző aetiológiájú elváltozásainak célzott vizsgálatával foglalkoznak, majd a hasi aorta páros és páratlan ágai szelektív vizsgálatának diagnosztikus értékét ismertetik.

Munkájukban külön rámutatnak egy-egy szerv, illetve szervrendszer esetén ezen vizsgálatokkal nyerhető adatokra és ezek mindennapi értékére a diagnosztikában.



18. ábra. Szelektív vese angiográfia. Hypernephroma. A vese felső pólusa kipúposodott, almány területen malignus érstruktúra látható

IRODALOM

Abrams, L. H.: Angiography. Little, Brown Co., Boston, p. 401 (1971)
Abrams, R. M., Berenbaum, E. R., Santos, J. S. és *Lipson, J.:* Radiology **92,** 308 (1969).
Alfidi, R. J., Rastogi, H., Buonocore, E. és *Brown, C.:* Radiology, **90,** 1136 (1968).
Aronsen, K. F., és *Nylander, G.:* Radiology **88,** 40 (1967).
Baron, M. G. és *Wolf, B. S.:* J. A. M. A. **206,** 629 (1968).
Bartley, O., Edlund, Y. és *Helander, C. G.:* Acta Radiol. (Diagn., Stockh.) 6, 81 (1967).

Benkő, Gy.: Radiol. Clin. **39,** 334 (1970).
Boijsen, E.: T. Gastroent. **12,** 219 (1969).
Boijsen, E., Judkins, M. P. és *Simay, A.:* Radiology **86,** 66 (1966).
Boijsen, E. és *Reuter, S. R.:* Radiology **87,** 1028 (1966).
Dawson, J. T.: Am. J. Cardiol. **33,** 483 (1974).
Evans, J. A.: Radiology **82,** 579 (1964).
Favaloro, R. G.: Am. J. Cardiol. **28,** 598 (1971).
Kreel, L., Gitlin, N. és *Sherlock, S.:* Amer. J. Med. **48,** 618 (1970).
Lunderquist, A.: Acta Radiol. Suppl. 235 (1965).
Nebesar, R. A. és *Pollard I. I.:* Radiology **89,** 1017 (1967)
Panke, W. F., Bradley, E. G., Moreno, A. H. és *Ruzicka, F. F.:* J. A. M. A. **169,** 1032 (1959).
Popper, H., Elias, H. és *Petty, D. E.:* Amer. J. Clin. Path. **22,** 717 (1952).
Preger, L.: Amer. J. Roentgenol. **101,** 619 (1967).
Redman, H. C. és *Reuter, S. R.:* Radiology **92,** 788 (1969).
Reeves, J. T.: Am. J. Cardiol. **33,** 423 (1974).
Rossi, P. és *Gould H. R.:* Radiology **96,** 553 (1970)
Stein, H. L.: Radiology **93,** 367 (1969).
Viamonte, M. Jr., Warren, W. D., Fomon, J. J. és *Martinez, L. O.:* Surg. Gynec. Obstet. **130,** 37 (1970).
Zsebők, B. Z. és *Szlávy, L.:* Fortschr. Röntgenstr. **120,** 529 (1974).

Egészségügyi Minisztérium Nemzetközi Kapcsolatok Főosztálya, Budapest

A FEJLŐDŐ ORSZÁGOK EGÉSZSÉGÜGYE

FELKAI DÉNES

Közlésre érkezett: 1976. XII. 9.

A föld országainak felosztása

A föld országait politikai-gazdasági-társadalmi szempontból 3 nagy csoportba osztjuk:

A föld országainak a felosztása (1972)

Országcsoportok	A világ területének %-a	A világ lakosságának %-a
Szocialista	25,9	32,4
Tőkés	23,9	19,0
Fejlődő	50,2	48,6

Forrás: Nemzetközi Statisztikai Évkönyv (Központi Statisztikai Hivatal 1974., Budapest)

Mind a 3 országcsoportnak — az adott társadalmi rendszerek eredményeként — sajátos egészségügy felel meg.

A fejlődő országok egészségügye

Az egészségügy, az orvostudományok társadalmi alkalmazását jelenti. Ilyen formán egy országban, hogy hogyan alakul a lakosság egészségi állapota attól is függ, hogy hogyan tudják alkalmazni, vagy alkalmazzák-e egyáltalán az orvostudományok eredményeit. Az egészségügy célkitűzéseit az egészségügyi szolgálat valósítja meg, amely egy országra kiterjedő intézményrendszert jelent a lakosság egészségügyi szükségleteinek és igényeinek a biztosítására. Egy ország vagy országcsoport lakosságának az egészségi állapota tehát az ország vagy országcsoportok politikai-gazdasági-társadalmi-kulturális helyzetétől, valamint az egészségügyi szolgálatuk fejlettségétől függ.

A fejlődő országok egészségi állapota

A föld kb. 150 országa közül mintegy 110 (Afrika, Amerika, Ázsia országai) tartozik a fejlődőkhöz.

Döntő többségük létrejöttükkor a kapitalista utat választotta, kisebb részük a nem-kapitalista úton halad, csak kevesen váltak ki és csatlakoztak a szocialista világrendszerhez. A fejlődő országok nagy csoportját alkotják az ún. el nem kötelezett országok: külpolitikájukban gyakran antiimperialisták, belpolitikájukban — egészségügyükben is — a tőkés rendszer az ideáljuk.

A fejlődő országok között megindult bizonyos polarizáció a gazdasági adottságaiktól függően: olajtermelők és olajexportőrök; néhány latin-amerikai ország közepesen fejlett tőkés országgá válik, az olajjal vagy más jelentősebb nyersanyaggal nem rendelkezők helyzete változatlanul reménytelen.

A nagy különbségek ellenére is közös vonásuk, hogy az imperializmus gyarmati rendszerének örökségeként valamennyiüket jellemzi a politikai-gazdasági-társadalmi-kulturális és egészségügyi elmaradottság. A fejlődő országok meghatározásában — a marxista felfogás szerint — 3 kritérum döntő: a gyarmati-félgyarmati múlt, az elmaradottság és a hatalom nem szocialista jellege (a nem marxisták, pl. az ENSZ kiadványokban a fejlődőkhöz sorolják Kínát, Kubát stb.).

Sok fejlődő országban megtalálhatók egymás mellett a kapitalista, prekapitalista, a feudális, sőt a törzsközösségi viszonyok elemei. A fejlődő országok túlnyomó része a politikai függetlenség kivívása ellenére erősen függ az imperializmustól. A gazdasági függés szálai ezekben az országokban nemcsak megmaradtak, hanem sok országban erősödtek, ami csorbítja a politikai függetlenségüket.

Gazdasági elmaradottságukra jellemző: az 1970-es évek elején az egy főre jutó nemzeti jövedelem a fejlett országokban (a tőkés és a KGST országok, mivel ezek gazdasági életét az iparosodás jellemzi és ennek a következményei látszatra több hasonló vonás, de alapjaiban eltérő tartalommal; pl. urbanizáció: a városok a tőkés országokban anarchikusan, a szocialista országokban tervszerűen fejlődnek) meghaladta az évi 2000 dollárt, a fejlődő országokban csak 140—150 dollár. A mezőgazdaságuk képtelen a lakosságukat megfelelő élelemmel ellátni, a világ ipari termelésében való részesedésük 14—15%.

A fejlődő országok lakosságának nagyobbik fele sohasem járt iskolába, az ifjúságnak csak kb. 30%-a van beiskolázva és csupán 5% végzett felsőfokú iskolát.

Az egészségi állapot vizsgálatához a következőket szoktuk megnézni: *a)* népmozgalmi adatokat, *b)* táplálkozási helyzetet, *c)* környezetegészségügyi helyzetet és *d)* a morbiditást.

a) **Népmozgalmi adatok**

(Lásd 1. sz. táblázat.)

1. sz. táblázat

Országok	Születési arány ‰	Halálozási arány ‰	Csecsemőhalandóság ‰	A lakosság növekedése ‰	Az orvosok száma 10 000 lakosra	A kórházi ágyak száma 10 000 lakosra
	1.	2.	3.	4.	5.	6.
Afrika						
Algéria (1969)	41,6	9,8	—	31,8	1,3	29,3
Angola (1972)	23,1	2,6	24,1	20,5	0,7	31,0
Burundi (1973)	—	—	—	—	0,2	12,4
Csád (1973)	—	—	—	—	0,2	9,4
Egyiptom (1973)	35,4	12,9	97,9	22,5	5,5	21,7
Etiópia (1972)	—	—	—	—	0,1	3,2
Felső Volta (1973)	50,0	32,0	180,0	18,0	0,1	8,5
Ghana (1971)	—	—	63,7	—	0,8	12,8
Guinea (1972)	—	—	—	—	0,3	16,7
Kenya (1970)	—	—	55,0	—	1,7	13,2
Kongó (1971)	42,0	24,0	180,0	18,0	1,6	56,5
Libéria (1971)	49,8	21,0	159,2	28,9	1,0	19,0
Líbia (1973)	45,4	8,8	80,3	36,6	7,9	43,6
Madagaszkár (1972)	34,1	10,2	53,2	23,9	0,9	28,0
Malavi (1971)	11,0	5,5	—	5,5	0,1	13,2
Mali (1972)	49,5	27,8	—	21,7	0,3	7,2
Marokkó (1972)	—	—	—	—	0,7	14,4
Niger (1972)	—	—	—	—	0,2	5,6
Nigéria (1972)	—	—	—	—	0,4	7,3
Szenegál (1972)	21,0	2,3	—	18,6	0,7	13,2
Szomália (1973)	—	—	—	—	0,5	17,6
Szudán (1972)	45,0	20,0	—	25,0	0,8	12,8
Tanganyika (1972)	—	—	—	—	0,5	14,3
Tunézia (1973)	35,8	8,0	76,2	27,7	1,6	23,2
Zaire (1973)	46,7	18,6	—	28,0	0,4	31,4
Amerika						
Argentína (1970)	22,9	9,4	22,9	20,9	20,9	55,8
Bolívia (1971)	16,9	3,8	—	13,0	4,1	20,4
Brazília (1972)	—	—	—	—	6,0	38,2
Chile (1972)	25,0	8,8	78,0	16,3	4,5	33,8
Ecuador (1973)	35,1	9,5	75,8	26,5	3,5	20,9
Guatemala (1973)	43,4	15,4	79,1	28,0	2,3	21,9
Mexiko (1973)	47,5	8,5	51,9	39,1	6,9	12,3
Peru (1970)	35,3	8,2	65,1	27,0	5,5	20,1
Venezuela (1973)	36,2	6,8	54,2	29,4	10,2	30,0

1. sz. táblázat folytatása

Országok	Születési arány ‰	Halálozási arány ‰	Csecsemő halandóság ‰	A lakosság növekedése ‰	Az orvosok száma 10 000 lakosra	A kórházi ágyak száma 10 000 lakosra
	1.	2.	3.	4.	5.	6.
Ázsia						
Afganisztán (1972)	—	—	—	—	0,4	1,5
Banglades (1973)	—	—	—	—	1,0	1,5
Burma (1973)	—	—	—	—	1,3	8,3
Ciprus (1973)	18,3	9,5	28,4	8,8	9,3	67,6
India (1970)	36,9	15,7	139,0	21,1	2,2	6,2
Indonézia (1972)	—	—	—	—	0,4	6,9
Irak (1972)	15,9	4,0	—	11,9	3,5	19,2
Jordánia (1973)	44,9	3,5	22,6	40,9	3,9	10,7
Laosz (1971)	45,9	22,5	—	23,4	0,8	7,8
Libanon (1973)	24,5	4,5	—	20,2	6,8	38,4
Nepál (1970)	—	—	—	—	0,2	1,5
Sri Lanka (1971)	29,9	7,5	—	22,5	2,5	30,3
Szaud Arábia (1973)	—	—	—	—	2,4	11,1
Szíria (1973)	36,9	4,8	21,7	32,1	2,9	10,3
Törökország (1970)	40,8	13,5	153,0	27,3	4,7	20,4

Forrás: Annuaire de Statistiques Sanitaires Mondiales 1972 (OMS Genève 1976).

A születési arányszám a fejlődő országokban változatlanul magas: kétszer magasabb, mint a fejletteknél. Az általános halandóság a fejletteknél már nem csökken, sőt emelkedik, aminek az oka az öregek számának a növekedése. A fejlődő országoknál, „fiatal" országok lévén, az általános halandóság tovább csökken, így a különbség a fejlettek és a fejlődők között is csökken.

A csecsemőhalandóság az egész világon csökkent, mégis jelentős különbségeket mutatnak nemcsak az egyes fejlődő országok egymás között, de főleg

A fejlett és fejlődő országok néhány demográfiai adatának az összehasonlítása

Országcsoportok	Születési arány (‰)		Halálozási arány (‰)		Természetes szaporodás (‰)	
	1960–1970	1970–1975	1960–1970	1970–1975	1960–1970	1970–1975
A világon összesen	33,3	31,8	14,1	12,8	19,2	19,0
Fejlettek	19,3	17,2	9,1	9,2	10,2	8,0
Fejlődők	39,2	37,8	16,6	14,4	22,6	23,4

Forrás: Rapport sur la Situation Sociale dans le Monde 1974 (Nations Unies).

a fejlett és fejlődő országok. Még jelentősebb ez a különbség, ha a gyermekhalandóságot 1—4 éves korig nézzük.

Változatlanul nagy a különbség — négyszer akkora — a lakosság évenkénti növekedésében.

A születéskor várható élettartam:

a fejletteknél	73 év
a fejlődőknél	41—64 év
(Dél-Ázsiában és Észak-Afrikában	50 év
Trópusi-Afrikában)	40—50 év

Forrás: Rapport sur la Situation Sociale dans le Monde 1974 (Nations Unies).

b) *Táplálkozási helyzet*

A lakosság és az élelem növekedése (évi átlagban)

Országcsoport	Lakosság	1952—1962. évi termelés		Lakosság	1962—1972. évi termelés	
		összesen	lakosonként		összesen	lakosonként
Fejlettek	1,3	3,1	1,8	1,0	2,7	1,7
Fejlődők	2,4	3,1	0,7	2,5	2,7	0,2
A világon összesen	2,0	3,1	1,1	1,9	2,7	0,8

Forrás: Rapport sur la Situation Sociale dans le Monde 1974 (Nations Unies).

Ha összehasonlítjuk az élelemtermelést a demográfiai változásokkal, akkor kitűnik, hogy az élelemtermelés a fejlődő országokban csak kb. 2,7%-kal emelkedett, ami éppen lépést tart a lakosság növekedésével, azaz tartósítja az amúgy is súlyos állapotot.

Sokkal nagyobb jelentőségű az élelem mennyiségének a fejenkénti szétosztása, ami csökkenő tendenciát mutat és amelyet tovább ront a lakosság különféle társadalmi-gazdasági csoportjai közötti, sőt a családon belüli egyenlőtlen szétosztás.

Érdekes adatokat közöl a FAO a világ kalória-fehérje helyzetéről:

Ezek szerint a kalória és protein szükséglet biztosítva lenne a világon, de amíg a fejlett országoknál a kalória, de főleg a protein egy főre eső mennyisége állandóan nő, a fejlődő országok kalória helyzete állandóan romlik, a protein mennyisége stagnál. A protein ellátottság meghaladja világviszony-

Országcsoportok	Szükséglet lakosonként		A rendelkezésre álló szükséglet százaléka			
			1965		1970	
	kalória	protein (gr)	kalória	protein	kalória	protein
Fejlettek	2560	39,5	116	221	121	229
Fejlődők	2200	37,9	84	117	79	117
A világon összesen	2380	38,7	100	169	101	173

Forrás: Projection des produits agricoles (FAO, Rome, 1970).

latban a becsült szükségletet. Mégis a protein hiány a rosszul tápláltság fontosabb eleme, tekintve, hogy főleg az állati fehérje igen drága. A proteinből a látszólagos többletet azért nehéz értékelni, mert ha nem elégséges a termelt energia, a szervezet a proteint nem a protein szükséglet fedezésére, hanem az energiahiány pótlására használja. Ennek alapján megállapíthatjuk, hogy a táplálkozási helyzet kritikus a fejlődő országokban. A fejlett országokban állandóan nő az állati protein iránti kereslet: 1980-ra a kereslet a szükséglet 240%-a lesz. Ennek fontos kihatása lesz a világ gabona ellátására. Jelenleg néhány fejlett országban, mint Kanadában, az USA-ban, fejenként és évenként 1 tonna gabonát fogyasztanak. Ebből 70 kilót fogyasztanak kenyér és tésztaféleségek formájában, a többi állatok etetésére megy. A fejlődő országokban fejenként és évente csak 190 kiló gabona jut és ezt közvetlenül az energia szükséglet ellátására fordítják.

A kormányok adatai szerint — átlagos termés esetén — 300—500 millióra tehető a rosszul táplált ember. A gyermekek közül 100 millió szenved táplálkozási betegségben. Ezek a számok rossz termés esetén 3—5-ször nagyobbak!

Forrás: Rapport sur la Situation Sociale dans le Monde 1974 (Nations Unies).

c) *Környezet-egészségügy*

A fejlődő országok lakosságának az egészsége állandó veszélyben van a környezet biológiai szennyezettsége miatt. Ezzel kapcsolatban 3 tényezőre szeretnék utalni:

— Ivóvíz ellátás (1970): a falusi lakosság 80—90%-a, a városi lakosságnak több mint egyharmada nincs ellátva megfelelő ivóvízzel.
— Szennyeltávolító rendszer: a lakosság 75%-a nélkülözi.
— Nem megfelelő harc a fertőző és nem-fertőző betegségeket terjesztő vektorok ellen.

Forrás: Rapport sur la Situation Sociale dans le Monde 1974 (Nations Unies).

d) *Morbiditás*

A fejlődő országok morbiditási helyzete is sajátos képet mutat:

A) Fertőző betegségek:

a) speciális trópusi betegségek:

— malária: még néhány évtizede az emberiségnek kb. a fele élt maláriás területen; 1970 óta ennek a kb. 75%-a már olyan területen lakik, ahol a maláriát felszámolták, vagy jelenleg áll felszámolás alatt;

— himlő: amíg 1967-ben 30 ország, 1973-ban 7 ország, 1976-ban már csak 2 országból jelentettek fertőzéseket. Gyakorlatilag a himlőt sikerült likvidálni az egész világon;

— a kolera, bilharziozis, filariásis, a lepra, az onchocerciásis, a sárgaláz, a pestis stb. változatlanul nagy számban fordulnak elő és ezen betegségek nagy része ellen még megoldatlan a védekezés;

b) A fejlett országokban is gyakori betegségek:

— enterális fertőzések, tbc, trachoma, szifilis, gonorrhea stb. ugyancsak jelentős számban találhatók.

B) A nem-fertőző, krónikus-degeneratív megbetegedések előfordulása, mint a fejlett országokban — bár ezek jelentősége a fejlődő országokban jóval kisebb.

Összefoglalóan a fejlődő országok egészségi állapotáról:

A kép jelentősen különbözik a fejlett országok egészségi állapotától, mind a népesedés, mind a testi fejlettségi, illetve megbetegedési képet illetően. Legfőbb ok: a politikai-gazdasági-társadalmi-kulturális helyzet és az ezekkel együttjáró egészségügyi szolgálat elmaradottsága. Az egészségügy feladata a fizikai és szellemi jólét, valamint a munkaképes élet biztosítása mindenki számára az orvostudományok eredményeinek társadalmi alkalmazásával. A fejlődő országok lakosságának az egészségi állapota azonban még magán viseli a természet és a társadalom vak erőinek — szenny, szegénység, tudatlanság — a hatását, tehát a társadalom tudatos cselekvése, a modern egészségügy, az orvostudományok eredményei kevéssé érvényesülnek. De ezek után nézzük meg konkrétan is az egészségügyi szolgálat helyzetét.

A fejlődő országok egészségügyi szolgálata

Mielőtt rátérnénk az egészségügyi szolgálat két fő ágának — a gyógyító-megelőző és a közegészségügy-járványügy — a megvizsgálására, tekintsük át az egészségügyi szolgálatot jellemző 2 mutatót világ vonatkozásban és konkrétan a fejlődő országok viszonylatában (lásd 1. sz. táblázat).

Orvos—lakos arány:

1970-ben az egész világon az orvosok száma kereken 2 200 000, ami azt jelenti, hogy 10 000 lakosra 8 orvos jut. Ha azonban kontinensenként nézzük meg az orvosok eloszlását, 10 000 lakosra a következőt találjuk:

Afrikában	1,36 orvos
Amerikában	10,76 orvos
Ázsiában	2,84 orvos
Európában	14,85 orvos
Óceániában	12,00 orvos
Szovjetunióban	23,78 orvos

Forrás: Rapport sur la Situation Sociale dans le Monde 1974 (Nations Unies).

A szakemberek véleménye szerint a helyes arány 10 000 lakosra legalább 10 orvos.

Az egészségügyi szolgálat munkáját jelentősen befolyásolja:

a) az orvosok elosztása a város és a falu viszonylatában:

A városi és a falusi lakosság aránya világviszonylatban (1970)

Országcsoportok	A városi lakosság %-ban	A falusi lakosság %-ban
Fejlett országok	64	36
Fejlődők	25	75
Az egész világon	37	63

Forrás: Rapport sur la Situation Sociale dans le Monde 1974 (Nations Unies).

Néhány fejlődő országban az orvosok számát 10 000 lakosra mutatja az 1. sz. táblázat. A fejlődő országokban átlagban a lakosság háromnegyed része vidéken lakik. Az orvosok száma kevés, ezeknek is 80%-a a városokban él. Ezt támassza alá néhány egyéb adat is, pl. Afrikában 1971-ben az orvosok száma 45 754, a fővárosokban és a nagyobb városokban egy orvosra 1963 lakos jut, vidéken 1 000 400.

b) Az orvosi munka színvonala: ez többek között az orvosképzés—továbbképzés kérdése.

Kórházi ágy—lakos arány:

1970-ben a kórházi ágyak száma a világon 12 568 000, tehát 10 000 lakosra 44 ágy jut. Az általunk közölt 1. sz. táblázatból kiderül, hogy a fejlődő országok zöme jóval kevesebb ággyal rendelkezik, általában 10 000 lakosra 10—40 ágyat találunk. A szakemberek véleménye szerint 10 000 lakosra legalább

100 kórházi ágy felel meg a szükségleteknek. A világ lakosságának a fele a világ kórházi ágyainak csupán kb. egyharmadával rendelkezik.

Az orvos—lakos és a kórházi ágy—lakos arány—bár nemzetközileg használatos mutatók az egészségügyi szolgálat jellemzésére — keveset mondanak az egészségügyi szolgálat kiterjedtségéről, szervezettségéről, az egészségügyi szolgálat munkájának a minőségéről.

Ha az egészségügyi szolgálat kiterjedtségét, minőségét akarjuk megvizsgálni a fejlődő országoknál, az orvosok és a kórházi ágyak számából adódóan kiderül, hogy a gyógyító-megelőző ellátásnak az általunk megszokott felosztása kórházon kívüli egészségügyi ellátásra és kórházi egészségügyi ellátásra, értelmét veszti. Ez a felosztás a fejlett országokban, fejlett egészségügyi szolgálat mellett helyes, bár a fenti felosztás keveset mond arról, hogy az emberek már a betegségük kezdetén milyen mértékben vehetik, illetve veszik igénybe az egészségügyi szolgálatot. Fejlett országokban mind az életszínvonal, mind az egészségügyi szolgálat kiterjedtsége erre többé-kevésbé lehetőséget nyújt.

A fejlődő országokban többet mond a gyógyító-megelőző ellátást felosztani:

elsődleges vagy általános egészségügyi ellátásra és
másodlagos egészségügyi vagy szakellátásra.

Az elsődleges egészségügyi ellátást megkülönböztetjük az „elsődleges orvosi ellátástól" tekintve, hogy az elsődleges egészségügyi ellátást a fejlődő országokban általában nem orvosok nyújtják. Az elsődleges vagy általános egészségügyi ellátást a WHO (Glossary of Health Care terminology — Regional Office for Europe, Coppenhagen 1975) a következőképpen határozza meg: „tanács vagy elsődleges ellátás, amelyet egy vagy több egészségügyi nyújt, akik egyedül vagy csoportosan dolgoznak; alapfokú gyógyító-megelőző ellátás (egyszerűbb diagnózis és kezelés, a komplikáltabb eseteket a magasabb egészségügyi egységnek referálják), valamint megfelelő egészségügyi felvilágosítás".

A fejlett országokban „elsődleges orvosi ellátásról" beszélünk általában, amelyet az az orvos nyújt, akihez a beteg egészségügyi problémáival először fordul.

A tőkés országokban — kivéve Angliát és Svédországot a biztosítottak részére — szervezett elsődleges egészségügyi ellátás nincs: oka a magánpraxis. Mindenki ahhoz az orvoshoz fordul, akit meg tud fizetni.

Szocialista országokban az elsődleges egészségügyi ellátás jól szervezett. Pl. nálunk a körzeti orvos, a körzeti gyermekorvos, körzeti fogorvos, iskola orvos, üzemi orvos, gondozóintézetek, szakorvosi rendelők, városi (járási) kórházak biztosítják az elsődleges egészségügyi ellátást. Az elsődleges egészségügyi ellátásnak a betegség felismerése, kezelése szempontjából nagy jelentőséget tulajdonítanak.

Elsődleges egészségügyi ellátás a fejlődő országokban:

1. A szolgálat egyszerű kell legyen, de elérhető mindenki számára akár falvakban, akár városi körzetekben.
2. Leglényegesebb feladatai:
   — Hogy elkerüljék a fertőző betegségek és járványok terjedését (oltások végzése, a betegek felkeresése és kezelése stb.).
   — Anya- és gyermekellátás (terhes gondozás, segítés a szülésnél, újszülött ellátás, családtervezés stb.).
   — Környezetegészségügy (az ivóvíz fertőzöttségének megszüntetése, szennyeltávolítás, élelemhigiéne stb.).
   — Más egészségügyi problémák a gyakoriságuktól függően (bőr- és szembetegségek, has és mentális megbetegedések stb.).
3. Ez a munka egy személy részére nagyon sok és ezt csak úgy lehet megoldani, ha az elsődleges egészségügyi ellátás részét alkotja egy jól szervezett hierarchikus alapon felépített szolgálatnak, amelyen belül a feladatok jól el vannak osztva.
4. Szükség van arra, hogy a komplikáltabb eseteket megkonzultálhassák egy magasabb egységgel. A magasabb egységek változni fognak számban az egyes országok adottságai szerint. A lényeges, hogy ezek kiegészítsék és támogassák egymást, hogy ezáltal integrálódjon a szolgálat.

Az elsődleges egészségügyi ellátás — általában — a következő egységekre oszlik:

a) Egészségügyi állomás:
feladata: ellátni 5—6000 embert,
személyzete: 1—2 egészségügyi dolgozó,
elhelyezése: rendelő helyiségből és szülőszobából áll.

b) Egészségügyi központ:
feladata: 5—6 egészségügyi állomás felügyelete, tehát már 30—35 000 ember kiszolgálására alkalmas,
személyzete: itt már találunk egy orvossegédet, jól képzett ápolónőt, kisegítő ápolónőket, bábákat, közegészségügyi ellenőrt, egészségőröket, adminisztrátorokat,
elhelyezés: a feladatoknak megfelelő.

c) Falusi (városkörzeti) kórház:
feladata: ellenőrizni több egészségügyi központot és ez már kb. 100 000 lakos egészségéért felelős,
személyzet: néhány általános orvos, orvossegédek, ápolónők, bábák, közegészségügyi ellenőrök, egészségőrök, fog- és laboratóriumi technikusok stb.
A falusi kórház munkája nem korlátozódik csupán annak a helység lakosságának az ellátására, ahol találhatók. Idefordulnak tanácsért és ellátási

segítségért az egészségügyi állomások és központok; a falusi kórház már ellátási, információs és kiképzési bázisul is szolgál. Ugyanakkor ez is átmeneti állomásként szolgál, amikor a betegeket jobban képzett központokba kell tovább küldeni.

A fentieken kívül számos fejlődő országban találhatók nem szervezett formában működően az ún. tradicionális gyógyítók (gyógynövényekkel gyógyítók, akupunktúrát végzők, töréstkezelők, tradicionális bábák stb.). Szervezett formában is találunk olyan személyeket, akik csak egy-egy meghatározott feladatra alkalmasak, pl. a malária felszámolásra, a himlőoltás elvégzésére stb. Ezek rendszerint valamelyik egészségügyi szervhez tartoznak.

Az elsődleges egészségügyi ellátás formái szervezetten a szocializmust építő volt fejlődő országokban Kínában, Vietnamban stb. alakultak ki és terjedtek el. Az elsődleges egészségügyi ellátásnak a fent ismertetett szervezett, összefüggő egysége — amelyekben zömmel közép- és kisegítő káderek dolgoznak — a fejlődő országok nagy többségében hiányzik.

Másodlagos egészségügyi ellátás vagy szakellátás:

A másodlagos egészségügyi ellátás „azt az ellátást jelenti, amelyet szakorvosok biztosítanak az elsődleges szolgálat által tovább küldött betegeknél. Általában komplikáltabb ellátást jelent, amelyet az általános orvos már nem tud nyújtani" (Glossary of Health Care terminology — Regional Office for Europe, Coppenhagen 1975). Ez magasabb fokozatot jelent, magába foglalja a megyei egészségügyi szerveket, az egyetemi klinikákat, és az ún. országos intézeteket, amelyek képesek már nagyobb problémákkal foglalkozni, ehhez megfelelő szakemberekkel és megfelelő felszereléssel rendelkeznek.

A kórházak az egészségügyi szolgálat igen költséges, de fontos elemét alkotják. A fejlett országokban a kórházak jelentősége funkcióik kiterjesztésével (gyógyítás-megelőzés-oktatás-kutatás) állandóan nő.

Számos fejlődő országban a fejlett országok egészségügyi szolgálatát igyekeznek utánozni: jó kórházakat hoznak létre megfelelő szakemberekkel és technikával. Ezeknek a kórházaknak a jelentőségét csökkentik:

— a kórházak csak a fővárosban és néhány nagyobb városban találhatók;
— a kórházakban magas az ápolási költség. Ha megvizsgáljuk a kórházi ágyak kihasználásának a mértékét, az ún. hospitalizációs százalékot, amíg a fejlett országokban ez 10—20%, a fejlődőknél csupán 2—4%. Tehát még a rendelkezésre álló kevés kórházi ágy is kihasználatlan;
— egy ország egészségügyi feladatainak végrehajtásában résztvevő szervek lehetnek: állami (helyi) egészségügyi szervek, a társadalombiztosító tulajdonában levők, közületi és magán egészségügyi intézmények.

A fejlődő országokban az állam által fenntartott gyógyító intézmény (tbc

szanatórium, elmegyógyintézet stb.) kevés, társadalombiztosító vagy egyáltalán nincs, vagy a népességnek mindössze néhány százalékára terjed ki. Pl. a biztosítottak aránya Venezuelában 15%, Indiában 10%, Ecuadorban 5%. Nincs biztosító tehát, amely a betegeknek segítséget nyújtana, a gyógyító ellátás alapvetően a magánpraxisra épül.

A kórházak az állami költségvetésnek legalább felét viszik el, mégis a fejlődő országokban a kórházak szerepe főleg gyógyításra irányul és ez a feladat sem terjed az adott város határain túl, így a kórházak szerepe az egészségügyi szolgálatban igen alárendelt.

Összefoglalóan a gyógyító-megelőző munkáról: ezek egymástól el vannak választva; hiányzik az egész lakosságra kiterjedő infrastruktúra, nem rendelkeznek sem megfelelő egészségügyi káderekkel, sem megfelelő egészségügyi intézetekkel. Ami még ennél is döntőbb: a lakosság zöménél még nem alakult ki az az általános és egészségügyi-kulturális színvonal, amely igényli modern egészségügyi szolgálat megteremtését. A fejlődő országok lakosságának a 80%-a (a falusi lakosság, a városok nyomornegyedei, a nomádok) nem részesülnek semmilyen egészségügyi ellátásban.

Közegészségügy-járványügy:

A közegészségügy-járványügy mind a szocialista, mind a tőkés, mind a fejlődő országokban államilag szervezett. A szocialista országokban, ahol az egészségügyi szolgálat a maga egészében állami feladat, ez természetes; a tőkés államokban felismerték a közegészségügy-járványügy fontosságát, de mivel ez a tevékenység a végrehajtó számára nem biztosít megtérülő anyagi előnyt, a feladatot az államra ruházták.

A közegészségügy-járványügy nem az egyén, hanem elsősorban a társadalom egyes csoportjai egészségvédelmével foglalkozik. A szocialista országokban a gyógyító-megelőző és a közegészségügyi-járványügyi ellátás között a határ mindinkább elmosódik (munkaegészségügy, oltások stb.), magasabb szinten integrálódnak. A tőkés országokban a gyógyítás és a megelőzés külön van választva: a megelőzés ingyenes, a gyógyítás a magánorvosok feladata, ezért fizetni kell.

A fejlődő országokban, az egészségügyi központokban végzik a vakcinálást a fertőző betegségek ellen és mindenütt találunk közegészségügyi ellenőröket, egészségőröket, itt tehát a gyógyító-megelőző és a közegészségügyi-járványügyi munka szintén integrálódik, de rendkívül primitív fokon. A fejlődő országokban is találunk ún. közegészségügyi laboratóriumokat: ezek működése rendkívül fontos. A közegészségügyi szervezet többi fokozatai azonban hiányzanak.

Az egészségügyi szolgálat két fő ágán kívül ismerni kell röviden valamit az ún. mellégágak működéséről (egészségügyi igazgatás, káderképzés stb.).

Egészségügyi igazgatás:

Az egészségügyi igazgatás, az államigazgatás része. Feladata: tervezni, szervezni, vezetni. Ehhez két dolog szükséges: megfelelő igazgatási szervezet (Egészségügyi Minisztérium, megyei, járási, városi egészségügyi osztályok stb.) és egészségügyi intézményhálózat (kórházak, közegészségügyi laboratórium, egészségügyi központok stb.). Ennek előfeltétele olyan államszervezet, amely szükségesnek tartja az egészségügyi igazgatási szerveket, az egészségügyi intézményhálózatot és a közösség részvételével elő tudja teremteni az ehhez szükséges személyi és anyagi feltételeket.

Az egészségügyi igazgatás sok fejlődő országban, a központi szerveken kívül nincs, ha van is kezdetleges: a feladatokból a legfontosabb a tervezés, de a vezetés és a szervezés is megoldatlan.

Egészségügyi káderek képzése:

A korszerűen képzett egészségügyi káderek hiánya — orvosok, közép-, illetve kisegítő káderek — a fejlődő országok egészségügyének egyik legsúlyosabb problémája.

Az egészségügyi szolgálat leglényegesebb kádere kétségkívül az orvos. Az orvosképzés azonban számos problémába ütközik:

— orvosképző iskola: sok országban nincs vagy csak részleges (csak az első két év működik),
— az orvosképzés időtartama: általában 5—7 év, tehát az egészségügyi szolgálatba való bekapcsolódásuk időt igényel,
— az orvosképzés jelentős összegbe kerül: a 60-as évek végén általában orvosonként 25 000 dollárra becsülték.

Az egészségügyi szolgálat megteremtéséhez az egészségügyi közép- és kisegítő káderek képzése látszik viszonylag hosszú ideig a járható útnak:

— a közép- és kisegítő káderképző iskolák létrehozása könnyebben megoldható, tekintve, hogy a képzés fontos része a gyakorlati munka a falusi kórházakban, illetve egészségügyi központokban történik,
— a képzés időtartama: 1 hónaptól 3 évig terjed,
— a középkáderek képzése a 60-as évek végén, még 1—3 éves képzés mellett is csak 3—8000 dollárba került. A kisegítő káderek képzése pedig ennél is jóval olcsóbb.

Forrás: Rapport sur la Situation Sociale dans le Monde 1974 (Nations Unies).

Összefoglalólag a fejlődő országok egészségügyi szolgálatáról:

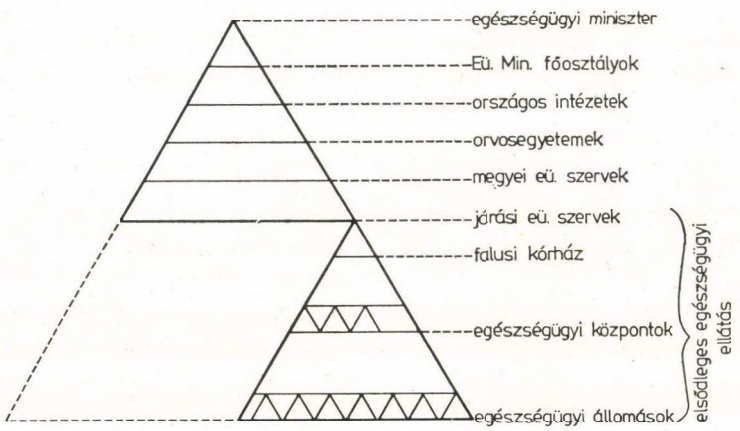
1. A nagyfokú minden irányú elmaradottságot nehezíti a fejlődő országok sajátos helyzete: a függetlenedéssel járó antiimperializmusuk a szocialista

országokhoz, belpolitikai és gazdasági helyzetük pedig a tőkés államokhoz fűzi őket. A gyarmati örökségnek és ennek a bonyolult helyzetnek a következménye a kulturális-szociális-egészségügyi helyzetükben való súlyos elmaradottság és következetlenség.

2. Az általános gazdasági-társadalmi helyzet katasztrofális állapota, az életszínvonal megdöbbentően alacsony volta, csak igen kezdetleges egészségügyi szolgálat kialakítását tette szükségessé.
3. Az állam részvétele az egészségügyben igen csekély, lényegében a lakosságnak a városokban élő 15—20%-ára terjed ki, azaz számos országban a lakosság 80—90%-a egészségügyileg teljesen ellátatlan, hiányzik az egészségügyi infrastruktúra (káderek, intézetek).
4. Az egészségügyi szolgálat fő ágai a gyógyítás-megelőzés és a közegészségügy-járványügy kezdetlegesek, sok országban hiányzik vagy részleges az orvosképzés, nem működik elég középkáderképző iskola, kevés országban folyik biomedicalis kutatás.
5. Egészségügyi igazgatás sok országban, a központi szerveken kívül nincs, ha van is, primitív.
6. Az egészségügyi szolgálat megfelelő információs rendszere még a városokban sem alakult ki. A fejlődő országok által szolgáltatott statisztikai adatok becslésen alapulnak és nehezen értékelhetők.
7. Az egészségügyi ellátás megszervezésében — az országok zömében az anyagilag és kulturálisan elmaradt lakosság aktív részvétele igen csekély.

Ha a fejlődő országok egészségügyi szolgálatát piramissal ábrázoljuk, akkor a következőt láthatjuk:

Az egészségügyi szolgálat piramisa



A fejlődő országok zöménél, ami az egész nép egészségügye szempontjából a legkényegesebb, a piramis alapja, az elsődleges egészségügyi ellátás gyakorlatilag hiányzik.

Teendők a fejlődő országok egészségügyi szolgálatának a megjavítására

A fejlődő országok egészségügyi szolgálatának az összefoglaló értékelése egyben jelzi a tennivalókat is:

1. Az elmaradt politikai-gazdasági-társadalmi-kulturális helyzet végleges felszámolása csak a szocialista forradalomtól várható.
2. Az egészségügyi szolgálat fejlesztése elengedhetetlen része az általános politikai-gazdasági-társadalmi-kulturális fejlődésnek.
3. Az egészségügyi szolgálat megszervezése, állami feladat. Az egészségügy célja: az egészség biztosítása az ország minden lakója számára.
4. Meg kell teremteni az egészségügyi szolgálat egységét: a megelőzés-gyógyítás, a közegészségügy-járványügy, káderképzés, kutatás stb. létrehozásával, egységesítésével.
5. Létre kell hozni az egészségügy egységes igazgatását, tervszerű fejlesztését: megfelelő infrastruktúra kiépítését, mindenekelőtt az elsődleges egészségügyi ellátás biztosítását.
6. Meg kell teremteni az egészségügy megfelelő információs rendszerét.
7. Biztosítani kell a lakosság aktív részvételét: ez mind az infrastruktúra, mind az egészségügy egyéb céljai megvalósításának előfeltétele.

Ezeket a célkitűzéseket a fejlődő országok az általuk eddig követett módszerekkel — a fejlett országok utánzásával — nem tudják megvalósítani. Ezt felismerte a WHO főigazgatója, dr. Mahler, aki az Európai Területi Bizottság 26. ülésszakán többek között a következőket mondta: „Az egészségügy politikai és társadalmi folyamat és csupán a társadalmilag szükséges egészségügyi politika végrehajtásával képzelhető el, hogy az egészségügy megfelelő szintre emelkedjék 2000-re. Az egészségügy területén külön hangsúlyt kapott a társadalmi forradalom . . .”

Az eddig követett módszer eredménye: kevés jól képzett káder, kevés korszerűen felszerelt intézet és ugyanakkor a lakosság 80—90%-a nem részesül semmiféle egészségügyi ellátásban. Miben áll a „társadalmi forradalom” az egészségügyben? Felismerni, hogy az egészségügy része a társadalmi-gazdasági fejlesztésnek, csak ezzel együtt emelkedhet. Mindenki számára elérhető egészségügyi ellátás biztosítása, még ha alacsonyabb színvonalon is (kevésbé képzett káderek, rosszabbul felszerelt intézetek). Ez azt jelenti, hogy az egészségügy fejlesztése nem haladhatja meg az általános fejlesztést: példa erre India, ahol nagyszámú orvosképző iskolát hoztak létre, sok orvost képeztek,

de a társadalom egyelőre nem képes ezeket megfelelően hasznosítani. A fejlődő országok közül Kína, Vietnam, ahol megteremtették és jól bevált az elsődleges egészségügyi ellátás rendszere, főleg a közép- és kisegítő egészségügyi káderek alkalmazásával (ennek fontos feltétele: *a)* minden beteg odakerüljön, ahol az egészségügyi ellátására szüksége van; *b)* az egészségügyi dolgozók állandó továbbképzése).

Befejezésül, hadd ismertessem a WHO elveinek megfelelően Banglades példáját:

Banglades 1971-ben lett önálló állam. Lakosainak a száma kb. 75 millió. Az életszínvonalat mutatja, hogy az egy főre jutó nemzeti jövedelem évente, 70 dollár.

Az egészségügyi szolgálatról a következőket mondták el: az orvosok száma 7000, a képzett ápolónők száma 700, a kórházi ágyak száma 12 000, és a felszabadulás előtt kb. 150 egészségügyi központ működött. Egészségügyi szolgálat lényegében a fővárosban és néhány városban létezett csupán. Vidéken számos kisegítő egészségügyi (pl. malária felszámolók, himlő oltást végzők stb.), illetve tradicionális gyógyítók (ayurvéd) működtek.

A kisegítő egészségügyiek képzését 1960-ban indították el, a felszabaduláskor a számukat 12 500-ra teszik. Ezek képzése a következőkre terjed ki: malária felszámolás (DDT-zés) oltás adás himlő ellen, vitamin A tabletta adás (a vakság ellen), az ivóvíz klórozása, tabletta biztosítás a családtervezéshez, egészségügyi felvilágosítás.

1974-ben a WHO tanácsára meghatározzák a tennivalókat, az ún. egészségügyi politikát. Ennek lényege:

1. A vidéki területeknek elsőbbséget biztosítanak;
2. a hangsúlyt a kollektívák és nem az egyének ellátására helyezik;
3. az ország lakosságának az egészségügyi ellátása elsőrendűen fontos és sürgős. Lehetetlen megvárni, míg elég orvos áll rendelkezésre: az elsődleges egészségügyi ellátás biztosítására közép- és kisegítő káderek (az együttműködésre kész tradicionális gyógyítók is!) jönnek elsősorban számításba.
4. Természetesen a modern egészségügy szükségessé teszi — az általános fejlődéssel párhuzamosan — az orvosok egyetemi és egyetem utáni képzését. Az egyetemi oktatók képzését a WHO segítségével kívánják megoldani.

A fenti elvek gyakorlati megvalósítására szolgálnak az egészségügyi tervek. Ezek értelmében szükséges létrehozni az intézet hálózatot:

a) Számításaik alapján 356 járási egészségügyi központ és 1068 egészségügyi alközpont szükséges.

b) A káderszükséglet biztosítására:

— kisegítő egészségügyiek képzése:

különösen ezekből szükséges sürgősen kb. 32 000, azaz a meglevő 12 500-on kívül még kb. 20 000. Képzésükhöz előfeltétel: 10—12 általános osztály; képzésük időtartama: 1 hónap; feladatuk: közreműködés az elsődleges egészségügyi ellátásban és a családtervezésben.

— Orvossegédek képzése:

előfeltétel: 10 általános osztály; a képzés 3 éves: 2 év elméleti és 1 év gyakorlati munka; beosztásuk: egészségügyi alközpont vezetők; feladatuk: egyszerűbb betegek kezelése, a súlyosabb betegek továbbküldése, bizonyos közegészségügyi feladatok.

A fenti tervek megvalósítására többéves terveket dolgoztak ki. Az itt ismertetett tervek természetesen csak az elsődleges egészségügyi ellátás létrehozására vonatkoznak, de ezzel egyidőben kívánják megteremteni az egészségügyi szolgálat alapjait más területen is.

Amint látható, igaza van Mahler doktornak, a WHO főigazgatójának: az egészségügyi szolgálat felépítése a vázolt módon forradalmat jelent az egészségügyben: ha a fenti egészségügyi rendszert választja egy ország egészségügyi politikája céljának — még ha egyelőre összfejlődésében nem is tűzi maga elé a szocializmus megvalósítását — minden lépés ezen az úton elősegíti az egész nép egészségének a megjavítását. Így 2000-ig valóban jelentős fordulat következhet be a világ egészségügyében.

IRODALOM

Choudhury M.: Bangladesh (Actes Officiels de l'OMS N° 218. (Genève 1974).
Cinquieme raport sur la situation sanitaire dans le monde (1969—1972) Genève, 1975.
Fejlődő országok lexikona (Akadémiai Kiadó Budapest, 1975).
Felkai D.: A WHO és a fejlődő országok, kézirat, 1967.
Flahault D.: An integrated and functional team for primary health care (WHO Chronicle, 30: 442—446 (1976)).
Fülöp Tamás: Egészségügyi szervezéstani gyakorlati alapismeretek (Medicina, 1975).
Kenneth W. Newell: Participation et santé (OMS 1975).
OMS Actes officiels n° 227 (Genève, 1975).
Raport sur la situation sociale dans le monde (1974. Nations unies).
Raport of the Regional Commitee for Europe 1976. (Coppenhagen).

Microbiological Unit, Department of Applied Biochemistry and Nutrition, Faculty of Agricultural Science, University of Nottingham, Sutton Bonington

MINIMÁL TÁPTALAJ LISTERIA TÖRZSEK VIZSGÁLATÁHOZ

RALOVICH BÉLA* a biológiai tudományok kandidátusa, MALCOLM WOODBINE, és MANOUCHER SHAHAMAT

* A szerző egyéves Wellcome ösztöndíjjal tartózkodott a Nottinghami Egyetemen. Munkahelye: POTE Közegészségtani és Járványtani Intézete, Pécs.

Közlésre érkezett: 1976. XII. 13.

Listeria törzsek táplálkozási igényeit régóta vizsgálják folyékony táptalajban és szilárd táptalajon (*Barber*, 1939; *Porter* és *Pelczar*, 1941; *Hutner*, 1942, 1944; *Cury* és *mtsai*, 1952, 1955; *Patočka* és *Schindler*, 1956; *Eyer* és *Schrader-Beielstein*, 1956, 1957; *Miller* és *Silverman*, 1959; *Kolb* és *Seidel*, 1960; *Friedman* és *mtsai*, 1960; *Patočka* és *mtsai*, 1960; *Friedman* és *Roessler*, 1961; *Seeliger*, 1961; *Welshimer*, 1963; *Larson* és *mtsai*, 1965).

Braveny és *Grote* (1973) szilárd szelektív táptalajt készített egy *Listeria* törzs táplálkozási igényeinek a figyelembevételével.

Ennek ellenére, szilárd *minimál* táptalajt, mely alkalmas a *Listeria* törzsek táplálkozási igényének és genetikai markereinek a vizsgálatára, nem írtak le. Emellett, a korábbi munkák eredményei között eltérések és ellentmondások is megfigyelhetők. Ezen okoktól indíttatva határoztuk el minimál táptalaj összeállítását és használatát. Továbbá, mert egy ilyen táptalajt elengedhetetlennek tartunk a jövő kutatásai szempontjából, melyek a *Listeria* törzsek virulenciájának lényegét igyekeznek megfejteni és melyek a korábbi munkánk szerves folytatását jelentik (*Ralovich* és *mtsai*, 1972; *Emődy* és *Ralovich*, 1974; *Ralovich* és *mtsai*, 1977). Jelen dolgozatunkban ismertetjük a táptalaj összetételét és az összehasonlító vizsgálatok eredményeit.

Anyagok és módszerek

Törzsek: A kísérletek során a már vizsgált 10-es és 18-as számú törzseket (*Ralovich* és *mtsai*, 1972; *Emődy* és *Ralovich*, 1974), a 18-as számú törzsből előállított mutánsokat — 025/3, 025/4/4 (*Financsek* és *mtsai*, 1975), Prof. Dr. *M. Woodbine* gyűjteményéből származó NCTC 5214, NCTC 5348, NCTC 10357 törzseket és Dr. *D. Jones*tól kapott NCTC 4883, NCTC 4885, NCTC 5105, NCTC 7913, Brzin C 242, Mair C 198, Mair 26431, Mair 28251 *Listeriákat* használtuk.

Kísérleti állatok: A törzsek virulenciáját a Nottinghami Egyetem törzsállat tenyészetéből származó (J. A. B. U. Sutton Bonington) tengerimalacokon

és a S. Schofield and Co., Delph., cégtől vásárolt 18—20 g súlyú hím egereken ellenőriztük. Az állatokat faforgács almot tartalmazó ketrecekben tartottuk. Préselt tápot és vizet ad libitum fogyasztottak.

Vegyszerek és táptalajok: Kísérleteinkhez „BDH", „Fisons" és „Sigma" vegyszereket használtunk. Minden anyagot deszt. vízben oldottunk. A törzseket „Tripticase Soy agar" (BBL) táptalajon tartottuk fenn és passzáltuk. A haemolysaló képességet steril, natív, defibrinált lóvért (Oxoid) 7%-os mennyiségben tartalmazó véres agar táptalajon (Blood agar base No 2, Code CM 271, Oxoid) ellenőriztük. Az egerek fertőzése céljából a törzseket „Tripticase Soy Broth"-ban tenyésztettük. A minimál táptalajba „Ionagar"-t (Ionagar No 2, Code L12, Oxoid) tettünk.

A *tenyésztés* 37 °C termosztátban történt. Amikor minimál táptalajt használtunk, a keltetést 6 napig végeztük.

Eszközök: A táptalajt eldobható, gyárilag sterilezett, 9 cm átm.-jű műanyag Petri-csészékbe (Oxoid) öntöttük. Ugyancsak eldobható üveg (Corning Pyrex Disposable Pipet, Cat. No 7077, sterile, Fisons Sci. App. Ltd, Loughborough) és műanyag (Sterilin Products Cat. No P106, Sterilin Ltd., Richmond) pipettákat használtunk.

Sterilezés: A hőérzékeny anyagokat „Millipore Pyrex" membrán szűrő készülékben Millipore membrán (GSWP 047 00 GS 0,22 μ 47 mm á 25, Millipore SA 78 Buc, France) és Sartorius előszűrő (St/Pcs Membrane Filters, Cat. No SM 13400 size 40 mm, Sartorius Membranfilter GMBH, 34 Göttingen) segélyével sterileztük.

A nem hőérzékeny anyagokat „Dent és Hellyor" tip. automata, horizontális autoklávban 1 atm nyomással, 121 C°-on, 15 percig kezeltük.

A minimál táptalaj steril komponenseit légmentesen zárható üvegekben, szükség esetén fénytől védve, jégszekrényben 4 °C-on tároltuk.

Fertőzés: A virulencia markereket a korábbi munkánkban leírtaknak megfelelően vizsgáltuk *(Ralovich* és *mtsai*, 1972). Az *Anton*-test *(Anton*, 1934) alkalmával a *Listeria* 16 órás véres agar tenyészetének kis kacsnyi mennyiségét juttattuk a tengerimalac szemébe. Az egereket a törzsek 16 órás „Trypticase Soy Broth" tenyészetének 0,5—0,5 ml-jével fertőztük i. p. Minden fertőzött állatot külön tartottunk. A tengerimalacokat négy napig, az egereket 1 hétig figyeltük.

Eredmények

A minimál táptalaj összetételét az első táblázatban mutatjuk be. A táptalajt a 18-as számú virulens *Listeria* táplálkozási igényeit figyelembe véve állítottuk össze.

A korábbi egybehangzó tapasztalatok alapján foszfát puffert használtunk.

1. táblázat

Minimál táptalaj Listeria törzsek vizsgálatához

Összetevők	Törzsoldataik (mg/100 ml deszt. víz)	A törzsoldatok mennyisége a táptalajban (ml-ben)
KH_2PO_4 és K_2HPO_4	4500 és 10500	10,0
Na_3 citrát. $2H_2O$ és $(NH_4)_2SO_4$	5000 és 10000	1,0
Dextróz	25000	4,0
Na tioglikollát	11000	1,0
$FeSO_4.2H_2O$	66	1,0
$MgSO_4.7H_2O$	20000	0,1
$CaCl_2.6H_2O$	1330	0,1
DL-izo-leucin	2000	1,0
L-leucin	1000	1,0
DL-valin	2000	1,0
L-cisztein-HCl	4000	1,0
Riboflavin	20	2,0
D-biotin	20	2,0
Tiamin-HCl	100	1,0
„Ionagar" No. 2 (Code No. L12 Oxoid)	1625	80,0
L-glutamin	3000	2,0
DL-metionin	2000	1,0
L-arginin-HCl	2000	1,0
DL-triptofán	600	1,6
L-hisztidin	2000	1,0
DL-6,8-tioktonsav	20	0,5
Piridoxin	20	1,0
D-pantoténsav (hemi Ca-só)	20	1,0
Nikotinsav	20	1,0

A szerves szenet és az energiát glukóz adásával biztosítottuk. Kipróbáltuk a citrátot is, mint egyedüli szén és energia forrást, de önmagában elégtelennek bizonyult. Ha viszont a glukóz mellett még citrátot is tettünk a táptalajba, akkor a *Listeria* jobban nőtt.

Ammóniumszulfát a törzs nitrogén anyagcseréjét önmagában nem elégítette ki. Legalább négy aminosavat — leucin, izo-leucin, valin és cisztein — is biztosítani kellett. Ezen a táptalajon a törzs apróbb telepeket képezett. Ilyen körülmények között az ammóniumszulfát előnyös volt. Ha a nem esszenciális metionint is a táptalajba tettük, akkor a 18-as törzs normális telepeket alkotott.

Vitamin igényét vizsgálva megállapítottuk, hogy sem a tioktonsav, sem a piridoxin, sem a tiamin, sem a Ca-pantotenát, sem pedig a nikotinsav nem

esszenciális. A négy aminosavat, dextrost, citrátot, sókat és tioglikollátot tartalmazó táptalajon a törzs a riboflavin és a biotin jelenlétében növekedett. Csak riboflavint vagy csak biotint tartalmazó táptalajon is volt ugyan némi növekedés, még háromszori passzálás után is, de a telepek igen aprók voltak. A megfelelő méretű telepek biztosítása érdekében a riboflavint, a biotint és a tiamint együtt használtuk. Ha ebből a táptalajból a tioglikollátot kihagytuk, a *Listeria* nem nőtt.

A már említett ammóniumszulfáton kívül a $FeSO_4$, a $MgSO_4$, a $CaCl_2$ és a $MnCl_2$ szerepét vizsgáltuk. A $MnCl_2$ nem szükséges a növekedéshez, sőt hátrányos volt a keverékben. Sem a vas, sem a magnézium, sem pedig a kalcium ion egyedül nem volt elegendő. Ha viszont vagy a vas és kalcium, vagy a magnézium és a vas, vagy a magnézium és kalcium keverékét használtuk, akkor a *Listeria* növekedett, de a második passzálás után már a növekedés nagyon gyenge volt. Ezért a táptalajba a három említett só keverékét rakjuk.

A táptalajt Petri-csészékben, 4 °C-on, jégszekrényben észrevehető értékcsökkenés nélkül tudtuk tárolni két hétig.

A táptalaj segítségével 15 *Listeria* törzs táplálkozási igényét vizsgáltuk meg. Az eredményeket összevetettük a törzsek haemolysaló képességével, virulenciájával és serotypusával. Az összesített adatokat a második táblázatban mutatjuk be.

Megállapítható, hogy a 15 törzs nem azonos serotypusba tartozik. Véres agar táptalajon csak a 10-es nem okozott haemolysist. Tíz törzs esetében a szokásos mértékű β típusú oldást tapasztaltuk. Az NCTC 10 357, a 025/4/4 és a 18-as számú törzsek kisebb udvarú, míg a 025/3 mutáns igen nagy kiterjedésű vértest oldást eredményezett.

A törzsek virulenciáját egér teszttel és *Anton* módszerével ellenőriztük. A 15 törzs közül 11 bizonyult virulensnek mind a két módszerrel. Három törzs — No 10, NCTC 10 357 és 025/4/4 — mind a két eljárással avirulensnek mutatkozott. Egy *Listeria* — NCTC 5105 — csak az egér fertőzés alkalmával volt virulens. A 10-es számú törzsről már tudtuk korábban, hogy avirulens. Ez egy természetes, avirulens *Listeria*. De ez az első eset, hogy két β haemolysaló törzs — NCTC 10 357 és 025/4/4 — mind a két eljárással avirulensnek bizonyult és egy harmadik — NCTC 5105 — esetében pedig az *Anton*-teszt volt negatív. Eddig minden alkalommal a β haemolysis egyúttal virulenciát is jelentett.

Ha a törzsek táplálkozási igényét szemléljük, megállapíthatjuk, hogy egy törzs — a No 10 — csak három aminosavat igényel. További vizsgálatoknak kell tisztázni, hogy ez az igény jellemző-e a természetes avirulens törzsekre, vagy pedig csak kivétel. Kilenc *Listeria* növekedett az alap minimál táptalajon. Ezek leucint, izo-leucint, valint és ciszteint kívántak. A maradék 5 törzs több növekedési faktort szükségelt. A tiamin nem esszenciális, de a megfelelő növekedés érdekében indokolt mindig a táptalajba tenni.

2. táblázat

L. monocytogenes törzsek összehasonlító vizsgálatának az eredményei

Tulajdonságok	Törzsek														
	L.m. No 10	NCTC 10357	NCTC 5214	NCTC 5348	L.m. 025/3	L.m. 025/4/4	L.m. No 18	Mair 28251	Brzin C/242	Mair 26431	NCTC 7973	NCTC 4883	NCTC 5105	NCTC 4885	Mair C/198
Szerotípus	4ab	1/2a	4a	1/2c	1/2a	1/2a	1/2a	4b	4b	4b	1/2a	4c	3a	4b	1/2a
		gyen-ge			erős	gyenge									
Haemolysis véres agaron	—	β	β	β	β	β	β	β	β	β	β	β	β	β	β
Virulencia															
1. Egér test	—	—	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2. Anton test	—	—	+	+	+	—	+	+	+	+	+	+	—	+	+
Vitamin igény															
Riboflavin	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E
D-biotin	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E
Tiamin-HCl	(E)	(E)	(E)	(E)	(E)	(E)	(E)	(E)	(E)	(E)	(E)	(E)	(E)	(E)	(E)
DL-6,8-tioktonsav	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Aminosav szükséglet															
DL-izoleucin	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E
L-leucin	—	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E
DL-valin	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E
L-cisztein-HCl	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E	E
L-glutamin	—	—	—	—	—	E	—	—	—	—	E	E	E	—	E
DL-metionin	—	—	—	—	—	E	—	—	—	—	E	—	E	—	—
L-arginin-HCl	—	—	—	—	—	E	—	—	—	—	E	E	E	—	—
L-hisztidin	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	E	E	—	—	—

(E): nem esszenciális, de szükséges E: esszenciális —: nem esszenciális

Eredményeink alapján látszólag nincs összefüggés a serotypus, a haemolysáló képesség, a virulencia és a táplálkozási igény között.

Három törzzsel külön is érdemes foglalkozni. Ezek a No 18, 025/3, 025/4/4. Az utóbbi kettő a 18-as törzs mutánsai. A szülő törzs virulens, kisebb udvarú β haemolysist okoz, leucint, izo-leucint, valint és ciszteint igényel. A 025/3 jelzésű mutáns igen hatásos haemolysint termel, nagy udvarú oldást okozva, megtartotta virulenciáját és a táplálkozási igénye sem változott. Viszont a 025/4/4 jelzésű mutáns haemolysaló tulajdonsága nem változott, vagy csak alig gyengébb, mint a szülő törzsé, virulenciáját elvesztette és az említett négy aminosavon kívül még metionint, glutamint és arginint is igényel.

Megbeszélés

Barber, 1939-ben összehasonlította a *Listeria* és az *Erysipelothrix* törzsek növekedési sajátosságait és megállapította, hogy az előbbi törzsek pepton vízben is jól szaporodtak, az utóbbiak viszont savót is igényeltek.

Porter és *Pelczar* folyamatosan tudta passzálni az általuk megvizsgált 12 *Listeria* törzset olyan táptalajban, mely savval hidrolizált „vitaminmentes" kazeinből, anorganikus sókból, glukózból, riboflavinból, biotinból és haeminből állt. Néhány törzs esetében, néha, a riboflavin önmagában is elegendő volt, de az eredményeket nehezen tudták reprodukálni. Biotin jelenlétében a tiamin nem volt esszenciális. 18 gyakori aminosavval nem tudták helyettesíteni a kazein hidrolizátumot — csak egy törzsük nőtt esetenként. Ha viszont 25 aminosavat vagy aminosav származékot tettek a táptalajba, akkor egyes törzsek növekedtek. Vizsgálataik során 36 vegyületet próbáltak ki, de csak az előbb felsoroltak voltak a növekedés szempontjából jelentősek. A törzsek esszenciális aminosav igényét nem határozták meg.

Hutner, 1942-ben egyetlen törzset vizsgált. A szaporodás ütemére a termelt sav mennyiségéből következtetett. Táptalaj Na_2HPO_4 és KH_2PO_4 mellett Mg^{++}, Fe^{++} és Mn^{++}, továbbá Na citrátot, Na tioglikollátot, zselatina vagy kazein hidrolizátumot, glukózt, Na oleátot, saponint, riboflavint, és végül peptont vagy élesztőkivonatot tartalmazott. A riboflavint esszenciálisnak találta, a biotin jelentőségét valószínűsítette, viszont a nem-flavin faktorok szerepét nem tudta igazolni. 1944-ben kilenc törzset vizsgált és azt írta, hogy egy addig nem ismert, igen hatásos, növekedést fokozó anyag van az emberi vizeletben csakúgy, mint az élesztő kivonatban vagy a „vitamin mentesnek" tartott kazein hidrolizátumban. Az alaptáptalaj foszfát puffert, sókat, ciszteint, kazein vagy zselatina hidrolizátumot, biotint, tiamint és riboflavint tartalmazott. Szén-forrásnak glukózt használt. Ha a ciszteint a táptalajba tette, akkor a hidrolizátumot szintetikus aminosavak keverékével helyettesíteni tudta.

1952-ben *Cury* és *mtsai* négy *Listeria* törzset minden nehézség nélkül passzáltak olyan kémiailag ismert táptalajban, mely riboflavint, biotint, tiamint, nikotinsavat, aminosavak keverékét, sókat és glukózt tartalmazott. A tiamin és a nikotinsav nem volt esszenciális. Később arról számoltak be, hogy táptalajuk 19 aminosavat, glukózt, sókat, riboflavint, biotint, tiamint és tioktonsavat tartalmazott. A „vitamin mentes" kazein hidrolizátum fokozta a növekedést. Nagy mennyiségű acetát vagy piroszőlősav adása esetén a tioktonsavra nem volt szükség. Táptalajukban a törzsek nem levegőztetett, állótenyészet formájában nőttek.

Patočka és *Schindler* 30 törzs vizsgálata kapcsán arról számolt be, hogy kazein hidrolizátumot, glukózt, anorganikus sókat és tioglikollátot tartalmazó táptalaj használata esetén esszenciális volt a riboflavin, a biotin, valamint a haemin és hat törzs esetében a piridoxin, mely jelentősen fokozta a növekedést riboflavin jelenlétében.

Eyer és *Schrader-Beielstein* az általuk összeállított félszintetikus táptalajt használva azt találta, hogy a *Listeriák* szegényesen növekedtek, amit törzsspecifikus sajátosságnak tartottak.

1959-ben *Miller* és *Silverman* a *L. monocytogenes* glukózbontó képességét tanulmányozva megállapította, hogy ez a szénhidrát esszenciális a jó növekedés szempontjából és nem helyettesíthető sem mint energia, sem pedig mint szénforrás glukonáttal, xylózzal, arabinózzal vagy ribózzal.

Később *Kolb* és *Seidel* ugyancsak a *Listeriák* szénhidrát anyagcseréjét, valamint a trikarbonsav ciklus metabolitjainak a felhasználását vizsgálta. Azt tapasztalták, hogy a *Listeria* légzését legjobban a glukóz fokozta.

1960-ban *Patočka* és *mtsai* újra vizsgálták a piridoxin és a többi vitamin szerepét. Vitamin mentes kazein hidrolizátumot (Difco), KH_2PO_4, $MgSO_4$, NaCl és glukóz tartalmú alaptáptalajt használtak. 38 törzset vizsgáltak meg. A riboflavin volt az egyedüli vitamin, mely önmagában is fokozta a törzsek növekedését. A biotin vagy a piridoxin csak a riboflavinnal együtt stimulálta a törzsek szaporodását. A tiamin szerepét nem tudták igazolni.

Friedman és *mtsai*, majd *Friedman* és *Roessler* közölték meghatározott összetételű táptalajukat, melyben a *Listeriák* csak álló, nem levegőztetett, tenyészet formájában szaporodtak jól. A táptalaj K_2HPO_4, NaCl, Mg^{++}, Mn^{++}, Fe^{++}, Na citrátot, glukózt, riboflavint, tiamint, biotint, tioktonsavat és 21 aminosavat tartalmazott. 5 *Listeria* törzset vizsgáltak és megállapították, hogy a tioktonsav nem esszenciális. A „JHH" törzs csak szerves kenet, valint és izo-leucint igényelt. Az „A4413" jelzésű az előbbiek mellett leucint is. A „9037—7" viszont az előző négy aminosav mellett még arginint és hisztidint is igényelt. A második törzs (A4413) kilenc aminosav jelenlétében jól szaporodott. E törzs esetében a glutamint anorganikus ammóniával tudták helyettesíteni. Az anorganikus sók közül a PO^{4-}, Mg^{++} és a K^+ ionokat találták szükségesnek.

Seeliger könyvében összefoglalta az addig megjelent közlemények egy részét és ismertette saját megfigyeléseit is, melyeket az *Ivánovics-féle* félszintetikus táptalajon végzett kísérletei során gyűjtött össze. Azt is írta, hogy míg a pepton-víz nem tartalmazza a *Listeriák* növekedéséhez szükséges összes faktort, addig a húslé-pepton-bouillon biztosítja a növekedést.

Welshimer tisztázni akarta az előző szerzők által említett 5 vitamin — riboflavin, biotin, tiamin, tioktonsav és piridoxin — közül melyek szükségesek az általa vizsgált nyolc *Listeria* törzs növekedéséhez. A riboflavin szerepét kétségtelennek látta. A törzseket rázás nélkül a következő táptalajban tenyésztette: KH_2PO_4, Na_2HPO_4, $MgSO_4$, glukóz és vagy „vitamin mentes" kazein hidrolizátum vagy kilenc aminosav keveréke. Megállapította, hogy egyik törzs sem tudott egy vagy két passzálásnál tovább nőni, ha a táptalajból kihagyta akár a riboflavint, akár a biotint, akár a tiamint vagy akár a tioktonsavat. Szerinte a tioktonsav szükséglet a tiamin mennyiségétől függ. A piridoxint nem találta esszenciálisnak.

Larson és *mtsai* 128 *L. monocytogenes* illó-zsírsav igényét vizsgálták kémiailag nem ismert összetételű táptalajon és azt találták, hogy csak egyetlen törzs igényelt illó-zsírsavat (izo-butyric vagy 2 metilbutyric savat).

Gray és *Killinger* felsorolta az általuk ismert irodalmi adatokat a referátumukban és a következő megjegyzést tette a témával kapcsolatban: „These several somewhat limited studies emphasize that much unfinished work must be completed for a better understanding of the nutritional requirements and metabolism *of L. monocytogenes.*"

Braveny és *Grote*, 1973-ban kémiailag ismert összetételű szelektív táptalajt készített *Listeriák* izolálása céljából. A táptalaj KH_2PO_4, Na_2HPO_4 $MgSO_4$, $FeSO_4$, glukózt, 9 aminosavat, riboflavint, biotint, tiamint és tioktonsavat tartalmazott a gátló anyagok mellett. Megállapították, hogy teszt törzsük számára a sókon, glukózon és a vitaminokon kívül leucin, izo-leucin, valin és cisztein volt esszenciális.

Az eddig felsoroltakból megállapítható, hogy az elmúlt 37 év alatt az egyes szerzők eltérő eredményekről számoltak be. Megfigyeléseik nehezen hasonlíthatók össze, mert különböző táptalajokat használtak és az egyes tápanyagok szükségességét is eltérő módon értelmezték.

Munkánknál figyelembe vettük azokat a követelményeket, melyek egy minimál táptalajjal szemben fennállnak. Ennek megfelelően egyszerű, szilárd médium összeállítására törekedtünk. Mint már ismertettük, sikerült egy ilyen táptalajt készítenünk. Az alapmédium a foszfát pufferen kívül $(NH_4)_2SO_4$, $FeSO_4$, $MgSO_4$, $CaCl_2$, glukózt, Na_3 citrátot, DL-izo-leucint, L-leucint, DL-valint, L-ciszteint, Na tioglikollátot, riboflavint, biotint, tiamint és „Ionagar"-t tartalmaz. A citrát nélkülözhetetlen az ionok oldatban tartásához *(Sober*, 1970). A tioglikollát a redoxpotenciál csökkenésével biztosítja a növekedés optimális feltételeit. *Hutner* 1942-ben már használta a tioglikollátot, majd

Zink és *mtsai* 1951-ben felfedezték a gyakorlat számára is. Attól kezdve többen is megerősítették, hogy a semianaerob viszonyok elősegítik a *Listeriák* kitenyésztését (*Kemenes*, 1955; *Seeliger*, 1962; *Ralovich* és *mtsai*, 1969, 1970; *Ortel*, 1971). Ezek a gyakorlati megfigyelések összhangban vannak a *Listeriák* táplálkozási igényének vizsgálata során gyűjtött tapasztalatokkal (*Cury* és *mtsai*, 1955; *Patočka* és *Schindler*, 1956; *Friedman* és *Roessler*, 1961; *Friedman* és *mtsai*, 1960; *Welshimer*, 1963).

Kísérleteink során 15 *Listeria* törzs táplálkozási igényét vizsgáltuk meg. Eredményeinket összevetettük a törzsek serotypusával, virulenciájával és haemolysaló képességével.

A vitamin igényt vizsgálva, a korábbi megállapításoknak megfelelően mi is azt találtuk, hogy a riboflavin és a biotin nélkülözhetetlen a *Listeriák* számára. A tiamin nem esszenciális, de a megfelelő növekedés érdekében célszerű minden esetben a táptalajba tenni. Az összes többi említett vitamin tioktonsav, piridoxin, haemin, flavin faktorok, nikotinsav — szükségtelen.

Úgy látszik, a leggyakrabban négy aminosavat — izo-leucin, leucin, valin és cisztein — igényelnek a *Listeriák*. A két korábbi megfigyelés is emellett szól. Mai ismereteink alapján nyilvánvaló, hogy *Hutner* helyesen figyelte meg a cisztein szükségességét.

Az említett *Listeriákon* kívül más növekedési igényűek is előfordultak. Vannak, amelyek csak három aminosavat — izo-leucin, valin és cisztein — kívánnak. Ezt az igényt a nem virulens és nem haemolysaló No 10 törzs esetében észleltük. De ilyen a *Friedman* és *mtsai* (1960), *Friedman* és *Roessler* (1961) által közölt „IHH" jelű törzs is. További vizsgálatok szükségesek annak tisztázására, hogy ez az igény jellemző-e a természetes, nem virulens törzsekre. A törzsek egy másik része több faktort öt, hat, hét vagy nyolc aminosavat igényel. Pl.: 025/4/4, NCTC 7973, NCTC 4883, NCTC 5105, *Mair* C/198 vagy az előbbi szerzők által vizsgált „9037—7" jelzésű törzs is.

Eddigi eredményeink alapján látszólag nincs összefüggés a törzsek serotypusa, haemolysaló képessége, virulenciája és a táplálkozási igénye között.

Vizsgálataink során sem a valin, sem a leucin, sem pedig az izo-leucin nem gátolta a *Listeriák* növekedését (*Massey* és *mtsai*, 1976). Treoninnal nem tudtuk helyettesíteni az előbb említett három aminosav egyikét sem. Egyes törzsek esetében — 025/4/4, NCTC 7973, NCTC 4883 — gyakran figyeltük meg mutánsok (revertánsok?) jelentkezését és általában a *Listeriák* nagy „alkalmazkodó" képességről tettek tanúbizonyságot.

Összehasonlítottuk a *Corynebacterumok* és a *Lactobacillusok* táplálkozási igényét (*Sober*, 1970) a *Listeriák* táplálkozási szükségletével és jelentős különbségeket észleltünk. Ezek az adatok, megítélésünk szerint, taxonómiai jelentőséggel is bírhatnak.

Etil-metánszulfonát kezeléssel mutánsokat állítottunk elő a virulens

18-as számú törzsből (*Financsek* és *mtsai*, 1975). Közülük kettőt, az 025/3 és az 025/4/4 jelzésűeket kivizsgáltunk. Megállapítottuk, hogy az 025/3 jelű törzs megváltoztatta haemolysaló képességét és egy hatásosabb lysint termel, mint a szülőtörzs, viszont virulenciája és táplálkozási igénye nem változott. Az 025/4/4 mutáns esetében más a helyzet. A törzs haemolysaló képessége nem vagy csak alig gyengébb, mint a No 18 virulens törzsé. Viszont leucinon, izoleucinon, valinon és ciszteinen kívül még glutamint, arginint és metionint is igényel és virulenciája is elveszett.

Ezek után röviden a *Listeriák* virulenciájával és virulencia markereivel fogunk foglalkozni.

Anton (1934) írta le először, hogy haemolysaló *Listeria* conjunctivitist vált ki ember, nyúl és tengerimalac szemében. Emellett ő is megfigyelte, hogy parenterális fertőzés esetén monocytosist okoz és elpusztítja a nyulat. A törzsek virulenciájának ellenőrzésére az i. p. fehér egér fertőzést javasolta *Burn* (1934, 1935) bebizonyította, hogy a *Listeria* meningoencephalitist okozhat emberben, majomban és nyúlban. Azt is leírta, hogy nem haemolysaló *Listeriát* is izolált. *Morris* és *Julianelle* (1935) megerősítették *Anton* (1934) megfigyeléseit, és igazolták, hogy majomban is kiváltható a keratokonjunctivitis. *Barber* (1939) 5 különböző eredetű *Listeria* törzset vizsgált meg. Közülük három „S" telepeket, egy részlegesen „R" telepeket, egy pedig „R" telepeket alkotott. A részlegesen „R" törzs nem haemolysált, míg a teljesen „R" igen. Egyikük sem pusztította el a kísérleti állatokat. A három „S" törzs haemolysált, de virulenciájuk különböző volt. Azt is leírta, hogy a galamb rezisztens a *Listeria* fertőzéssel szemben. *Julianelle* és *Pons* (1939), majd később *Belin* (1947) javasolta az *Anton*-teszt alkalmazását diagnosztikai célból. *Hunter* és *mtsai* (1950) izotóp kezeléssel mutánsokat állítottak elő egy virulens β haemolysaló *Listeria* törzsből és összehasonlították a szülő és a mutánsok tulajdonságait. A virulenciát egér és csirkeembrió fertőzéssel mérték. Az az öt törzs, melyek virulenciája erősen csökkent, elvesztették lóvért haemolysaló képességüket és biokémiai sajátosságaik is megváltoztak. *Stanly* (1948) ugyan azt írta le haemolysaló törzsével kapcsolatban, mint amit *Anton* (1934). *Barrow* és *Pugh* (1958) α vagy β haemolysist figyelt meg a *Listeriák* telepei körül. Ők is találkoztak „S", „R" és „átmeneti" telepformákkal, csak úgy, mint nem haemolysaló és erősen haemolysaló variánsokkal. *Bearns* és *Girard* (1959) azt írta, hogy a legtöbb törzs β haemolysist okoz, továbbá, hogy az „S" telepű friss törzsek váltják ki a keratoconjunctivitist. *Welshimer* és *Winglewish* (1959) szerint a haemolysaló képesség nem diagnosztikus értékű, mert esetenként „extrém gyenge lehet vagy hiányozhat is". *Girard* és *mtsai* (1963), valamint *Njoku-Obi* és *mtsai* (1963) további adatokat szolgáltattak a *Listeriák* haemolysaló képességével kapcsolatban és azt állították, hogy nem látszik összefüggés a törzsek haemolysaló képessége és virulenciája között. *Seeliger* (1961) a következőket írta: „mindegyik törzs oldja a v.v.t.-eket . . . A haemolysis mértéke

változó . . . kis változás a táptalaj minőségében szimulálhatja a haemolysis hiányát". A legerősebb oldást az „S" telepek körül figyelte meg, míg az „R" telepek körül csak gyenge lysist észlelt. *Gray* és *Killinger* (1966) a keratoconjunctivitis teszt diagnosztikus értékével kapcsolatban azt írta: „ez a teszt nem alkalmazható hatásosan minden mostanában izolált tenyészet esetén". Feltételezzük, a nem haemolysaló, nem virulens törzsekre gondoltak. *Welshimer* (1968) növényekről 8 *Listeriát* izolált, melyek közül csak kettő volt egér pathogen és csak ez a kettő oldotta a birka v.v.t.-eket. A többi nem pathogén és nem haemolysaló törzs volt.

1969-ben 20 *Listeriát* izoláltunk emberi székletből. 12 a 4-es serotypusba tartozott. Ezek nem haemolysáltak, nem okoztak keratoconjunctivitist és nem pusztították el az egeret, míg a többi haemolysált, virulens volt és az 1/2-es serotypusba tartozott *(Ralovich* és *mtsai*, 1970).

Tapasztalataink alapján leírtuk a *Listeriák virulencia markereit*, melyek a következők: β haemolysis birkavér tartalmú agaron, precipitáció LV agaron, egérpathogenitás i. p. fertőzés esetén, csirke embrió pathogenitás, keratoconjunctivitist okozó képesség *(Ralovich* és *mtsai*, 1972; *Emődy* és *Ralovich*, 1974). Állításainkat azóta mások is megerősítették *(Ortel*, 1974; *Berger*, 1975).

Több éves kísérleteink során több mint 100 *Listeriát* vizsgáltunk meg és soha sem észleltük, hogy nem haemolysaló törzs haemolysalóvá vált volna. A haemolysaló képességet igen stabil, genetikusan determinált tulajdonságnak tartjuk és egyetértünk *Seeliger* (1961) korábban idézett megállapításaival. Azt mi is tapasztaltuk, hogy a táptalaj minőségének megváltozása olykor a haemolysis teljes hiányának látszatát produkálta.

Mostani eredményeink azonban ellentmondani látszanak korábbi tapasztalatainknak. Mint már említettük az eredményekben a megvizsgált 15 törzs közül 11 bizonyult virulensnek mind az *Anton*-teszttel, mind pedig az egér teszttel. Három törzs — No 10, NCTC 10 357 és 025/4/4 — mind a két vizsgálat alkalmával nem virulens volt. Az NCTC 5105 törzs pedig csak egérfertőzés alkalmával volt virulens. Keratoconjunctivitist nem tudott kiváltani. Az említett négy törzs közül három — NCTC 10 357, 025/4/4 és NCTC 5105 — okozott β oldást. Ez az első eset, amikor β haemolysaló törzs avirulensnek bizonyult. Eddig a β haemolysis egyúttal mindig virulenciát is jelentett. Ezek az adatok megkérdőjelezik a véres agar táptalajon β típusú oldást okozó lysin pathogenetikai jelentőségét és felhívják a figyelmet arra, hogy más faktor(ok) után is kell kutatni, ha a *Listeriák* virulenciáját meg akarjuk érteni. Mostani eredményeink alapján igazat adunk *Girard* és *mtsainak*, valamint *Njoku-Obi* és *mtsainak*, akik már 1963-ban leírták, hogy a solubilis haemolysis mennyisége és a törzs virulenciájának foka között nincs összefüggés és előfordulhat megnövekedett virulencia csökkent haemolysin termelés mellett is.

Smith (1972) markerekre és determinánsokra vonatkozó definícióit használva, a β *haemolysis* csak egy meglehetősen jó *marker*, mely általában jól

jellemzi a törzseket, de nem egy olyan *determináns*, mely egyedül felelős a pathogenitásért.

Köszönetnyilvánítás: Köszönetünket fejezzük ki Dr. *D. Jones*-nak a nyolc *Listeria* törzsért, Prof. Dr. *H. Seeliger*nek a négy törzs serotypizálásáért, Prof. Dr. *Kétyi Iván*nak a segítőkész és hasznos tanácsaiért, valamint *The Wellcome Trust*nak az anyagi támogatásért.

Összefoglalás

A szerzők ismertetik az általuk kipróbált *minimál táptalaj* összetételét, melynek segítségébel 15 *L. monocytogenes* törzs táplálkozási igényét vizsgálták meg.

A korábbi megfigyelésekkel ellentétben megállapították, hogy a DL-6,8-tioktonsav (liponsav) nem esszenciális. Tiamin nélkül is megfigyeltek növekedést, de a megfelelő nagyságú telepek érdekében célszerű a vitamint a táptalajba tenni.

Összehasonlították a törzsek serotypusát, haemolyzaló képességét, virulenciáját és táplálkozási igényét és arra a következtetésre jutottak, hogy ezek a tulajdonságok nem konzekvensek.

Két „EMS" mutáns tulajdonságait is kivizsgálták és összevetették a virulens szülő sajátosságaival. Azt találták, ha a törzs arginin, glutamin és metionin anyagcseréje sérül, a virulenciája is elvész.

Végül taglalták a *Listeriák* virulencia markereivel kapcsolatos adatokat.

IRODALOM

Anton, W.: Zbl. Bakt. I. Abt. Orig. **131,** 89 (1934).
Barber, N.: J. Path. Bact. **48,** 11 (1939).
Barrow, G. I., Pugh, R. J.: J. Path. Bact. **75,** 9 (1958).
Bearns, R. E., Girard, K. F.: Am. J. Med. Technol. **25,** 120 (1959).
Belin, M.: Ann. Inst. Pasteur **73,** 99 (1947).
Berger, U.: Med. Microbiol. Immunol. **161,** 215 (1975).
Braveny, I., Grote, R.: Experimentia **296,** 1553 (1973).
Burn, C. G.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **31,** 1095 (1934).
Burn, C. G.: J. Bact. **30,** 573 (1935).
Cury, A., DeGoes, P., Hutner, S. H., Starr, T. J.: Anais Microbiol. (Rio de Janeiro) **2,** (1952/1953).
Cury, A., Portellada, P. C. L., Hutner, S. H.,: Anais Microbiol. (Rio de Janeiro) **3,** 11 (1955).
Emődy, L., Ralovich, B.: Problems of Listeriosis, Ed.: M. Woodbine, Leicester Univ. Press., pp. 131–138 (1975).
Eyer, H., v. Schrader-Beielstein, H. W.: Zbl. Bakt. I. Abt. Orig. **166,** 266 (1956).
Eyer, H., v. Schrader-Beielstein, H. W.: Zbl. Bakt. I. Abt. Orig. **169,** 108 (1957).
Financsek, I., Ralovich, B., Emődy, L.: nem közölt adat.
Friedman, M. E., Greenberg, M. M., Roessler, W. G.: Bact. Proc. p. **165,** P56 (1960).
Friedman, M. E., Roessler, W. G.: J. Bact. **82,** 528 (1961).
Girard, K. F., Sbarra, A. J., Bardawil, W. A.: J. Bact. **85,** 349 (1963).
Gray, M. L., Killinger, A. H.: Bact. Rev. **30,** 309 (1966).

Hunter, M. C., Stahly, G. L., Myers, W. M. G.: Ohio J. Sci. **50,** 253 (1950).
Hutner, S. H.: J. Bact. **43,** 629 (1942).
Hutner, S. H.: J. Bact. **47,** 433 (1944).
Ivánovics, G.: Z. Immun.-Forsch. **101,** 58 (1942).
Juliannelle, L. A., Pons, C. A.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **40,** 362 (1939).
Kemenes, F.: Magyar Állatorv. Lap. **10,** 115 (1955).
Kolb, E., Seidel, H.: Zbl. Vet.-Med. **7,** 509 (1960).
Larson, A. D., Hattier, L. V., McClaskey, C. S.: J. Bact. **89,** 819 (1963).
Massey, L. K. Sokatch, J. R., Conrad, R. S.: Bact. Rev. **40,** 42 (1976).
Miller, I. L., Silverman, S. J.: Bact. Proc. p. 103 (1959).
Morris, M. C., Julianelle, L. A.: Am. J. Ophth. **18,** 535 (1935).
Njoku-Obi, A. N., Jenkins, E. M., Njoku-Obi, J. C., Adams, J., Covington, V.: J. Bact. **86,** 1 (1963).
Ortel, S.: Zbl. Bakt. I. Abt. Orig. **217,** 41 (1971).
Ortel, S.: Problems of Listeriosis. Ed.: M. Woodbine, Leicester Univ. Press., pp. 197—205 (1975).
Patočka, G., Mára, M., Schindler, J.: J. Hyg. Epid. Microb. and Immunol. **6,** 504 (1960).
Patočka, F., Schindler, J., (1956). citálta: *Patočka, F., Mára, M., Schindler, J.:* J. Hyg. Epid. Microb. and Immunol. **6,** 504 (1960).
Porter, J. R., Pelczar, M. J.: J. Bact. **42,** 141 (1941).
Ralovich, B., Emődy, L., Mérő, E.: Acta microbiol. Acad. Sci. hung. **19,** 323 (1972).
Ralovich, B., Emődy, L., Polotsky, Y., Dragunskaya, E., Ravdonikas, L., Grabovskaya, K., Yunusova, M.: VIIth International Symposium on the Problems of Listeriosis, September 23—27, 1977, Varna.
Ralovich, B., Forray, A., Mérő, E., Málovics, I.: Zbl. Bakt. I. Abt. Orig. **214,** 231 (1970).
Ralovich, B., Vörös, S., Málovics, I., Doszpod, J., Gáti, I., Forray, A.: Probleme der Listeriose. Symp. mit internat. Beteiligung, 16—17 Mai, 1968, in Leipzig, VEB G. Thime, Leipzig, pp. 69—73 (1968).
Seeliger, H. P. R.: Listeriosis, S. Karger, Basel, New-York, p. 12 (1961).
Seeliger, H. P. R.: Zbl. Bakt. I. Abt. Orig., **187,** 267 (1962).
Smith, H.: Symp. of the Soc. for Gen. Microbiol. **22,** 1 (1972).
Sober, H. A.: CRC Handbook of Biochemistry selected data for Molecular Biology. 2nd ed., Chemical Rubber Co., Sect. I. Genetics and Biology, (1970).
Stanley, N. F.: Med. J. Australia **2,** 205 (1948).
Welshimer, H. J.: J. Bact. **85,** 1156 (1963).
Welshimer, H. J.: J. Bact. **95,** 300 (1968).
Welshimer, H. J., Winglewish, N. G.: J. Amer. Med. Ass. **171,** 1319 (1959).
Zink, A., deMello, G. C., Burkhart, R. L.: Am. J. Vet. Res. **12,** 194 (1951).

AZ IZOLÁLT HEPATOCYTÁK JELENTŐSÉGE A MÁJ ANYAGCSERE-FOLYAMATAINAK TANULMÁNYOZÁSÁBAN

ANTONI FERENC az MTA levelező tagja, MANDL JÓZSEF, GARZÓ TAMÁS és MÉSZÁROS KÁROLY

Semmelweis Orvostudományi Egyetem I. sz. Kémiai-Biokémiai Intézet Budapest

Közlésre érkezett: 1977. II. 6.

A vizsgálati módszerek és a preparatív eljárások fejlődésével az utóbbi időben jelentősen gazdagodtak a máj működésére vonatkozó ismeretek. A máj életfontos funkcióját nemcsak a szervezet intermedier anyagcseréjében, a különböző tápanyagok konvertálásában ismertük meg, hanem több, a szervezet homeostasis állapotához szükséges fehérjék szintézisében (pl. szérum fehérjék, egyes véralvadási faktorok) és a fehérjék lebontásában is. Ismereteink sokat bővültek a kemizáció intenzív propagációja következményeként egyre nagyobb mértékben bejutó xenogén anyagoknak a májban folyó biotranszformációjával, illetve metabolizmusával kapcsolatban.

A máj igen jelentős adaptív készsége jól ismert. A partialis májkiirtási vizsgálatokból a máj regeneratív képességéből következtetni lehetett arra is, hogy a májműködés intenzitása adott körülmények között többszörösére fokozható. Ez egyben bizonyíték arra is, hogy a májsejtek működési kapacitása a szervezet „steady state" állapotában csak kismértékben kihasznált, illetve működésük a szervezet szinte valamennyi szabályozó rendszerével tartott állandó kapcsolatban folyamatosan változik. A májsejtek nemcsak mennyiségi, hanem minőségi változásokra is képesek a bioszintetikus folyamatokban, ilyen pl. az enzimindukció. A máj mint a szervezet legnagyobb exogén és endogén szekréciós mirigye, szerteágazó és komplex kapcsolatrendszer része, sejtjeinek működését valószínű igen sok és ma még csak részben ismert szabályozó rendszer befolyásolja. A máj működés megismerését, illetve vizsgálatához adequat módszerek megválasztását tulajdonképpen ez az összetett, többszörösen és különböző szinteken szabályozott rendszer teszi bonyolulttá. A részleges májkiirtást és az egyéb in vivo kísérleteket érthetően hamar felváltották azok a törekvések, amelyek a különböző in vitro vizsgálati rendszerek bevezetéséhez vezettek. Az in vitro vizsgálati rendszerekben kapott eredményekből azonban az in vivo májra vonatkoztatás igen nagy óvatosságot és körültekintést igényel.

A máj egységekből épül fel. Ezeket az egységeket a máj parenchyma sejtjei alakítják ki a máj sajátos érhálózatával, kötőszövetes vázával, epeút rendszerével és Kuppfer sejtjeivel (lobulus, acinus). Az egységek kialakulása

alapján feltételezhető, hogy a hepatocyták a máj más szerkezeti elemeivel együttesen fejtik ki működésüket, és a máj funkcionális egysége is több mint egyetlen hepatocyta. Egyetlen májsejt plazma membrán szerkezete a különböző sejtekkel érintkező felszíneinek megfelelően más és más. Ezek, de más cytológiai vizsgálatok — *Alwen* (1974) — is valószínűsítik, hogy a májsejtek kooperációs képessége igen magas fokú. A kötőszövet szerepe, jelentősége jól ismert a máj felépítésében és a máj pathológiájában. A máj funkció ellátása azonban egyértelműen és elsősorban a máj parenchyma sejtjeinek épségéhez kötött. Minden májkárosító folyamat a hepatocyták működésének befolyásolásán keresztül érvényesül.

A biokémiai vizsgálatokban a máj működés megismerését a sejtek feltárásával, homogenizálásával szokták kezdeni. A májhomogenizátum, a frakcionálási eljárásokkal nyert postmitokondriális felülúszó és mitokondrium készítmények, majd később a máj-riboszóma alegységekből és citoszól faktorokból összeállított sejtmentes „fehérjeszintetizáló" rendszerek jelentősége jól ismert. Hozzá kell tenni azonban, hogy ilyen kísérleti körülmények között, a fehérje szintézis vizsgálata inkább a folyamat mechanizmusára, mint in vivo körülmények közötti sebességére, lefolyására adott választ. Igen nagyszámú, sejten belül lejátszódó folyamatot ismertek meg és jellemeztek az említett módszerek segítségével. A megismert folyamatok a sejtben egymás mellett, illetve egymást követően folynak le. Az élő sejtben hogyan játszódnak le, milyen a folyamatok közötti koordináció, erre a kérdésre csak az in vivo vagy „túlélő" in vitro rendszerekben kereshető a válasz.

A vizsgálatok másik megközelítése éppen az előzőkben ismertetett igényeknek kívánt eleget tenni. Olyan in vitro rendszereket kerestek, amelyekben a májsejtek „épsége" biztosítható volt. A perfúziós technikák igen sok folyamat megismerését tették lehetővé és ezeket a rendszereket még ma is igen eredményesen használják.

Perfúzióval mint ismeretes, a máj csak rövid ideig tartható életben és a májsejteknek a vizsgálata a szerven belül csak közvetve valósítható meg. A vizsgálati eredmények összehasonlítása, értékelése ezért csak nagy kísérletszám alapján lehetséges — *Johnson* és *mtsai* (1972). A „túlélő" májszelet technika megteremtette az ún. „önkontrollos" kísérletek lehetőségét. A májszeletek készítésekor azonban a külső sejtréteg sérülésével számolni kell, továbbá a médiummal közvetlenül kapcsolatban nem levő rétegek oxigén ellátása kedvezőtlen. A „túlélő" májszeletek korlátolt értékére utal, hogy a nukleotid tartalom akár a kiindulási érték felére csökkenhet — *Krebs* (1976a). Mindezek egyre sürgetőbbé tették a hosszabb ideig életben tartható, „önkontrollos" kísérletekre alkalmas, in vitro vizsgálati eljárások kidolgozását, amelyek a májsejtek közvetlen vizsgálatát teszik lehetővé. Egyben megteremthetők in vitro a szigorúan aerob viszonyok is, ami a májban in situ jellemző. Ezeknek az igényeknek próbált eleget tenni az izolált májsejt technika.

A májsejt izolálási módszerek rövid története

Schneider és *Potter* 1943-ban májsejt szuszpenzió előállításáról számolt be, amelyet a máj megfelelő lyuk-átmérőjű „szitán" keresztül történő óvatos és enyhe átnyomásával, majd alacsony fordulatszámmal végzett centrifugálással állítottak elő. *Bucher* 1951-ben patkány májszeleteket üveggyöngyökkel rázatott, ezzel az eljárással nyert izolált sejteket. Megfigyelte továbbá, hogy a Ca^{++} ionok jelenléte a sejthozamot jelentősen csökkenti. Ezeket a megfigyeléseket összefüggésbe hozták azokkal a korábbi tapasztalatokkal, amelyek a sejtek közötti kölcsönhatásokban a kalcium fontosságára utaltak.

Ringer, *Herbst* és *Lillie* századforduló táji közleményei (ref. *Chambers* 1940) nyomán a sejtizolálási kísérletekben a közegből a kalciumot kihagyták. *Anderson* 1953-ban nemcsak kihagyta a kalciumot abból a mediumból, amellyel retrográd úton perfundálta a májat, hanem a kalcium kötő vegyületek használatát is bevezette (pirofoszfát, EDTA, citrát). Az általa alkalmazott módszer 40%-os sejthozamot eredményezett. Ez volt az első kísérlet, amellyel jó hozammal sikerült sejteket nyerni. (Potter készülékben megfelelő hézaggal (clearanc) homogenizálta a perfúzió után feldarabolt májat. A homogenizátumot sűrű selyemhálón szűrte, az izolált sejteket többszörös mosással, centrifugálással mentesítette a sejttörmeléktől.)

Branster és *Morton* 1957-ben a perfúziós folyadék hőmérsékletének változtatásával fejlesztette tovább a sejtizolálás hatásfokát. Az ép és életképes májsejt izolálási technika kidolgozása azonban még egy évtizedet váratott magára.

A tíz év során kipróbálták a legkülönbözőbb kalcium kelátor szereket [perklorát, tetrafenilborát, ref. *Layeek* és *mtsai* (1974), *Müller* és *mtsai* (1972), *Waymouth* (1974).] Lényeges újítást az enzimatikus izolálási kísérletek jelentettek [tripszin ref. *Müller* (1972)], de az eredmény, az életképes és megfelelő számú májsejt izolálása a bevezetett módszerek ellenére is váratott magára. Bár a bevezetett módszerek ígéretesnek bizonyultak, felvetődött olyan kérdések megválaszolása is, hogy mit lehet tekinteni az izolált sejtek életképességének a kritériumaként, mi a májsejt életképességének elfogadható bizonyítéka.

Az előzőkben ismertetett módszereket gyűjtőnéven *mechanikus* izolálási eljárásoknak nevezik, mert közös jellemzőjük a mechanikus jellegű beavatkozás. A sejtet „kiszakították" környezetéből, ami elkerülhetetlenül a sejtek sérülésével, plazma membránjuk károsodásával járt. A mechanikus beavatkozásokat követően vizsgálták a sejtek anyagcseréjét. Kiderült, hogy csak a citrát-ciklus intermedierjeit oxidálták, hasonlóan a szuszpendált, izolált mitokondriumokhoz. Energiaigényes, bioszintetikus folyamatokat ezekben a sejtekben nem sikerült kimutatni. Nem jelentettek kivételt *Friedman* és *Epstein* (1967) kísérletei sem, akik a jelzett aminosav inkorporációját a sejtmentes rendszereknél megszokott energia generáló rendszer jelenlétében vizs-

gálták, vagyis a rendszer tulajdonképpen tökéletlen májhomogenizátumnak bizonyult. A sejtek morfológiai módszerekkel végzett vizsgálata is alátámasztotta az előzőekben ismertetett megfigyeléseket.

A mechanikus jellegű beavatkozással preparált sejtek finom struktúrája elektromikroszkópos vizsgálatok alapján vesicularizálódott endoplazmatikus retikulumot, súlyosan sérült plazma membrán károsodást mutatott, *Berry* (1962).

Biokémiai vizsgálatokban csak azok a sejtek tekinthetők életképesnek, amelyek a különböző intakt sejtorganellumok integrált működését feltételező anabolikus folyamatokra képesek, *Hems* és *mtsai* (1966). Ilyen viszonylag könnyen vizsgálható folyamat pl. a glukoneogenezis és a fehérje szintézis.

Howard és *Pesch* angol kutatóknak sikerült először 1967-ben olyan májsejteket izolálni, amelyeknek ultrastruktúrája nem bizonyult sérültnek és a biokémiai kritériumok alapján is életképesnek bizonyultak. A döntő előrehaladást a kollagenáz enzim alkalmazása jelentette. A kollagenázt 1953-ban izolálták Cl. histolyticumból *(Mandl)*. A sejtszeparálási technikákban 1957-től alkalmazták. A kollagenáz alkalmazásával sikerült 1964-ben *Rodbell*nek a hormonhatások vizsgálatára alkalmas adipocytákat preparálnia. *Howard* és *Pesch* sikerrel egyesítette a korábbi metodikák tapasztalatait. Lényegében az izolált „túlélő" szelet-technikából fejlesztették ki módszerüket. A májszeleteket kalcium mentes közegben inkubálták. A medium kollagenázt és hialuronidázt tartalmazott. A szűrt, mosott sejtszuszpenzió a máj sejtjeinek 3—4%-át tartalmazta. Ezzel tehát megvolt a lehetőség az életképes májsejtek izolálására, a sejthozam azonban nem bizonyult kielégítőnek. A májsejt izolálás megvalósításában a döntő előrehaladást *Berry* és *Friend* (1969) munkája jelentette.

A szerzők munkáját úgy lehet jellemezni, hogy tulajdonképpen egy lépést „visszaléptek", a májszeletek inkubálása helyett egy régebbi módszert alkalmaztak. Patkány májat kalcium mentes Hanks-oldattal perfundáltak. A vér kimosása után a perfúziós puffer kollagenázt és hialuronidázt tartalmazott. Harminc perc elteltével a májat szétrázták sejtjeire. A sejt szuszpenzió szűrése, alacsony fordulatszámmal végzett centrifugálása, mosása után nyert izolált májsejtek az elektromikroszkópos képeken megtartott ép ultrastruktúrát mutattak. Az így izolált sejtekben a glukoneogenezis folyamata mérhető volt, és ami a módszer döntő újdonságát jelentette, a kapott sejtmennyiség a máj sejtjeinek 30—50%-át reprezentálta. Az új módszer szinte egy-két éven belül egyeduralkodóvá vált. Patkány és egér, csirke és bárány esetében a kollagenázos perfúziós módszert a májsejtek izolálására sikerrel alkalmazták. *Capuzzi* és *mtsai* (1974), *Clark* és *mtsai* (1976), *Crisp* és *Pogson* (1972). A bevezetett több módosítás, a vitatott kérdések ellenére a metodika lényege változatlan maradt. A hialuronidázt a legtöbb munkacsoport elhagyta, mert feleslegesnek bizonyult a májsejt izolálásában. Szerepét a sejtek szétválasztásában maga Michael Berry sem tudta indokolni (1976a, 1976b).

Az utóbbi években a figyelemre méltó vita a kalcium szerepével kapcsolatban bontakozott ki. *Seglen* a kalcium mentes pufferrel végzett perfúzió után már kalcium ionok jelenlétében folytatta a kollagenázos perfúziót (1972, 1973a, b, 1975).

Seglen véleménye szerint a pre-perfúzióval járó kalcium mentes állapot elegendő a dezmoszómák kalcium hiányában bekövetkező irreverzibilis destrukciójához, tehát további kalcium elvonás szükségtelen, illetve az ezután adott kalcium mint a kollagenáz ismert aktivátora csak fokozza az izolálás hatásfokát. Többen, köztük Berry a módszer kidolgozója, vitatják a változtatások indokolt voltát és a Seglen által leírt kedvezőbb hatásfokot kísérleteikben nem tapasztalták. Érveik között fontos az a tény, hogy valamennyi kollagenáz preparátum kalciummal szennyezett. A kalcium szennyezettség olyan fokú, hogy a közegben levő kalcium már nem fokozza az enzimaktivitást; *Berry* (1976a, 1976b).

A májsejt izolálást követően kapott sejtszuszpenzió körülbelül 80%-ban máj parenchyma sejteket tartalmaz, a maradék 20%-ot zömmel Kuppfer sejtek, ill. makrofágok képezik. A máj kötőszövetes váza, érhálózata, az epehólyag ellenáll a 35 perces kollagenáz emésztésnek. Különböző módszerekkel próbálkozásokat végeztek, homogén hepatocyta szuszpenziókat a kevert sejtpopulációtól szétválasztani.

Több lehetőség közül a két legelfogadottabb módszer az elutriátor rotorral történő centrifugálás, *David* és *mtsai* (1975) és a Ficoll grádiens elválasztás, *Wanson* (1976), *Weigand* (1976a).

A szétválasztás szükségességét nemcsak a viszonylag nagyszámú nem parenchymalis eredetű sejt jelenléte, hanem e sejtek ismert tulajdonságai is indokolttá teszik. A szétválasztási módszerek kidolgozatlansága és hibái miatt a kutatók többsége általában kevert sejtpopulációval dolgozik.

A sejtizolálás folyamán a májat felépítő morfológiai és funkcionális egységek megszűnnek, a máj jellegzetes szerkezete felbomlik. Izolált májsejtekből létrehozott „túlélő" monolayer kultúrában a sejtek spontán aggregálódnak és az epe kanalikulus képződésre törekszenek, *Alwen* (1974). A sejtek a kooperációs hajlamukat valamennyire megőrzik, de a sejtek működési körülményei alapvetően megváltoznak. Az említett jelenséget az izolált sejtekkel végzett kísérletekből levont következtetések értékelésekor is figyelembe kell venni. Kétségtelen és hangsúlyozandó tény azonban, hogy a máj működés legkisebb integrált fiziológiai egysége a májsejt. Elemi szinten a májműködés csak a hepatocyták működésének befolyásolásán keresztül reguláló dhat, történjen ez a reguláció akár közvetlenül a máj parenchyma sejtjeire hatva, akár közvetve, egy nagyobb egység regulációján keresztül.

Az izolált májsejt technika elterjedését követően részben a már korábban kifejlesztett in vitro rendszerekkel elkezdett kutatások folytatódtak, részben új kutatási irányok bontakoztak ki. Az izolált sejteket összehasonlí-

tották a korábbi in vitro rendszerekkel, így a perfundált májjal és a „túlélő" májszelet készítményekkel. Az összehasonlítás alapjai a májban folyó, mérhető *anabolikus folyamatok* (glukoneogenezis, fehérje szintézis) voltak.

Ugyanezen folyamatok mérésével végzik a különböző laboratóriumokban, illetve különböző speciesekből izolált májsejtek összehasonlítását is, *Elliott* és *mtsai* (1976), *Johnson* (1972). Izolált sejteken kiterjedten vizsgálták a glikoneogenezis és más anabolikus folyamatok regulációját, így különösen a zsírsav szintézist, lipogenezist, *Capuzzi* és *mtsai* (1974), *Clark* és *mtsai* (1974), *Edwards* (1975), *Junge* és *mtsai* (1976), *Pilkis* (1975), *Selmer* és *Grunnet* (1976). A katabolikus folyamatok közül az utóbbi években elsősorban a glikogenolízist az intracelluláris protein katabolizmust és az urea szintézist tanulmányozták. *Hensgens* és *mtsai* (1976), *Seglen* (1975), *Sies* és *mtsai* (1976), *Walli* és *Schimassek* (1976). Az izolált májsejt technikával eltérő körülmények között jól követhető e folyamatok egyes enzimeinek működése, szabályozása, regulációs szerepe. Az izolált hepatocytákban a PEP-karboxikináz, piruvát dehidrogenáz, piruvát kináz, glutamát dehidrogenáz enzimek aktivitását vizsgálták a fenti szempontok alapján, *van Berkel* és *mtsai* (1976), *Feliu* és *mtsai* (1976), *Hensgens* és *mtsai* (1976), *Junge* és *mtsai* (1976), *Siess* és *mtsai* (1976), *Williamson* és *mtsai* (1976).

A máj anabolikus folyamatainak fontos funkciója a máj *szekrétum képzés*. Az izolált hepatocyták alkalmasak a szecretálódó anyagok szintézisének, illetve magának a szekréció folyamatának a tanulmányozására. Az albumin, glukóz, epesavak, ketontestek és lipoproteinek szintézisének és szekréciójának vizsgálatáról igen sok közlemény számol be, *Anwer* és *mtsai* (1975), *Crane* és *Miller* (1974), *Jeejeebhoy* (1975a, 1975b), *Junge* és *mtsai* (1976), *Müller* és *mtsai* (1975), *Weigand* és *Otto* (1974), *Zahlten* és *mtsai* (1974). Külön figyelmet érdemel azoknak a véralvadásban résztvevő fehérjék szintézisének vizsgálata, amelyek a májban képződnek, *Crane* és *Miller* (1974), *Jeejeebhoy* és *mtsai* (1975b). Viszonylag kevéssé ismert az egyes alvadási faktorok képzésének regulációs mechanizmusa. Felmerül annak a lehetősége, hogy az adott faktor vagy hasadási terméke kötődik a sejtmembránhoz, illetve újra bekerül a sejtbe, ami a szabályozás lehetőségére utal.

Az izolált májsejt technika lehetővé tette ennek az esetleges „feed back" regulációnak közvetlen tanulmányozását.

Transzport folyamatok vizsgálatára is jelentősen kedvezőbb feltételeket biztosít az izolált sejtes rendszer, mint a korábban alkalmazott rendszerek. Az eddig megjelent közlemények elsősorban az aminosavak és a glukóz transzport folyamataival, illetve ion transzport folyamatok közül a kalcium transzporttal foglalkoztak, *Baur* és *Held* (1976), *Katz* és *mtsai* (1975), *Kleineke* és *Söling* (1976), *Le Cam* és *Freychet* (1976).

A transzport folyamatok nélkülözhetetlenek a máj detoxikáló funkciójának ellátásához is. A brómszulfalein (BSP) felvételének vizsgálata például

a klinikumban jól ismert és bevált májfunkciós próba. A máj detoxikáló működése lehetséges tesztjének, illetve modelljének tekintik a BSP-próbát, ezért a transzport folyamatok közül a BSP felvétel mechanizmusa számos vizsgálat tárgyát képezte, *van Bezooijen* és *mtsai* (1976), *Schwenk* és *mtsai* (1976).

A sejt izolálás megteremtette a *sejtfelület* vizsgálatának a lehetőségét is. Többen felvetették azonban az enzimatikus módszer miatt, hogy az izolálás folyamata közben sérül a sejtfelület, sérülnek a sejtfelületen elhelyezkedő receptorok, *Nilsson* és *Akesson* (1975). A perfúziós médium kollagenáz koncentrációjának túlzott emelése károsítja a sejteket. A sejtek membránjának elektronmikroszkópos képe azonban ép sejt membránt mutat az optimálisnak tekintett 0,02%-os kollagenáz emésztés után. A membrán funkcionális épségét éppen a sejtfelületi receptorok vizsgálatával lehetett igazolni. Elsősorban nem azt bizonyították, hogy a májműködést befolyásoló hormonok kötődnek a sejtfelülethez, hanem azt, hogy a biológiai hatás együtt mérhető és tanulmányozható a hormonnak a sejt felületén történő kötődésével. A kötődéssel parallel mérhető biológiai hatás amellett szól, hogy az izolálás folyamata nem károsítja a sejtfelület receptorait, illetve nem károsítja olyan mértékben, hogy a receptorok elveszítsék a ligand kötő, illetve a kötődésre való reagálási képességüket. A májműködést befolyásoló hormonok közül a glukagon, adrenalin, insulin és a glukokortikoidok kötődésének mechanizmusa és kinetikája, illetve hatásuk vizsgálata kerül előtérbe; *Bojar* és *mtsai* (1974, 1976), *Bosch* és *mtsai* (1976), *Claus* és *mtsai* (1975), *Le Cam* és *mtsai* (1976b), *Pilkis* és *mtsai* (1975), *Walli* és *Schimassek* (1976). Májtsejteken hasonló választ válthat ki több különböző hormon adása. Így közismert, hogy a glukagon és az adrenalin egyaránt serkenti a glikogén lebontást.

Az izolált hepatocytákon megvizsgálták ezeknek a hatásoknak a különböző mechanizmusát úgy, hogy külön-külön, illetve kombináltan adták az alfa és béta receptor izgatókat és gátlókat a glukagonnal és megállapították a hatásmechanizmusok hasonlóságait és különbségeit, *Cherrington* és *mtsai* (1976), *Hutson* és *mtsai* (1976). Igen nagy lehetősége lehet a kötődési vizsgálatoknak a májműködés regulációjának a felderítésében, akkor, ha a kötődéshez társuló biológiai hatás is mérhető, vizsgálhatóvá válik.

Több kutatóhelyen megkísérelték a májsejt izolálás technikáját továbbfejleszteni, hogy segítségével hónapokig, esetleg évekig életképes sejtkultúrák álljanak rendelkezésre, *Bissel* és *mtsai* (1973), *Michalopoulos* és *Pitot* (1975). Eddig még nem alakult ki olyan nemzetközileg általánosan elfogadott módszer, mint a szuszpenzióban rövidebb ideig életben tartható sejtek a „short term culture" esetében. Éppen ezért a kutatók többsége ma is csak az utóbbival dolgozik.

Mechanikus jellegű preparálási módszerek azokban az esetekben maradtak meg, ahol nem valósítható meg a kollagenázos perfúzió. Májbiopsziás,

illetve műtéti anyagokból nyernek e módszerekkel izolált májsejteket, amelyek segítségével humán máj is vizsgálható; *Fry* és *mtsai* (1976), *Paál* és *mtsai* (1976).

Kísérleti módszerek és eredmények

I. A májsejtek izolálása

A májsejteket ad libitum etetett CLP egerekből *Berry* és *Friend* 1969-ben közölt módszere alapján izolálták. Az egér májat Nembutál narkózisban in situ perfundáltuk a kanülált vena portaen keresztül. Más szerzők az egérmáj perfúziót a vena cava inferioron át, retrográd úton is végzik, *Crisp* és *Pogson* (1972), kísérleteinkben az anterográd perfúziót választottuk. A májat Ca^{2+} mentes módosított Hanks' oldattal — *Johnson* (1972) — áramoltattuk át. A perfúziós médium 1,5% szérum albumint — *Edwards* (1975) —, 8,5 mM glukózt tartalmazott, ami megfelel az egér fiziológiás plazma glukóz koncentrációjának, *Chan* és *mtsai* (1975). A médium glukoneogenezis szubsztrátjaként tartalmazott 5 mM piruvátot — *Bissel* és *mtsai* (1973), a karbogén (O_2 : CO_2 95% : 5%) telítést követően pH-ját 7,4-re állítottuk. A véralvadás gátlására a perfúziós oldat első két milliliteréhez Na-citrátot adtunk — *Arnaud* és *Boyer* (1976). Miután a májat a vértől mentesítettük, a perfúziót recirkuláris rendszerben folytattuk. A hasüregből kivett szervet üvegből készült perfúziós edénybe helyeztük. A portális kanülön keresztül 0,02% kollagenázzal (Worthington) kiegészített médiummal recirkuláltattuk-a májat. A rendszert 37 °C-on tartottuk, a perfúziós oldatot folyamatosan karbogénnel áramoltattuk át. A májat a mechanikus beavatkozást lehetőleg a minimumra csökkentve 25 perc elteltével sejtjeire ráztuk szét. A sejt-szuszpenziót tíz perces keverés után szűrtük, mostuk.

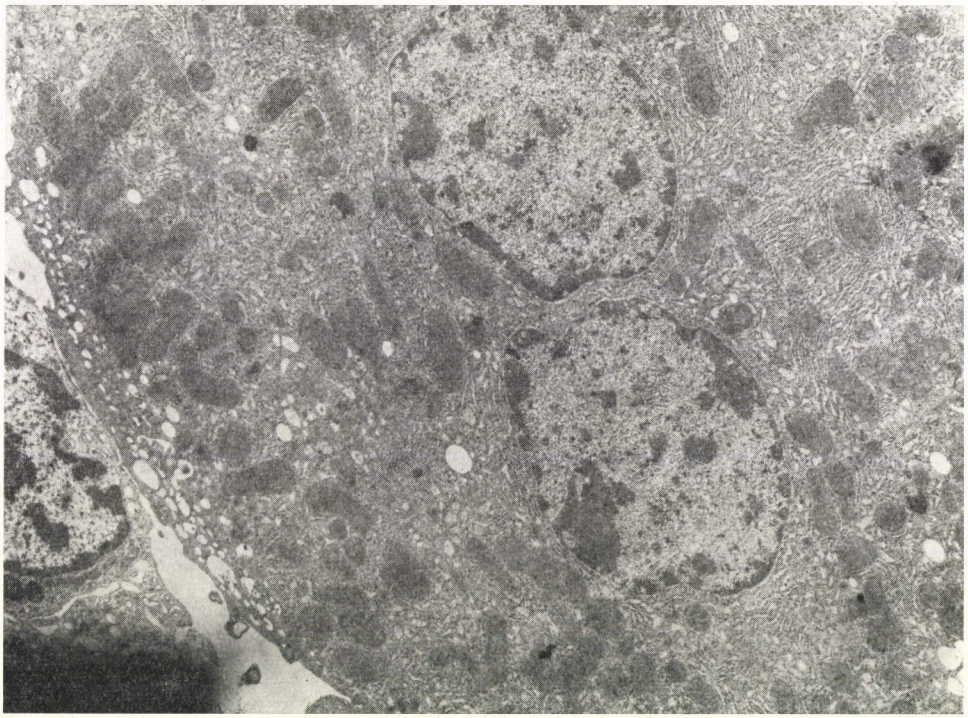
A centrifugálást nem hűtött körülmények között 50×g-vel 2 percig végeztük. Az üvegedényeket szilikonoztuk.

II. A májsejtek inkubálása

Az izolált sejteket Krebs—Henseleit bikarbonát pufferben inkubáltuk, amely 1,5% szérum albumint, 33 mM glukózt, 5 mM piruvátot, a fehérje szintézishez szükséges aminosavakat (1 mM) valin kivételével, 40 μg/ml streptomycint, 20 U/ml penicillint tartalmazott. Bikarbonát puffer használata a sejt inkubáláshoz általánosan ajánlott, *Krebs* (1976b) A sejtek fehérje szintézisének tanulmányozásakor kimérték, hogy más pufferekkel szemben ez az optimális médium, *Weigand* (1976). Vizsgálatainkban 10^6—5×10^6 sejtszám/ml-t használtunk. A sejt szuszpenziót karbogén folyamatos átáramoltatásával kevertük. A szililezett inkubációs edényeket 37 °C-os vízfürdőben tartottuk.

III. Az izolált egér májsejtek életképességének vizsgálata

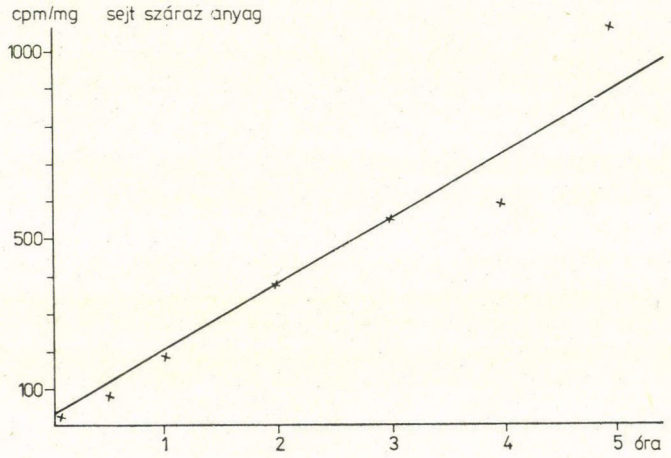
Az izolált sejtek épségét morfológiai és biokémiai módszerekkel vizsgáltuk. Az egér májsejtek elektromikroszkópos felvételei intakt plazma membránt, megtartott durva felszínű endoplazmás retikulumot és normális méretű mitokondriumokat mutattak (1. kép). A trypánkék festék kizárás, mint a leg-



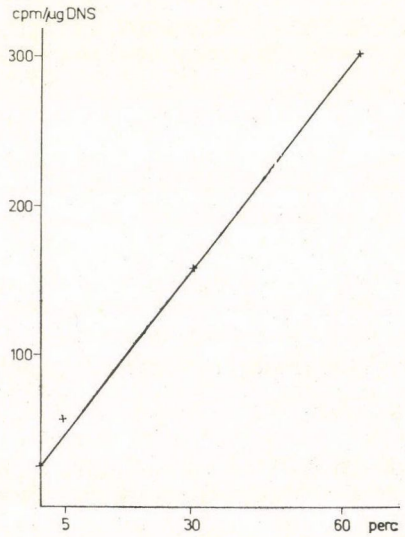
gyorsabban elvégezhető morfológiai és egyben funkcionálisnak is tekinthető vizsgálati eljárás értékét többen vitatják, *David* és *mtsai* (1975). Az izoláláskor használt albumin tartalmú közeg az eredményeket befolyásolhatja, *Berry* (1976b). A standard inkubációs körülmények között a sejtek 80%-a nem vett fel trypankéket.

A biokémiai szempontból is épnek tekintett sejtek anabolikus folyamatokra képesek, amelyek különböző intakt sejtorganellumok koordinált működését feltételezik. Ilyen vizsgálati lehetőség aminosavak és nukleotidok beépülésének mérése a sejtek hideg triklórecetsavval (TCA) kicsapható anyagába. Kísérleteinkben ^{14}C-valin, illetve ^{3}H-uridin beépülését vizsgáltuk az izolált egér májsejtek TCA-ban oldhatatlan frakciójába. A kísérleteket radioaktív izotóp hozzáadásával indítottuk, és jéghideg fiziológiás konyhasó oldattal állítottuk le. A sejt szuszpenziót 50×g-vel 2 percig 4 °C-on centrifugáltuk, majd 5%-os hideg TCA-val kicsaptuk. A csapadékot jéghideg TCA-ban ötször

mostuk, ezt követően 90 °C-on 15 percig inkubáltuk. A ^{3}H-uridin aktivitást a centrifugálás után nyert felülúszóból határoztuk meg. A DNS meghatározást *Burton* (1956) szerint végeztük. A forró savval oldhatatlan csapadékot alkohollal, alkohol: éter (1 : 3) keverékével, majd éterrel mostuk. A mintákat szárítás után gravimetriásan mértük, majd koncentrált hangyasavban oldottuk és ^{14}C-valin radioaktivitást mértünk folyadék szcintillációs spektrométerrel (Packard Tri-carb). Az izolált sejtek a ^{14}C-valint és a ^{3}H-uridint inkorporálták TCA oldhatatlan frakciójukba. Az inkorporáció a vizsgált idő alatt lineáris volt (1. ábra, 2. ábra).

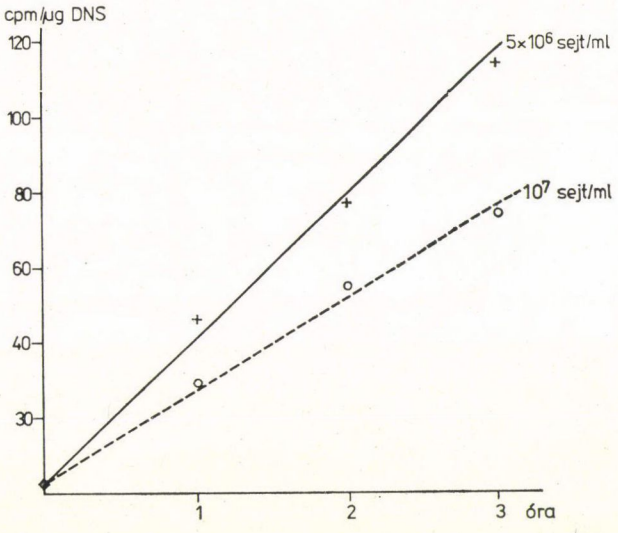


1. ábra. Izolált egér májsejtek ^{14}C valin inkorporációja fehérjébe



2. ábra. Izolált egér májsejtek ^{3}H uridin inkorporációja ribonukleinsavba

Az inkubációs elegy optimális sejtszámának megválasztása igen lényegesnek bizonyult aminosav inkorporációs vizsgálatokban. Optimálisnál magasabb sejtszámnál az inkorporáció alacsonyabb (3. ábra). A jelenség oka abban keresendő, hogy a magas sejtszám, ami egyben azt is jelenti, hogy túl sok a „hideg" aminosav, kihígítja, rontja a jelzett aminosav specifikus radioaktivitását, *Seglen* (1976).



3. ábra. Izolált egér májsejtek fehérjeszintézisének sebessége a sejtszám függvényében

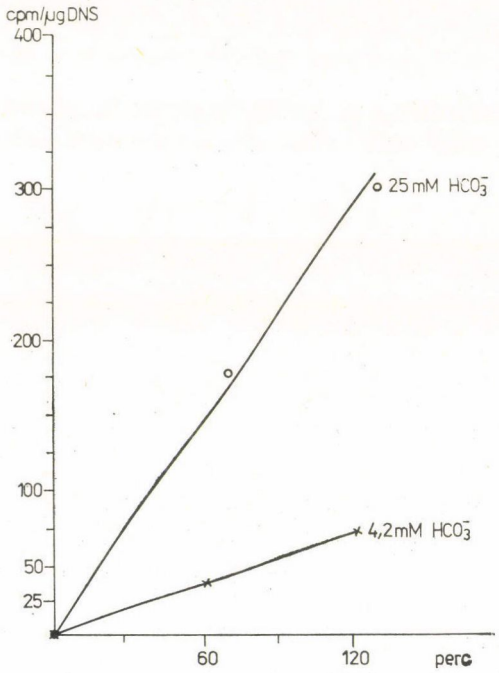
Azokban a kísérletekben, amelyekben a sejtek glikogén tartalmát is meghatároztuk, a sejtszuszpenziót 4 °C-on 50×g-vel centrifugáltuk, majd a kicsapást jéghideg 5%-os TCA és 60%-os ethanol keverékével végeztük. A csapadékot háromszor mostuk 5% TCA, 60% ethanollal.

Ez a módszer alkalmas a sejtek szabad glukóz, illetve glikogén tartalmának elkülönítésére, *Claus* és *mtsai* (1975). A pontos elkülönítés igen lényeges, mert a glikogént hidrolízis után mértük. A célra a csapadék glikogén tartalmát három 5% TCA-s kivonással oldatba vittük és cisztein szulfursavas módszerrel meghatároztuk. A csapadékot 5% TCA-ban 90 °C-on 15 percig inkubáltuk, a centrifugálás után nyert felülúszó dezoxiribóz tartalmát meghatároztuk *(Burton)*. A forró savval oldhatatlan csapadék víztelenítése, illetve a mintákban a radioaktivitás mérése a fentiekkel azonos módon történt.

A kapott eredmények vonatkoztatási alapjának megválasztása még nem egységes a májsejtekkel foglalkozó irodalomban. A nedves súly mint vonatkoztatási alap, az alacsony fordulatszámmal történő centrifugálások miatt nehezen összehasonlítható. A sejtszámot minden esetben meghatároztuk, de a minták DNS, illetve száraz anyag tartalmát pontosabb referenciának tartjuk.

A nemzetközi irodalom mindkét vonatkoztatást használja. Az egyes kísérletek minden esetben egy állatból izolált sejtekkel történtek.

Több irodalmi adat alapján nagyon lényeges, hogy a hidrogénkarbonát ion a médiumban mindig megfelelő koncentrációban legyen jelen a sejtek inkubálásakor, *Krebs* (1976b). A kérdés fontosságát már említettük az inkubációs puffer megválasztásával kapcsolatban. Kísérleteink alapján hidrogénkarbonát ion koncentráció nemcsak a sejtek inkubálásakor, hanem a perfúziós médium esetében is igen jelentős. A perfúziós puffer bikarbonát koncentrációját 4,2 mM-ról 25 mM-ra növeltük. Ennek eredményeképpen az aminosavak inkorporációja adott időegység alatt a többszörösére volt fokozható (4. ábra).

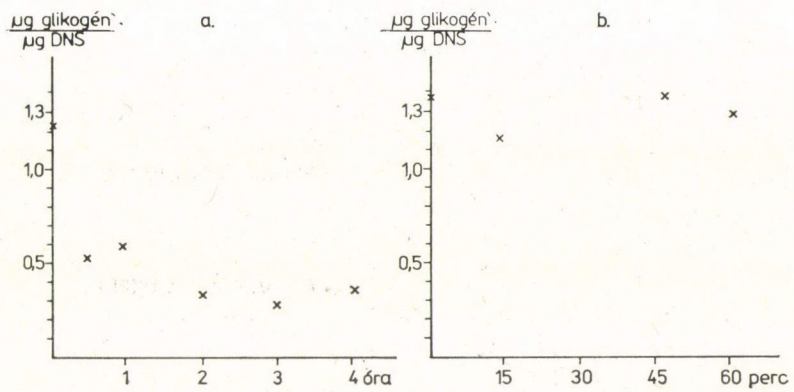


4. ábra. Izolált egér májsejtek fehérjeszintézisének sebessége a perfúziós médium hidrogénkarbonát ion koncentrációjának függvényében

Az inkorporációs mérési eredményeink egyeznek a nemzetközi irodalom hasonló mérési adataival. A Tris, Dulbecco (foszfát), Eagle és más nem bikarbonát, illetve alacsony hidrogénkarbonát ion koncentrációjú pufferekkel izolált, illetve inkubált májsejtek sokkal kisebb mennyiségben inkorporálnak aminosavakat, *Weigand* (1976b). Az eltérő inkorporációs adatokból, a más pufferekkel izolált, illetve inkubált sejtek gyengébb életképességére következtethetünk.

A sejtek állapota jól jellemezhető a sejtek glikogén tartalmával, illetve a glikogén tartalom változásával az inkubáció során. Az izolált májsejtek gli-

kogén anyagcseréjével kapcsolatban számos egymásnak ellentmondó közlemény jelent már meg, *Akpan* és *mtsai* (1974), *Hue* és *mtsai* (1975), *Katz* és *mtsai* (1975), *Seglen* (1973a, 1973b), *Wagle* és *mtsai* (1973, 1975), *Walli* és *mtsa* (1976). Megnehezíti a hepatocyták glikogén anyagcseréjének vizsgálatát, hogy a vizsgált mintákban aránylag kevés a sejt, alacsony a glikogén összemennyisége még normális glikogén tartalom esetén is, és ezért methodikai nehézségekkel jár a glikogén kivonása és mérése. Szuszpenziós rendszerekben a közlemények többségében arról számolnak be, hogy izolálás után csökken a sejtek glikogén tartalma. A glikogén lebontást csak lassítani lehet pl. glukóz adásával vagy más módokon, de megállítani nem sikerült, *Hue* és *mtsai* (1975). Ez a körülmény fokozza izolált hepatocytákban a glikogén anyagcsere vizsgálatának jelentőségét, mert ebben az esetben a sejtek glikogén tartalmának változása „májfunkciós próbának" is tekinthető, hiszen a máj károsodások jelentős részében csökken a máj glikogéntartalma. A perfúziós médium hidrogénkarbonát ion koncentrációját 4,2 mM-ról 25 mM-ra növeltük, akkor magasabb glikogéntartalmú sejteket kaptunk, illetve sikerült elérnünk, hogy a sejtek glikogéntartalma a korábban tapasztalt csökkenéssel ellentétben az inkubáláskor gyakorlatilag nem változott (5. ábra). Az 1,2—1,3 körüli μg

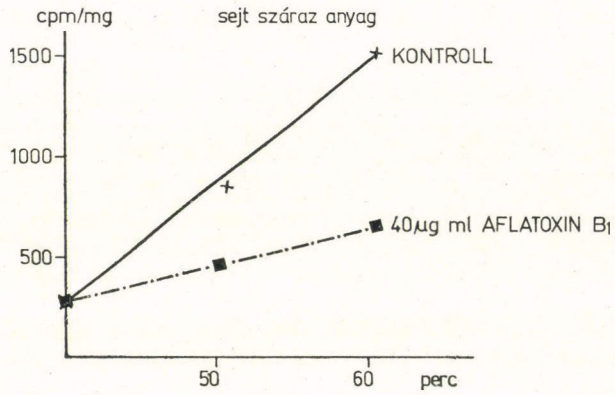


5. ábra. Izolált egér májsejtek glikogén tartalmának változása a perfúziós médium hidrogénkarbonát ion koncentrációjának függvényében a. 4, 2 mM hidrogénkarbonát b. 25 mM hidrogénkarbonát

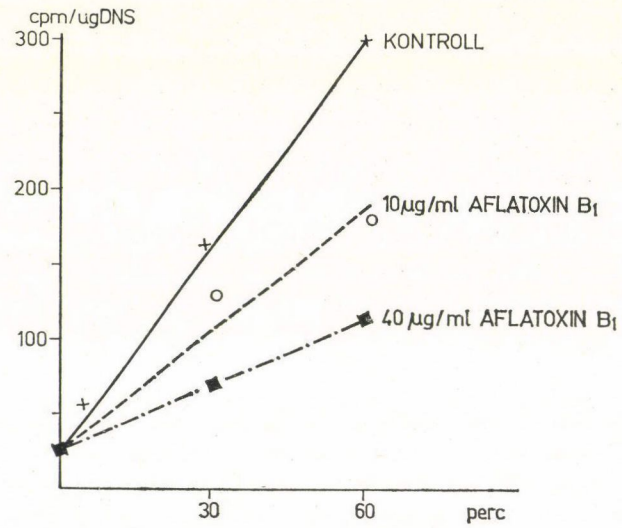
glikogén/μg DNS hányados körülbelül tízszeres mg glikogén/g máj aránynak felel meg. Az egyenletes aminosav és nukleotid inkorporáció, illetve a normális glikogén tartalom alapján a vizsgált sejteket funkcionális szempontból is életképesnek tekinthetjük.

Az izolált májsejtek biokémiai vizsgálatában további tesztnek tekintettük egy ismert és specifikus májkárosító szer, az aflatoxin B_1 (Makor) hatásának vizsgálatát. Vizsgálati rendszerünkben aflatoxin B_1 jelenlétében inkubáltuk az izolált májsejteket. Ilyen körülmények között az izolált sejtek

valin és uridin inkorporációja erősen gátolható volt (6. ábra, 7. ábra). A gátlás mértéke körülbelül 60%-os volt mindkét vizsgált prekurzor esetében. A kísérletek alapján megállapítható, hogy az izolált májsejtek megtartották a májra jellemző, aflatoxin B_1-el szembeni érzékenységüket.



6. ábra. Aflatoxin B_1 hatása izolált egér májsejtek fehérjeszintézisének sebességére



7. ábra. Aflatoxin B_1 hatása izolált egér májsejtek ribonukleinsav szintézisének sebességére

Az izolált májsejt technika jelentőségét a májműködés megismerésében felmérni ma még lehetetlen. Kétségtelen azonban az a tény, hogy az izolált májsejtek a máj mint integrált fiziológiai rendszer legkisebb lehetséges egységeit jelentik, és így a máj funkcióinak, illetve szabályozási folyamatainak alkalmas vizsgálati rendszerei. Az izolált májsejtekkel kapcsolatos kutatást ezért, mint erre többek között maga *Krebs* (1976c) is rámutatott, nem lehet a tudománytörténetben gyakori „divatirányzatok" egyikévé degradálni.

IRODALOM

Akpan, J. O., Gardner, R., Wagle, S. R.: Biochem. Biophys. Res. Commun. **61,** 222, (1974).
Alwen, J., Lawn, A. M.: Exptl. Cell. Res. **89,** 197, (1974).
Anderson, N. G.: Science **117,** 627, (1953).
Anwer, M. S., Kroker, R., Hegner, D.: Biochem. Biophys. Res. Commun **64,** 603, (1975).
Arnaud, J., Boyer, J.: Biochem. Biophys. Acta **424,** 460, (1976).
Baur, H., Held, H. W.: in Use of isolated liver cells and kidney tubules in metabolic studies. Eds. S. M. Tager, H. D. Söling, J. R. Williamson, North-Holland and Elsevier Amsterdam, Oxford New York, (1976), 357 p.
van Berkel, T. J. C., Kruijt, J. K., Koster, J. F., Hülsmann, W. C.: Biochem. Biophys. Res Commun. **72,** 917, (1976).
Berry, M. N., Simpson, F. O.: J. Cell Biol. **15,** 9, (1962).
Berry, M. N., Friend, D. S.: J. Cell Biol. **43,** 506, (1969).
Berry, M. N.: in Use isolated liver cells and kidney tubules in merabolic studies. Eds. S. M. Tager, H. D. Söling, J. R. Williamson, North-Holland and Elsevier Amsterdam, Oxford New York (1976), 131 p.
Berry, M. N.: in Use isolated liver cells and kidney tubules in metabolic studies. Eds. S. M. Tager, H. D. Söling, J. R. Williamson, North Holland and Elsevier Amsterdam, Oxford, New York (1976), 155 p.
van Bezocijen, C. F. A., Grell, T., Knook, D. L.: Biochem. Biophys. Res. Commun. **69,** 354, (1976).
Bissel, D. M., Hammaker, L. E., Meyer, U. A.: J. Cell Biol. **59,** 722, (1973).
Bojar, H., Balzer, K., Balzer, M., Wittliff, J. C. Staid, W., van der Meulen, N., Sekeris, C. E., Hoppe Seylers Physiol. Chem. **355,** (12), 1974.
Bojár, H., Basler, M., Balzer, K., Staib, W.: in Use of isolated liver cells and kidney tubules in metabolic studies. Eds. S. M. Tager, H. D. Söling, J. R. Williamson, North-Holland Elsevier, Amsterdam, Oxford, New York, 443 p. (1976).
Bosch, A., Kneer, N., Lardy, H.: in Use of isolated liver cells and kidney tubules in metabolic studies. Eds. S. M. Tager, H. D. Söling, J. R. Williamson, North-Holland and Elsevier, Amsterdam, Oxford, New York, 285 p. (1976).
Branster, M. V., Morton, R. K.: Nature **180,** 1283, (1975).
Bucher, N. L. R., Scott, J. F., Simpson, E.: Cancer Res. **11,** 240, (1951).
Burton, K.: Biochem J. **62,** 315, (1956).
Capuzzi, D. H., Rothman, V., Margolis, S.: J. Biol. Chem. **249,** 1268, (1974).
Chambers, R.: Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. 9, 144, (1940).
Chan, T. M., Young, K. M., Hutson, N. J., Brumley, F. T.,-Exton, J. H.: Amer. J. Physiol. **229,** 1702 (1975).
Cherrington, A. D., Assimacopoulos, F. D., Harper, S. C., Corbin, J. D., Park, C. R., Exton, J. D.: J. Biol. Chem. **251,** 5209, (1976).
Clark, D. G., Rongstad, R., Katz, J.: J. Biol. Chem. 249, 2028, (1974).
Clark, M. G., Filsell, O. H., Jarett, I. G.: Biochem. J. **156,** 671, (1976).
Claus, T. H., Pilkis, S. J., Park, C. R.: Biochem. Biophys. Acta **404,** 110, (1975).
Crane, L. J., Miller, D. L.: Biochem. Biophys. Res. Commun. **60,** 1269, (1974).
Crisp, D. M., Pogson, C. I.: Biochem J. 126, 1009, (1972).
David, G. B., Gailbraith, W., Geyer S. B., Koether A., Palmer N. F., Pixler J.: Progress in histochem and cytochem vol. 7/1 (1975).
Edwards, P. A.: Arch. Biochem. Biophys. **170,** 180, (1975).
Elliot, K. R. F., Ash. R., Pogson, C. I., Smith, S. A., Crisp, D. M.: in Use of isolated liver cells and kidney tubules in metabolic studies. Eds.
S. M. Tager, H. D. Söling, J. R. Williamson, North-Holland and Elsevier, Amsterdam, Oxford, New York, (1976), 139. p.
Feliu, J. E., Hue, L., Hers, H. G.: Proc. Nat. Acad. Sci. USA, **73,** 2762, (1976).
Friedman, T., Epstein, C. J.: Biochem. Biophys. Acta **138,** 622, (1967).
Fry, J. R., Jones, C. A., Wiebkin, P., Bellemann, P, Bridges, J. W.: Anal. Biochem. **71,** 341, (1976)
Hems, R., Ross, B. D., Berry, M. N., Krebs, H. A.: Biochem. J. **101,** 284, (1966).
Hensgens, H. E. S. J., Hensgens, L. A. M., Meijer, A. J.: in Use of isolated cells and kidney tubules in metabolic studies. Eds. S. M. Tager, H. D. Söling, J. R. Williamson, North-Holland and Elsevier, Amsterdam, Oxford, New York, (1976), 331. p.
Howard, R., Pesch, L. A.: J. Biol. Chem. **243,** 3105, (1968).
Hue, L., Bontemps, F., Hers, H. G.: Biochem J. 152, 105, (1975).
Hutson, N. J., Brumley, F. T., Assimacopoulos, F. D., Harper, S. C., Exton, J. H.: J. Biol. Chem. **251,** 5200, (1976).

Jeejeebhoy, K. N., Ho J., Breckenridge, C., Bruce-Robertson, A., Steiner, G., Jeejeebhoy, J.: Biochem. Biophys. Res. Commun. **66,** 1147, (1975).
Jeejeebhoy, K. N., Ho J., Greenber, G. R. Philips, Bruce-Robertson, A., Sodke, U.: Biochem, J. **146,** 141, (1975).
Johnson, M. E. M., Das N. M., Butcher, F. R., Fain, J. N.: J. Biol. Chem. **247,** 3239, (1972).
Junge, U., Nagamori, S., Brunner, G., Söling, H. D.: in Use of isolated liver cells and kidney tubules in metabolic studies. Eds. S. M. Tager, H. D. Söling, J. R. Williamson, North Holland and Elsevier, Amsterdam. Oxford, New York, (1976) 201 p.
Jungermann, K., Katz N., Sasse, D.: in Use of isolated liver cells and kidney tubules in metabolic studies. Eds. S. M. Tager, H. D. Söling, J. R. Williamson, North-Holland and Elsevier, Amsterdam, Oxford, New York, (1976), 404 p.
Katz, J., Wals, P. A., Golden, S, Rongstad, R.: Eur. J. Biochem. **60,** 91, (1975).
Kleineke, J., Söling, H. D.: in Use of isolated liver cells and kidney tubules in metabolic studies. Eds. S. M. Tager, H. D. Söling, J. R. Williamson, Oxford, New York, (1976), 365. p.
Krebs, H. A.: in Use of isolated liver cells and kidney tubules in metabolic studies. Eds. S. M. Tager, H. D. Söling, J. R. Williamson, North-Holland and Elsevier, Amsterdam, Oxford, New York (1976), 144. p.
Krebs, H. A.: in Use of isolated liver cells and kidney tubules in metabolic studies. Eds. S. M. Tager, H. D. Söling, J. R. Williamson, North-Holland and Elsevier, Amsterdam, Oxford, New York, (1976), 261. p.
Krebs, H. A.: in Use of isolated liver cells and kidney tubules in metabolic studies. Eds. S. M. Tager, H. D. Söling, J. R. Williamson, North-Holland and Elsevier, Amsterdam, Oxford, New York, (1976) 465. p.
Layeek, F. H., Bhargava, P. M.: Arch. Biochem. Biophys. **161,** 153. (1974).
Le Cam, A., Freychet, P.: Biochem. Biophys Res. Commun. **72,** 893, (1976).
Le Cam, A., Guillouzo, A., *Freychet, P.:* Exptl. Cell Res. **98,** 382, (1976).
Mandl, I., Mac Lennan, J. D., Howes, E. L.: J. Clin, Invest. **32,** 1323, (1953).
Michalopoulos, G., Pitot, H. C.: Exptl. Cell. Res. **94,** 70, (1975).
Müller, M., Schreiber, M., Kartenbeck, J., Schreiber, G.: Cancer Res. **32,** 2568 (1972).
Müller, P., Singh, A., Orci, L., Jeanrenaud, B.: Biochem. Biophys. Acta **428,** 480 (1975).
Nilsson, A., Akesson, B.: FEBS Letters. **51,** 219, (1975).
Paál, M., Bajtai, G., Ambrus, M., Horváth, Gy., Kovács, M., Barna, K.: Orv. Hetilap **117,** 3088 (1976).
Pilkis, S., Claus, T. H., Johnson, R. A., Park, C. R.: J. Biol. Chem. **250,** 6328 (1975).
Rodbell, M.: J. Biol. Chem. **239,** 375 (1964).
Schneider, W. C., Potter, V. R.: J. Biol. Chem. **149,** 217, (1943).
Schwenk, M., Burr, R., Schwarz, R., Pfaff, E.: Eur J. Biochem **64,** 189, (1976).
Seglen, P. O.: Exptl. Cell Res. **74,** 450, (1972).
Seglen, P. O.: FEBS Letters **30,** 25, (1973).
Seglen, P. O.: FEBS Letters **36,** 309, (1973).
Seglen, P. O.: Biochem. Biophys, Res. Commun. **66,** 44, (1975).
Seglen, P. O.: Biochem. Biophys. Acta **442,** 391, (1976).
Selmer, J., Grunnet, N.: Biochem. Biophys. Acta 428, 123, (1976).
Sies, H., Summer, K. H., Haussinger, D., Bücher, T.: in Use isolated liver cells and kidney tubules in metabolic studies. Eds. S. M. Tager, H. D. Söling, J. R. Williamson, North-Holland and Elsevier, Amsterdam, Oxford, New York (1976) 311. p.
Siess, E. A., Wieland, O. H.: in Use of isolated liver cells and kidney tubules in metabolic studies. Eds. S. M. Tager. H. D. Söling J. R. Williams, North-Holland and Elsevier, Amsterdam, Oxford, New York, (1976) 229. p.
Wagle, S. R., Ingebretsen, W. R., Sampson, L.: Biochem. Biophys. Res. Commun. **53,** 937, (1973).
Wagle, S. R., Sampson, L.: Biochem. Biophys. Res. Commun. **64,** 72 (1975).
Walli, A. K., Schimassek, H.: in Use of isolated liver cells and kidney tubules in metabolic studies. Eds. S. M. Tager, H. D. Söling, J. R. Williamson, North-Holland and Elsevier, Amsterdam, Oxford, New York (1976) 426. p.
Wanson, J. C.: in Use of isolated liver cells and kidney tubules in metabolic studies. Eds. S. M. Tager, H. D. Söling, J. R. Williamson, North-Holland- and Elsevier, Amsterdam, Oxford, New York (1976) 185. p.
Waymouth, C.: In Vitro **10,** 2, (1974).
Weigand K., Otto I.: FEBS Letters **46,** 127, (1974).
Weigand, K.: in Use of isolated liver cells and kidney tubules in metabolic studies. Eds. S. M. Tager, H. D. Söling, J. R. Williamson, North-Holland and Elsevier, Amsterdam, Oxford, New York (1976). 207. p.

Weigand, K.: in Use of isolated liver cells and kidney tubules in metabolic studies. Eds. S. M. Tager, H. D. Söling, J. R. Williamson, North-Holland and Elsevier, Amsterdam, Oxford, New York (1976), 259. p.
Williamson, J. R., Gimpel, J. A., Meijer, A., DeLeeuw, G., Refino, C.: in Use of isolated liver cells and kidney tubules in metabolic studies. Eds. S. M. Tager, H. D. Söling, J. R. Williamson, North-Holland and Elsevier, Amsterdam, Oxford, New York (1976) 339. p.
Zahlten, R. N., Stratman, F. W., Lardy, H. A.: Proc. Nat. Acad. Sci. USA **70,** 3213. (1973).

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A szerzők köszönetüket fejezik ki Prof. Dr. *Lapis Károly*nak és Dr. *Tompa Annának* az elektronmikroszkópos felvételek elkészítéséért, továbbá a CHINOIN Gyógyszer- és Vegyészeti Termékek Gyárának a munkához nyújtott támogatásért.

Semmelweis Orvostudományi Egyetem Gyógyszertani Intézet,
Budapest

A p-BRÓM-METILAMFETAMIN (V-111) SORSA A SZERVEZETBEN

MAGYAR KÁLMÁN az orvostudományok kandidátusa, TEKES KORNÉLIA, ZÓLYOMI GÁBOR, SZÜTS TAMÁS és KNOLL JÓZSEF az MTA levelező tagja

Közlésre érkezett: 1977. II. 10.

Egy évtizeddel ezelőtt széles körű kutatás indult el intézetünkben azzal a céllal, hogy az amfetamin, illetve a metilamfetamin kémiai szerkezetének változtatásával a központi idegrendszert szelektívebben befolyásoló amfetamin származékokhoz jussunk. Ennek a kutatásnak az eredményeként született a fenil-izopropil-metil-propinilamin, Deprenyl, mely a monoaminooxidáz „B" formájának szelektív bénítója (*Knoll* és *mtsai* 1964, 1965a; *Knoll* és *Magyar* 1972a, b; *Knoll* 1976; *Magyar* és *Knoll* 1970), valamint a p-Br-metilamfetamin is (V-111), mely főleg a központi idegrendszer szerotonin (5-HT) regulációjára fejti ki hatását. A V-111 farmakológiai és biokémiai hatásaival számos korábbi dolgozatunk foglalkozik (*Knoll* és *mtsai* 1965b, 1966, 1967; *Knoll* 1970; *Knoll* és *Vizi* 1970a, b; *Knoll* és *Magyar* 1971; *Knoll* és *mtsai* 1970, 1972a, 1973; *Magyar* és *mtsai* 1971, 1972, 1976a; *Magyar* 1972; *Magyar* és *Knoll* 1973, 1975a, b, c, d). Ezekben a dolgozatokban leírtuk, hogy a vegyület különösen erősen és tartósan gátolja a ^{3}H-5-HT agyi szinaptoszomális felvételét, valamint csökkenti a központi idegrendszer 5-HT koncentrációját. A vegyület hatástartama patkánykísérletekben messze meghaladja az amfetaminét és a metilamfetaminét, ezért célszerűnek látszott megvizsgálni, hogy a tartós hatás — mely különösen kifejezett volt a fenti biokémiai paraméterek vonatkozásában — mennyiben hozható összefüggésbe a vegyület szervezetbeni sorsával.

Jelen dolgozatunkban az erre irányuló kísérleteink eredményeit foglaljuk össze. A V-111 szervezeten belüli sorsát néhány vonatkozásban összehasonlítottuk a metilamfetaminéval. A vizsgálatokhoz a vegyületek radioaktív módosulatait használtuk.

Anyagok és módszerek

Jelzett vegyületek: 1-(4-brómfenil)-2-metilaminopropán · HCl-(1-^{14}C), specifikus aktivitás: 3,82 mCi/mmól (V-111-1-^{14}C); 1-(4-brómfenil)-2-metilaminopropán · HCl-(3-^{14}C), specifikus aktivitás: 3,67 mCi/mmól, (V-111-3-^{14}C); (+)-1-(4-brómfenil)-2-metilaminopropán · HCl-(metil-^{14}C), specifikus aktivitás:

0,704 mCi/mmól, ((+)-V-111-metil-^{14}C); (—)-1-(4-brómfenil)-2-metilaminopropán·HCl-(metil-^{3}H), specifikus aktivitás: 401,0 mCi/mmól, ((—)-V-111-metil-^{3}H); (±)-1-(4-brómfenil)-2-metilaminopropán·HCl-(metil-^{3}H), specifikus aktivitás: 282,0 mCi/mmól, ((±)-V-111-metil-^{3}H); 1-fenil-2-metilaminopropán·HCl-(3-^{14}C), specifikus aktivitás: 1,56 mCi/mmól, (MA-^{14}C); 1-(2-brómfenil)-2-metilaminopropán·HCl-(2-^{3}H), specifikus aktivitás: 636,0 mCi/mmól, (V-104-^{3}H); 1-fenil-2-metilaminopropán·HCl-(2-^{3}H), specifikus aktivitás: 690,0 mCi/mmól, (MA-^{3}H); 1-(4-brómfenil)-2-aminopropán.HCl-(1-^{14}C), specifikus aktivitás: 3,82 mCi/mmól (nor-V-111-1-^{14}C); 4-brómbenzoesav-(7-^{14}C), specifikus aktivitás: 9,84 mCi/mmól; 4-brómhippursav-(7-^{14}C), specifikus aktivitás: 9,84 mCi/mmól; 4-brómfenilecetsav-(1-^{14}C), specifikus aktivitás: 3,62 mCi/mmól.

A jelzett vegyületeket a Gyógyszerkutató Intézet Radiokémiai Laboratóriumában Dr. Bánfi Dezső munkacsoportja szintetizálta.

Kísérleti állatok

Kísérleteinkben általában CFLP specifikációjú hím egereket (20 ±1g.) és CFY hím patkányokat (100 ±5g.) használtunk (LATI).

Egésztest autoradiográfia

A kísérleteinket Ullberg módszerével végeztük (1954). A vizsgálatokhoz hím (20 g) és terhes (35—40 g) egeret használtunk. A terhes állatok 4 nappal voltak a szülés előtt. Az egereknek 5 μCi/20 g V-111-3-^{14}C-et adtunk intravénásan (18,1 mg/kg), 25 μCi/ml-es oldatból. A vegyület beadása után különböző idő elteltével (30 másodperctől 24 óráig) az egereket enyhe éternarkózisban vizes karboximetilcellulózba (CMC) ágyaztuk be, majd a beágyazott állatot szárazjéggel telített hexánba mártottuk (—75 °C). Ezután a megfagyott blokkot —15 °C-on tároltuk néhány napig és ugyancsak ezen a hőmérsékleten végeztük el a metszést. Az egerekből sagittalis irányban, Leitz 1300 típusú microtommal 20 μ-os metszeteket készítettünk úgy, hogy azok egy speciális ragasztószalagon rögzüljenek (Minnesota Mining and Manufacturing Co. No. 810). A metszeteket —15 °C-on szárítottuk néhány napig, majd a szárítás után fokozatosan szobahőmérsékletre melegítve tároltuk azokat. Az expozícióhoz, melyet —15 °C-on végeztünk, röntgenfilmet (Geavert) használtunk. A megfelelő expozíciós idő (néhány naptól néhány hét) elteltével a filmeket előhívtuk.

Egy esetben 500 μCi V-104-^{3}H-at adtunk terhes egérnek intravénáson 0,2 ml térfogatban. A V-104-^{3}H-t inaktív vegyülettel hígítottuk úgy, hogy az egér

10 mg/kg V-104-et kapjon. Egyebekben csak az expozícióhoz használt film volt eltérő a ^{14}C esetében alkalmazott eljárástól. ^{3}H-jelzett vegyület autoradiográfiájához Ilford nuclear G—5 típusú lemezeket használtunk. Ebben az esetben az expozíciós idő fél év volt.

A relatív megoszlási hányados meghatározása

A vizsgálandó anyagokat (MA-^{14}C, V-111-3-^{14}C, V-104-^{3}H) 20 ml-es üvegdugós csőbe helyeztük, mely 5 ml petrolétert (BDH, forrpontja 60—80 °C) és 5 ml 0,1 M-os foszfát puffert (pH 7,2) tartalmazott. A vizsgált anyagok koncentrációja kiinduláskor 0,5 mg/ml volt a pufferre vonatkoztatva, amely csövenként 5 μCi radioaktivitást tartalmazott. A specifikus aktivitást hideg anyag hozzáadásával biztosítottuk. 20 perces rázás után (22 °C) a vizes és a szerves fázisból mintákat vettünk és a radioaktivitást Bray-oldatban folyadék-szcintillációs módszerrel határoztuk meg (Intertechnique S. L. 40). A petroléterben mért abszolút aktivitást a pufferben mértéhez hasonlítottuk. Kiszámítottuk a vegyületek metilamfetaminhoz viszonyított relatív megoszási hányadosát is.

A radioaktivitás mennyiségi meghatározása a szövetekben

20 grammos hím egereknek a radioaktív anyagot intravénásan, subcutan, illetve per os adtuk be. A kezelés után különböző idő elteltével az állatok fejét és mellkasát 10—20 másodpercre —75 °C-os szárazjéggel telített hexánba mártottuk és a shock-halál állapotában szívpunkcióval vettünk vért. Ezután az egereket dekapitáltuk és a kiválasztott szövetekből mintákat vettünk. A pontosan mért vérmintákat (25 mg), az egyik agy-féltekét, ill. 20—25mg barna-zsírszövetet folyadék-szcintillációs edényekbe helyeztük, 0,5 ml Soluene TM 100 (Packard) szövetoldószerrel 12 órán át szobahőn feloldottuk és a radioaktivitást folyadék-szcintillációs módszerrel határoztuk meg. A méréshez edényenként 10 ml toluolt használtunk, mely 0,5% PPO-t és 0,01% POPOP-ot tartalmazott. A szcintillációs oldattal feltöltött mintákat legalább 24 órás várakozás után mértük, hogy kiküszöböljük a Soluene alkalmazása miatt keletkező foszforeszcenciát. A relatív aktivitást (cpm) abszolút aktivitásra (dpm) külső standard segítségével korrigáltuk. A szervek radioaktív koncentrációját (100 mg szövetre vonatkoztatva dpm-ben) 5 kísérletből mért értékek átlagában $\pm$S. E. M. adtuk meg.

Kísérleteink egy részében két különböző jelzést (^{3}H, illetve ^{14}C) tartalmazó vegyület keverékével kezeltük az állatokat és a szövetekben mindkét izotóp-koncentrációt szeparáltan mértük. Az Intertechnique SL 40 készülék

kellő programozás után dpm-re korrigálja a különböző mérési feltételek mellett (quench) mért cpm értékeket. Ennek megfelelően számításba veszi a ^{3}H csatornába változó mértékben átszóródó ^{14}C aktivitást is. A kísérlet menete egyebekben azonos az egy izotóp alkalmazásánál használt eljárással.

Az amfetamin származékok szubcelluláris eloszlása

100 g-os hím patkányokat 20 μCi V-111-1-^{14}C-vel (19,8 mg/kg), illetve 20 μCi MA-^{14}C-vel (23,7 mg/kg) vagy 30 μCi V-104-^{3}H-val (20 mg/kg, inaktív vegyülettel hígítva) kezeltünk intravénásan. A kezelés után 30 perc múlva a patkányokat dekapitáltuk, kivettük az állatok agyát és Potter-rendszerű üveghomogenizátorral 0,25 M-os szacharózzal 10%-os agyhomogenizátumot készítettünk. A homogenizátumból a szubcelluláris frakciókat differenciál centrifugálással preparáltuk. A szubfrakciókból vett 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 $\pm$S. E. M.

Kiürülési vizsgálatok

100 g-os patkányokat intravénásan kezeltünk radioaktív jelzett vegyületekkel. Az állatok V-111-1-^{14}C-ből, V-111-3-^{14}C-ből, illetve MA-^{14}C-ből 10 μCi-t kaptak (9,9, 7,23, ill. 11,8 mg/kg). Az állatokat 72 órán keresztül Simax anyagcsere edényben tartottuk és külön gyűjtöttük az állatok székletét és vizeletét. A kiürült radioaktivitást folyadék-szcintillációs módszerrel határoztuk meg. A kumulatív ürülés mértékét a beadott dózis %-ában adtuk meg.

A kísérletek egy részében a V-111 előkezelés hatását vizsgáltuk a vegyület vizeletürítésére. A patkányokat (100 g, hím) naponta kezeltük 15 mg/kg (s. c.) inaktív V-111-el, majd a kezelés végén az állatok 10 μCi, (9,9 mg/kg) V-111-1-^{14}C-et kaptak intravénásan és ezt követően 48 órán át Simax metabolikus edényben gyűjtöttük a vizeletet és az előző módon határoztuk meg az ürülő radioaktivitás mennyiségét.

A vizeletben ürített V-111 metabolitok kromatográfiás vizsgálata

Jelzett V-111-el kezelt (V-111-1-^{14}C vagy V-111-3-^{14}C) hím patkányok (100 g) 24 órás vizeletének felét pH 10-nél majd pH 1-nél, éterrel extraháltuk. A bázikus pH-nál nyert extraktum tartalmazta a *bázikus* és *semleges* karakterű anyagokat (A-extraktum), míg a savas pH-nál kapott, a *savas* jellegű metaboli-

tokat *(B-extraktum)*. Az éteres oldatokat vákuumban bepároltuk, és a maradékból metanolos törzsoldatokat készítettünk. A vizelet másik felének feldolgozása annyiban különbözött, hogy extrakció előtt 1 órán át 100 °C-on 5 N sósavval hidrolizáltuk.

A kromatogramokat Kieselgel $PF_{254+366}$ rétegen készítettük, kivéve ha a réteg lekaparásával kvantitatív méréseket végeztünk. Ilyenkor Kieselgel-G réteget használtunk. A kromatogramokról gondos szárítás után Forte röntgenfilmmel 60—120 órás expozíciós idő mellett kontakt autoradiogramot készítettünk.

Az alábbi oldószereket használtuk a futtatáshoz:

I. Butanol—víz—ecetsav (4 : 1 : 1).

II. Butilacetát—butanol—cc. NH_4OH (20 : 10 : 1).

III. Ciklohexán—dioxán—ecetsav (35 : 35 : 1).

A fenti futtató rendszerekkel egy- és kétdimenziós kromatogramokat készítettünk.

Kísérleteink egy részében a 0—12, 12—24 és 24—48 órás patkányvizelet vékonyréteg kromatogramjáról (Kieselgel-G) lekapartuk a V-111-1-^{14}C-nek és a demetilált metabolitnak (nor-V-111-1-^{14}C) megfelelő foltokat és folyadékszcintillációs módszerrel meghatároztuk azok aktivitását.

A metabolitok gázkromatográfiás-tömegspektrometriás (GC/MS) vizsgálata

15 mg/kg V-111-el kezelt patkányok 0—24 óráig gyűjtött vizeletét Amicon UM—2 membránon szűrtük. A membrán csak az 1000-nél kisebb mólsúlyú vegyületeket engedi át. Az ultraszűrletet lúgos (pH 9), majd savanyú (pH 1) kémhatás mellett éterrel extraháltuk és a két szerves fázist egyesítés után bepároltuk. A maradékot metanolban feloldottuk és 1 μl mennyiségeket vittünk be a GC/MS készülékbe (Jeol, JMS—D 100 + JGC 20 K). A gázkromatográfiás elválasztást total ion monitor (TIM) segítségével detektáltuk és a szeparálódott anyagokat reprezentáló csúcsokról tömegspektrumot vettünk fel. A tömegspektrumok alapján a brómot tartalmazó csúcsokról pontos tömegmérést is végeztünk számítógép segítségével.

Az N-demetiláció vizsgálata in vitro és in vivo kísérletekben

A V-111 N-demetilációját a vegyület N-metil jelzett módosulatának felhasználásával vizsgáltuk. A májmikroszómát Sutherland és mtsai módszerével preparáltuk (1949). A májat háromszoros térfogatú 0,15 M-os KCl oldatban homogenizáltuk, mely 0,02 M Tris puffert (pH 7,4) tartalmazott. A homogenizátumot 15 percig 9000 g-vel, majd a felülúszót 60 percig 100 000 g-vel centrifugáltuk. 10 g májszövetből preparált mikroszomális üledéket 5 ml homogenizáló oldatban vettünk fel.

A demetilációhoz használt inkubációs oldat (0,15 M KCl és 0,02 M Tris puffer, pH 7,4) 3,0 ml térfogatban 5 mM glukóz-6-foszfátot, 5 mM $MgCl_2$-ot, 0,33 mM NADP-t és 0,7 Kornberg-egység élesztőből preparált glukóz-6-foszfát-dehidrogenázt (BDH) tartalmazott. A szubsztrátkoncentráció $1-8\times10^{-4}$ M, a mikroszóma mennyisége 1 mg fehérje/ml volt. A reakciót 5 perces előinkubálás (37,5 °C) után a szubsztrát hozzáadásával indítottuk. 10 perces inkubáció után 1,0 ml 5%-os $ZnSO_4$ hozzáadásával állítottuk le a reakciót. A denaturált fehérjét 1500 g-vel 10 percig ülepítettük és a felülúszót használtuk a meghatározásokhoz.

Kísérleteinkben az N-demetiláció során keletkező aktív formaldehidet Amberlite XAD—2 gyantával (60—80 mesh) választottuk el a demetilálatlan V-111-től Thompson és Holtzman módszerével (1973).

A gyantát az ágy-térfogatnak megfelelő metanolban kétszer 2 órán át duzzasztottuk, majd háromszor mostuk a metanollal azonos mennyiségű desztillált vízzel és belőle 1×8 cm-es oszlopot készítettünk. A minta felvitele előtt 50 ml desztillált vízzel mostuk az oszlopot.

1,0 ml fehérjementesített reakcióelegy felvitele után 50 ml desztillált vízzel eluáltunk. Az aktív HCHO-t az eluátum 5—8 ml-e tartalmazta. Ennek mennyiségét folyadék-szcintillációs módszerrel (10 ml Bray-oldatban 0,5 ml vizes minta) határoztuk meg. A demetiláció mértékét — legkevesebb 5 kísérletből — a képzett formaldehid mennyiségével mμmól/g fehérje/perc $\pm$ S. E. M. jellemeztük. Az oszlop 50 ml desztillált vizes mosás után újabb minta elválasztására alkalmas és a mérés egy oszlopon legkevesebb 10—15-ször ismételhető a háttéraktivitás emelkedése nélkül. Ezután a teljes regenerálást 50 ml metanollal és 100 ml desztillált vízzel végeztük.

Az oszlopon inaktív formaldehiddel kontrolláltuk a visszanyerést. A formaldehidet Nash szerint (1953) fotometriás módszerrel, 412 nm-nél határoztuk meg. A formaldehid a 4. ml-ben jelenik meg és 10 ml-ig 99,5 $\pm$ 1%-os volt a visszanyerése. Az elúcióhoz használt 50 ml desztillált vízzel történő mosás során a V-111 összesen 3,6 $\pm$ 0,42%-át kaptuk vissza ebben a térfogatban. Az oszlop többszöri használatát nagy kapacitása teszi lehetővé, teljes regenerálását azonban csak a metanolos és vizes kezelés biztosítja.

Kísérleteink egy részében humán (férfi) májból készített mikroszóma preparátum N-demetilációs aktivitását vizsgáltuk meg (+)-V-111-metil-^{14}C szubsztrát használata mellett.

Az eredmények és azok megbeszélése

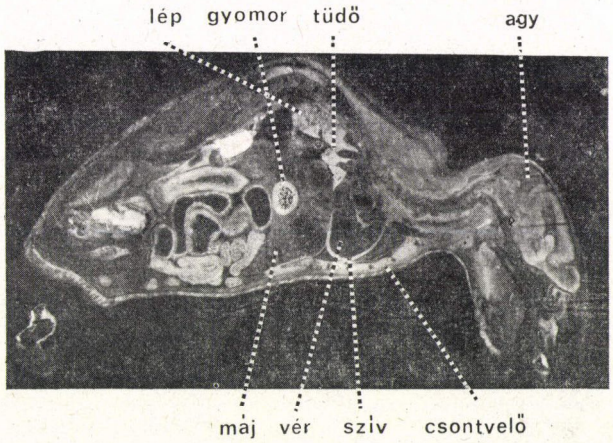
A V-111-3-^{14}C kvalitatív szöveti eloszlását és annak időbeni változásait egérkísérletekben, a vegyület i. v. beadása után az egésztest autoradiogramok szemléltetik (1—6. ábra). Az erősen lipoidoldékony vegyület (I. táblázat)

I. táblázat

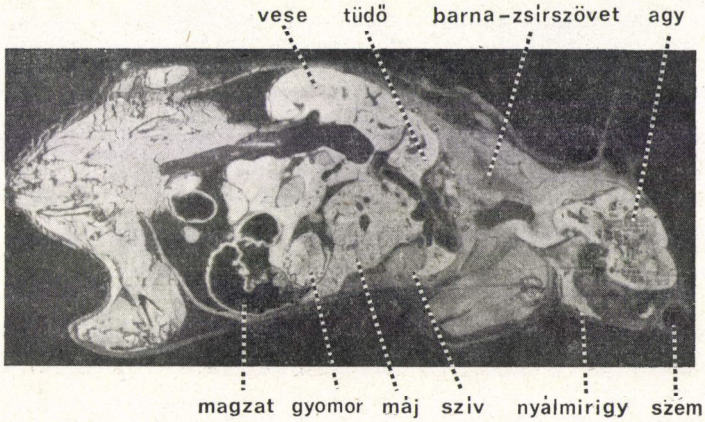
Amfetamin származékok relatív megoszlási hányadosai

Vegyületek	Megoszlási hányados koncentráció petroléterben / koncentráció pufferben	Relatív oldékonyság petroléterben
MA-^{14}C	0,0703 ± 0.002	1,0
V-104-^{3}H	0.3558 ± 0,027	5,09
V-111-1^{14}C	0,5628 ± 0,003	8,03

Petroléter: BDH, forrpont 60—80 °C.
Foszfát puffer: 0,1 M, pH 7,2.
Hőmérséklet: 22 °C.
Kísérlet átlaga: ± S.E.M.



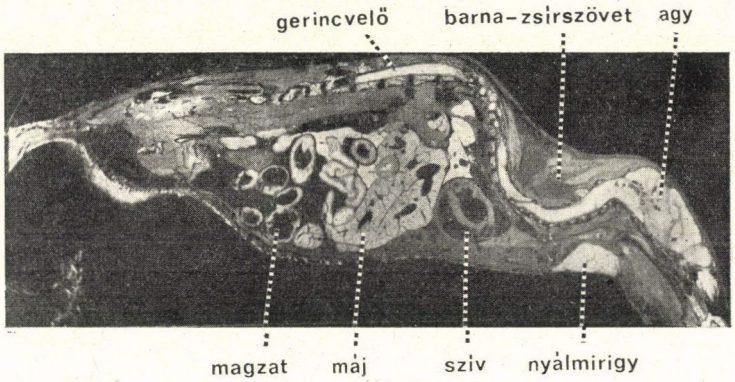
1. ábra. Hím egér egésztest autoradiogramja 0.5 perccel a V-111-3-^{14}C i.v. beadása után. (5 μCi/állat (20 g); 18,1 mg/kg; 0,2 ml térfogatban)



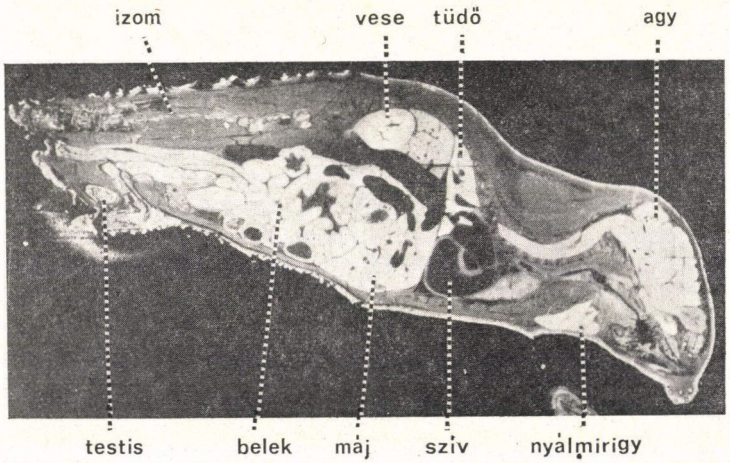
2. ábra. Terhes egér egésztest autoradiogramja 5 perccel a V-111-3-^{14}C i.v. beadása után (10 μCi/állat (40 g); 18,1 mg/kg; 0,4 ml térfogatban)

gyorsan eloszlik a szövetekben. Már 30 másodperc múlva magas koncentrációt ér el a központi idegrendszerben (1. ábra), ahol koncentrációja az 5. percre tovább nő (2. ábra), és tartósan magas szinten marad. Még a 4 órás autoradiogramon is mennyisége az agyszövetben a máj, illetve a vese aktivitási szintjéhez hasonló (5. ábra). 24 óra múlva a vegyület jelentős része kiürül a szervezetből, de még ilyenkor is számottevő aktivitás látható az egér központi idegrendszerében (6. ábra).

A V-111 koncentrációja a barna-zsírszövetben is, mint a központi idegrendszerben gyorsan emelkedik (30. másodperc). Ez a párhuzamosság a két szerv között, a lipoid-oldékony vegyületek eloszlása során gyakran észlelt jelenség. Míg azonban az agyi koncentráció az 5. percre tovább nő és tartós marad, a barna-zsírszöveté ekkorra jelentősen csökken (2. ábra) és a 20—60. percben az utóbbiban már csupán háttéraktivitás látható (3., 4. ábra). A két



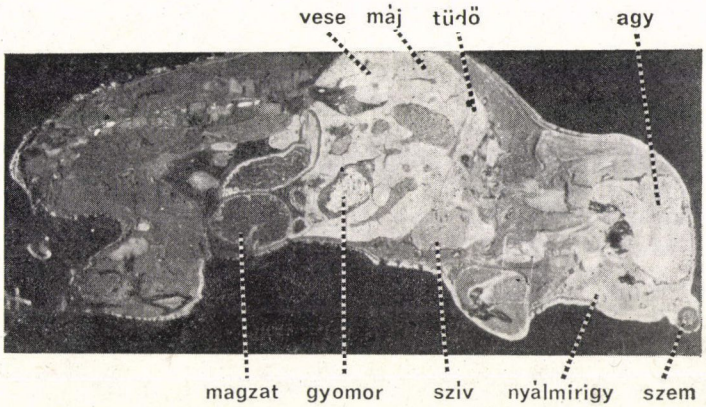
3. ábra. Terhes egér egésztest autoradiogramja 20 perccel a V-111-3-^{14}C i.v. beadása után Kísérleti körülmények a 2. ábránál



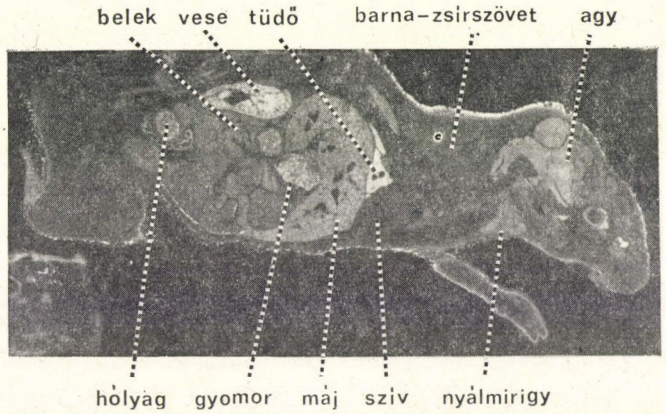
4. ábra. Hím egér egésztest autoradiogramja 1 órával a V-111-3-^{14}C i.v. beadása után. Kísérleti körülmények az 1. ábránál

szerv szöveti szintjének változásában észlelt eltérés a V-111-nek vagy metabolitjának erős központi idegrendszeri kötődésére utal.

Az aktivitási szintek gyors emelkedését mutatja a tüdő is, ahol még a 24 órás autoradiogramon is a többi szervhez viszonyítva szinte legmagasabb a radioaktivitás szintje. A máj szöveti koncentrációja lassabban emelkedik és csak az 5. percben éri el a legmagasabb szintjét (2. ábra). Ezt követően a máj aktivitásának lassú csökkenése követhető az autoradiogramokon.



5. ábra. Terhes egér egésztest autoradiogramja 4 órával a V-111-3-^{14}C i.v. beadása után. Kísérleti körülmények a 2. ábránál



6. ábra. Hím egér egésztest autoradiogramja 24 órával a V-111-3-^{14}C i.v. beadása után. Kísérleti körülmények a 2. ábránál

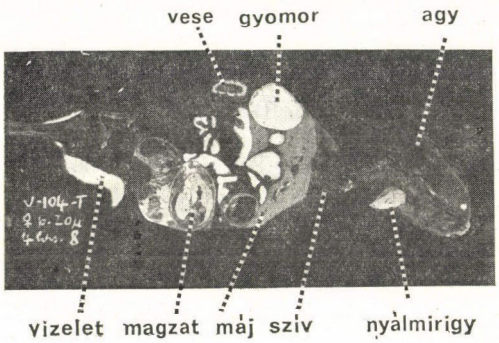
A szerv-koncentrációk gyors emelkedésének megfelelően a szívben látható vér aktivitásának gyors csökkenése egybehangzóan bizonyítja a V-111 gyors kiáramlását a szövetekbe. A szívizom már a 30. másodpercben a vérnél több V-111-et tartalmaz, és benne a kísérleti periódus alatt végig jelentős aktivitás látható.

A lipoid-oldékony bázikus vegyületekre jellemzően *(Schanker* 1961) gyorsan kiválasztódik a vegyület a gyomorban és ott magas koncentrációt ér el (1., 2., 5. ábra).

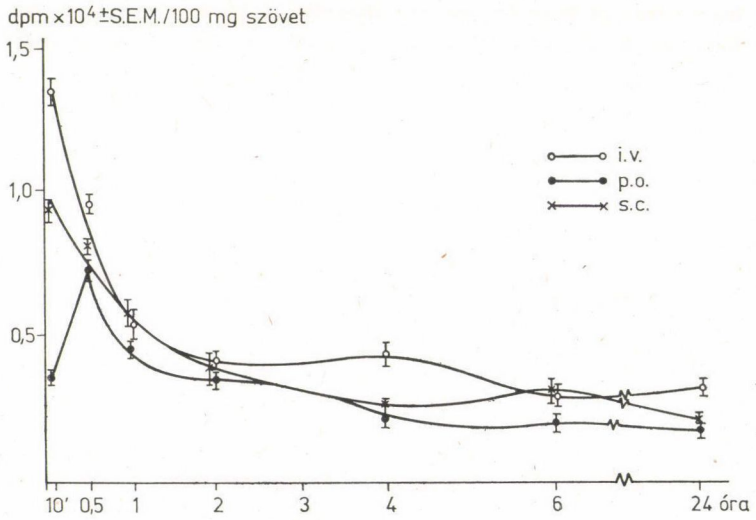
A 2., 3., 5. ábrák terhes egerek autoradiogramjai. Mint látható, a magzati szövet a placentában észlelt magas aktivitás ellenére szinte nem tartalmaz radioaktivitást. Nem penetrál jól a vegyület a szembe sem (2. ábra), bár az 5. ábrán a lencse területén enyhe kirajzolódás látható.

Az izomrendszerben alacsony koncentrációt észleltünk az egész kísérlet folyamán (4—5. ábra).

A vese (2., 4., 5., 6. ábra) és a hólyag (6. ábra) magas aktivitása a vegyület kifejezett vizeletürítésére utal, de kiválasztódik a vegyület a nyálmirigyeken keresztül is (2., 6. ábra).



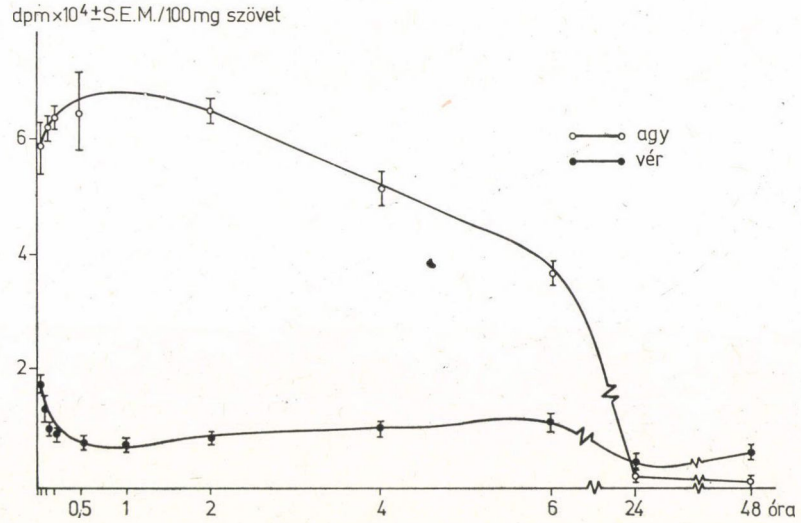
7. ábra. Terhes egér egésztest autoradiogramja 4 órával a V-104-^{3}H i.v. beadása után. (500 μCi/állat; 10 mg/kg; 0,2 ml térfogatban)



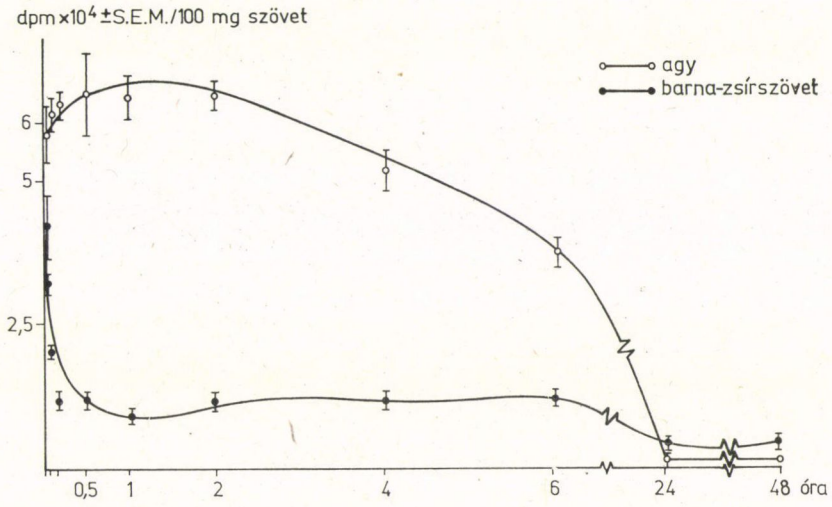
8. ábra. A vér radioaktivitásának változása egérkísérletekben a V-111-1-^{14}C i.v., s.c., ill. p.o. beadása után. Dózis: 24,7 mg/kg. 5μCi/20 g egér. 5 kísérlet átlaga ± S.E.M.

A bélfal főleg a 20—60. percig jelentős mennyiségű izotópot tartalmaz, a bél lumenében azonban csak kevés aktivitás látható, ami ellene szól a vegyület székleten keresztül történő intenzív ürülésének.

A 7. ábra a V-104-^{3}H eloszlását mutatja 4 órával a vegyület beadása után. Az autoradiográfiás kép két lényeges eltérést mutat a V-111 eloszlásától, amennyiben a központi idegrendszerben kevés, a magzati szövetekben pedig jelentős radioaktivitás található. Ez a jelenség azért érdekes, mivel a két



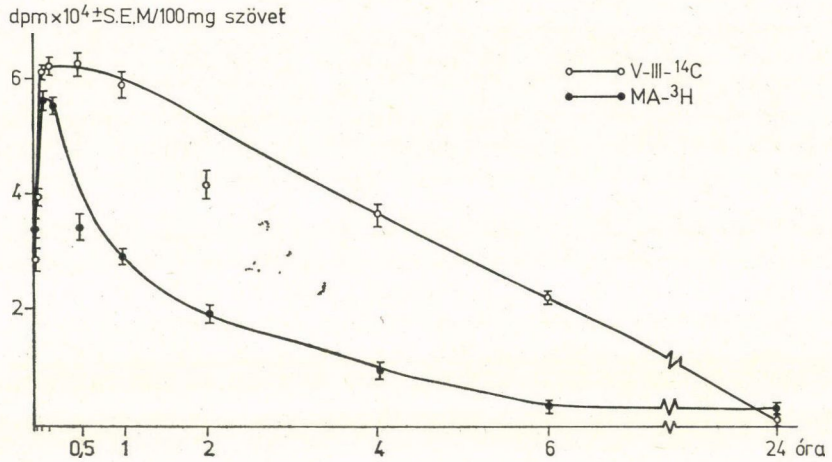
9. ábra. Az agyszövet és a vér radioaktivitásának változása egérkísérletekben a V-111-1-^{14}C i. v. beadása után. Kísérleti körülmények a 8. ábránál



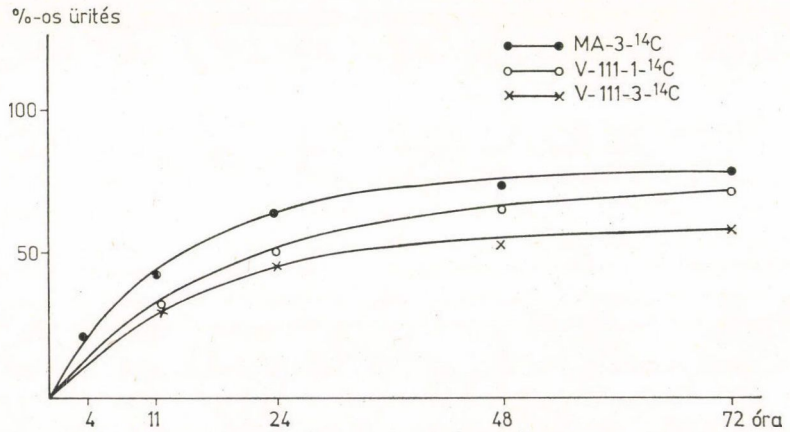
10. ábra. Az agyszövet és a barna-zsírszövet radioaktivitásának változása egérkísérletekben a V-111-1-^{14}C i.v. beadása után. Kísérleti körülmények a 8. ábránál

vegyület csupán a bróm pozíciójában tér el egymástól. A V-111 para; a V-104 orto-pozíciójában tartalmazza a halogént. Ez a különbség a vegyületek lipoid-oldékonyságában is jelentős változást eredményezett (I. táblázat).

A V-111 felszívódását a vegyület V-111-1-^{14}C módosulatával tanulmányoztuk. Az egereket (20 g.) 5 μCi radioaktív V-111-gyel (24,7 mg/kg) kezeltük i. v., s. c., ill. p. o. és különböző időközökben a szívből vett vérben határoztuk meg a radioaktivitás koncentrációját (8. ábra). Az eredmények azt bizonyítják,



11. ábra. Az agyszövet ^{3}H és ^{14}C radioaktivitásának változása egérkísérletekben a V-111-1-^{14}C és a MA-^{3}H i.v. beadása után. A két jelzett vegyület oldatait előre összekevertük és azután adtuk be, 0,2 ml térfogatban az egereknek. Dózis: mindkét vegyületből 9,9 mg/kg, 2 μCi/20 g egér volt. A MA-^{3}H esetében inaktív MA hozzáadásával biztosítottuk a V-111-el azonos radioaktív koncentráció mellett az azonos farmakológiai dózist. 5 kísérlet átlaga ± S.E.M.



12. ábra. A vizelettel ürített radioaktivitás kumulatív változása V-111-1-^{14}C, V-111-3-^{14}C, illetve MA-^{14}C i.v. beadása után patkánykísérletben. Dózis: V-111-1-^{14}C-ből 9,9 mg/kg, V-111-3-^{14}C-ből 7,23 mg/kg, MA-^{14}C-ből 11,8 mg/kg. A radioaktív dózis mindhárom vegyületből 10 μCi/100 g patkány volt. 3 kísérlet átlaga

hogy a vegyület hamar felszívódik a bőr alatti kötőszövetből és a gyomor-béltraktusból is. Az első esetben 10, a másodikban 30 perc múlva mértük a vegyület legmagasabb vérszintjét, ami a gyors felszívódást jelzi. Az i. v. beadás után észlelt gyors koncentráció-csökkenés a vérben, amit az autoradiogramok is mutattak, a vegyület intenzív szöveti penetrációjára utal. A 24 órás kísérlet görbék alatti területének összehasonlításával azt kaptuk, hogy az s. c., ill. p. o. beadás utáni görbe alatti területek az i. v.-hez viszonyítva 81,3, ill. 64,9%-nak adódtak, ami egyértelműen a vegyület jó felszívódását bizonyítja.

A kvantitatív jellegű eloszlási vizsgálatainkban a V-111 agyi koncentrációjának változását kísértük elsősorban figyelemmel. A V-111-1-^{14}C-vel intravénásan kezelt állatok agyi koncentrációjának kinetikáját a vérhez viszonyítva a 9. ábra mutatja. Az egésztest autoradiográfiás vizsgálatokkal egybehangzóan, a kvantitatív mérések is a V-111 gyorsan kialakuló, magas és tartós koncentrációját bizonyítják az egér agyszövetében.

Az agyi koncentráció alakulását összehasonlítottuk a barna-zsírszövetével, mivel nagyszámú egésztest-autoradiográfiás vizsgálatunk azt bizonyítja, hogy a lipoidoldékony enyhén bázikus vegyületek, melyeknek disszociációja a szervezeti pH mellett visszaszorul (I. táblázat), mindkét szervben gyorsan, magas koncentrációt érnek el és ez a koncentráció a továbbiakban is általában párhuzamosan alakul (*Magyar* 1968, 1973; *Magyar* és *Knoll* 1970; *Knoll* és *mtsai* 1975a, b; *Magyar* és *mtsai* 1976b). A két szerv radioaktív koncentrációjának változását a 10. ábra mutatja. Mint látható, a radioaktivitás magas szintje mindkét szervben egyszerre kialakul, azonban csak a barna-zsírszövetben észleltük annak gyors csökkenését. A barna-zsírszövet koncentrációjának többszöröse található az egerek központi idegrendszerében. A görbék alatti területek összehasonlítása azt mutatja, hogy a 24 órás periódusban az agyszövetben a barna-zsírszövet V-111 koncentrációjának 4,54-szerese található.

A V-111 tartós és magas agyi koncentrációja jó összhangban áll tehát a vegyület ugyancsak tartós — az amfetaminét meghaladó — akut farmakológiai és biokémiai hatásaival (*Knoll* 1970a; *Knoll* és *Magyar* 1971; *Knoll*, *Vizi* és *Magyar* 1972a; *Knoll* és *mtsai* 1972b; *Magyar* és *Knoll* 1975b; *Magyar* és *mtsai* 1976a).

Egy másik kísérlet-sorozatban meghatároztuk a V-111-^{14}C és MA-^{3}H agyi szintjének változását is úgy, hogy a két jelzett vegyületet előre összekeverve, azonos dózisban (a radioaktív dózis is azonos volt) adtuk be intravénásan az egereknek és a ^{14}C; ill. ^{3}H-aktivitás változását párhuzamosan követtük a központi idegrendszerben (dózisok az ábra szövegében).

Ennél a módszernél számításba kell vennünk a két vegyület kötési helyekért történő esetleges kompetícióját. Azonban az ebből eredő hátrányt messze meghaladó előnyt biztosít az, hogy a két vegyület agyi koncentrációját

a nagy biológiai szórás ellenére össze tudjuk hasonlítani, mivel azonos kísérleti állatokban és azonos időben vizsgáltuk azok eloszlását. Saját tapasztalatok és az irodalmi adatok alapján azt látjuk, hogy a szöveti kötési helyek szinte kimeríthetetlenek (*Snyder* és *Bennett* 1976), ezért a két vegyület kötési helyekért történő versengése nem lehet jelentős tényező. Más a helyzet a receptoriális kötődést illetően, ahol a hatásért felelős molekulák kötődését vizsgáljuk (*Ehrenpreis* és *mtsai* 1969). Az eloszlási kísérletekben azonban helytelen lenne a vegyület megjelenéséből egy szerv specifikus receptoraira következtetni.

A 11. ábrán látható, hogy a V-111 a MA-t meghaladó koncentrációt ér el a központi idegrendszerben és szintje lassabban csökken, mint a MA-é. A két vegyület agyi koncentrációját jelző görbékre számítógépes analízissel két-két exponenciális egyenes illeszthető. A V-111 esetében a rajzolt görbe illeszkedése pontatlan, a számítógép azonban a görbéről kieső értékeket is figyelembe veszi. A belőlük számított agyi felezési idő metilamfetaminnál a gyors csökkenés fázisában 27,8 ± 1,6, a lassúbb fázisban 280 ± 4,8 perc. A V-111-re vonatkoztatott azonos paraméterek 41,9 ± 6,04 és 361 ± 44 percnek adódtak. A görbe alatti területek összehasonlításával azt látjuk, hogy 24 órás periódus alatt a V-111 mennyisége az agyszövetben 2,51-szerese a MA-énak. A V-111 és a MA egymáshoz viszonyított számszerű arányát a vérben és az agyszövetben a II. táblázat mutatja. Az első másodpercben a MA koncentrációja még magasabb, mint a V-111-é, a későbbiek folyamán azonban az utóbbi koncentrációja meghaladja a MA-ét.

II. táblázat

A V-111-1-^{14}C és a MA-^{3}H koncentrációnak aránya az egér vérében és agyszövetében a két vegyület egyszerre történt intravénás beadása után

Idő (perc)	Vér		Agy	
	V-111/MA	MA/V-111	V-111/MA	MA/V-111
0.5	0,24	4,06	0,83	1,20
5	0,11	9,22	1,08	0,92
30	0,32	3,16	1,78	0,56
60	0,25	3,86	2,03	0,48
120	0,20	4,88	2,56	0,39
360	0,35	2,84	3,84	0,26

Az agyi koncentrációkat a 11. ábra adataiból számítottuk. A vér értékei azonos kísérletből származnak. Kísérleti körülmények a 11. ábra szövegében.

A III. táblázat adatai a MA-^{3}H, a V-104-^{3}H és a V-111-1-^{14}C szubcelluláris eloszlását mutatják a patkányagy homogenizátum differenciál-centrifugálással nyert frakcióiban. A három vegyületnek a mag és a haemoglobinnal együtt

ülepedő frakcióhoz történő kötődésében alig találtunk eltérést, míg a mitochondriális és mikroszomális frakcióhoz — különösen az előbbihez — legjobban a V-111, közepesen a V-104 és legkevésbé a MA kötődik. Ez a sorrend egyezik a vegyületek lipoid-oldékonyságával is (I. táblázat). A 230 000 g×300 perces felülúszóban — mint várható — fordított a vegyületek koncentrációjának sorrendje.

III. táblázat

Metilamfetamin-származékok szubcelluláris eloszlása patkányagy homogenizátumban

g×idő (perc) üledék	%* ± S.E.M.		
	MA-^{14}C	V-104-^{3}H	V-111-1-^{14}C
1 500×10	R** = 1	R = 1,3	R = 0,9
töretlen sejt, sejtmag, mielin	10,45±0,7	13,73±1,7	9,71±1,1
12 000×15	R = 1	2,3	4,3
mitochondrium, mielin, idegvégződés	13,42±0,7	31,49±0,5	58,11±1,8
100 000×60	R = 1	1,3	1,89
mikroszomális frakció	9,80±0,9	13,30±08	18,61 ±1,6
230 000×300	R = 1	0,86	0,69
molekulasúly 80 000 fölött	1,71±0.6	1,48±0,3	1,19±0,11
230 000×300	R = 1	0,64	0,29
felülúszó: molekulasúly 80 000 alatt	62,53±3,2	40,48±2,6	18,44±1,7
visszanyerés	97,3 ±1,9	96,99±1,2	103,23±1,6

*% = Az egyes frakciók radioaktivitása a homogenizátum kezdeti aktivitásának százalékában.

** R = a MA-hoz hasonlított viszonyszám.

A V-111-1-^{14}C, a V-111-3-^{14}C és a MA-^{14}C kumulatív vizeletürülését a 12. ábra mutatja. Mint látható, a MA-^{14}C intenzívebben ürül, mint a V-111 két módosulata. Az ábra a V-111 elhúzódó lassú ürülését bizonyítja. A V-111-1-^{14}C és a V-111-3-^{14}C, illetve ezek metabolitjainak vizeletürülésében észlelt különbséget nem tartjuk mérési hibának. Ez azt jelzi, hogy a V-111 molekula dezintegrálódik és a leszakadó rész $^{14}CO_2$-vé oxidálódik a szervezetben. Ezt a feltevést igazolta, hogy ha a V-111-3-^{14}C-vel kezelt állatok kilélegzett levegőjét Soluene-en buborékoltattuk át, a Soluene megkötötte a radioaktív $^{14}CO_2$-t. Ennek mennyisége 48 órán át a beadott radioaktivitás 5—7%-a volt.

A V-111 előkezelés után adott V-111-1-^{14}C vizeletürülését a IV. táblázat mutatja. 7 napos előkezelés a V-111-nek, illetve metabolitjainak főleg 0—12 óráig és 0—24 óráig ürülő mennyiségét fokozza szignifikánsan. 7 napos kezelést meghaladóan az ürülés már nem fokozódik tovább.

IV. táblázat

V-111 előkezelés hatása a V-111-1-^{14}C-nek és metabolitjainak ürítésére patkánykísérletekben

V-111 kezelés 15 mg/kg s.c.	A vizeletben talált aktivitás a beadott dózis %-ában ± S.E.M.		
	0–12 h	0–24 h	0–48 h
Egyszeri kezelés	15,9 ±2,20	23,75±4,05	50,3 ±3,04
4 napos	14,53±1,19	36,91±6,55	66,33±3,61
7 napos	35,99±2,53*	54,58±1,98*	69,74±2,25
12 napos	30,92±3,43*	51,42±2,51*	65,78±2,48

V-111-1-^{14}C dózisa: 9,9 mg/kg i. v., 10 μCi/állat. A kísérletek száma: 5
* = $p < 0,05$ A szignifikanciát a Student t-teszttel számoltuk.

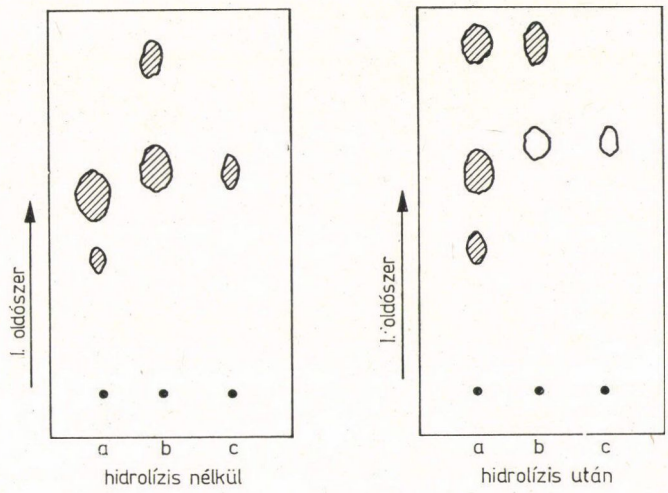
Kísérleteinkben a székletben is meghatároztuk az ürített radioaktivitás mennyiségét. A székletet savas (pH 1) és lúgos (pH 10) kémhatás mellett éterrel extraháltuk és az egyesített extraktumban 48 óra alatt a radioaktivitás 10,15%-ával tudtunk elszámolni.

A V-111 tehát lassan ürül ki a patkány szervezetéből. Egyszeri kezelés után 48 órás kísérleti periódus alatt a vizelettel 50,3, a kilélegzett levegővel 5—7, a széklettel 10,15% ürül ki a beadott vegyületből (összesen mintegy 65—70%).

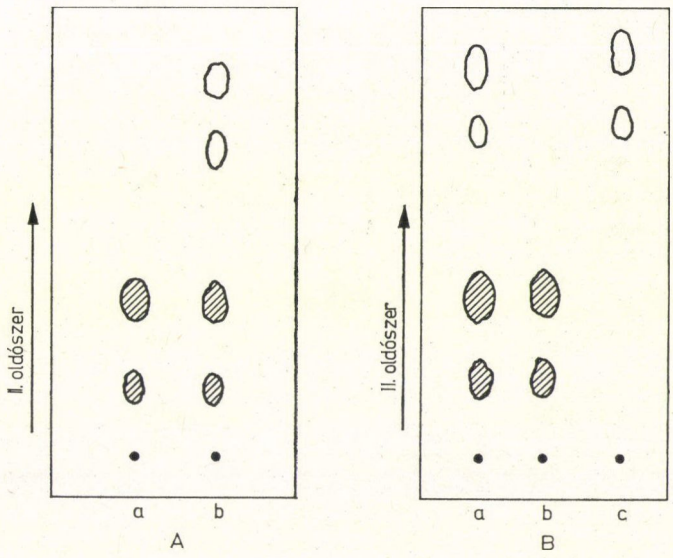
A vizeletből savas, illetve bázikus kémhatás mellett éterrel extrahálható V-111 metabolitok azonosítását vékonyréteg kromatográfiával kíséreltük meg. Nem foglalkoztunk az éteres extrakció után a vizes fázisban maradó metabolitokkal.

A 13. ábrán látható, hogy az A-extraktumban (pH 10-nél extrahált) savas behatásra egy újabb folt jelenik meg, míg a B-extraktumban az egyik folt, valamint a vizes maradékban levő folt intenzitása erősen csökken. Az A-extraktumokat a II. oldószerben is megfuttattuk (14. ábra). Megállapítottuk, hogy a hidrolizált vizeletben két újabb folt jelenik meg (14. ábra A). Nyilván arról van szó, hogy a V-111 metabolitjainak konjugátumai elbomlanak és ezáltal éterrel extrahálhatók a vizeletből. Az A-extraktumot híg sósavval összerázva az alsó két folt a vizes fázisba került, tehát ezek bázisok, míg a hidrolízis során keletkezett felső két folt az éteres oldatban maradt, azaz semleges karakterűek (14. ábra B).

A híg sósavban oldódó anyagokról feltehető volt, hogy bázikus aminocsoportot tartalmaznak, tehát azok a változatlan V-111, illetve annak demetilált származékai (p-brómamfetamin, nor-V-111) lehetnek. Ennek bizonyítását kétdimenziós kromatográfiával végeztük. A 15. ábrán látható, hogy mindkét rendszerben a foltok azonosan mozdulnak el a megfelelő összehasonlító anyagokkal.



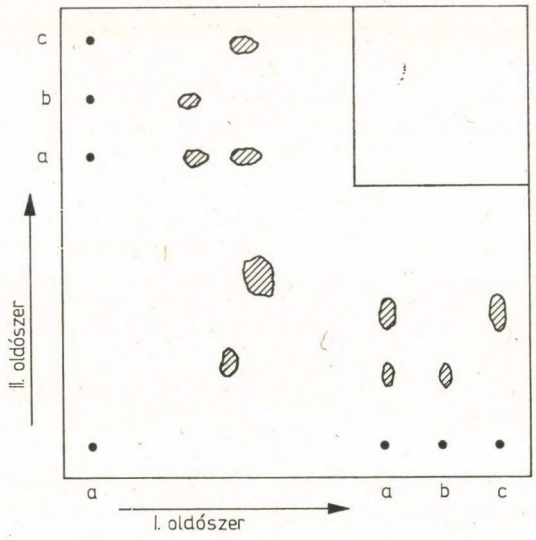
13. ábra. A vizeletből éterrel extrahált V-111 metabolitok vékonyréteg kromatogramja. a = pH 10-nél extrahált metabolitok, A-extraktum; b = pH 1-nél extrahált metabolitok, B-extraktum; c = vizes maradék



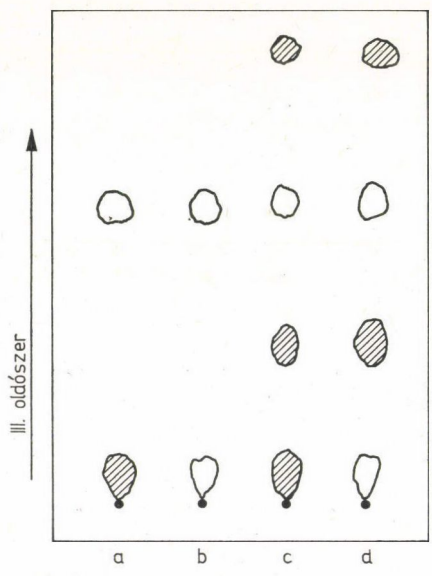
14. ábra. Az A-extraktum vékonyréteg kromatogramja A. a = A-extraktum hidrolízis előtt; b = A-extraktum hidrolízis után. B. a = A-extraktum hidrolízis után; b = A-extraktum savas pH-nál (pH 3) extrahálva, vizes fázis; c = A-extraktum savas pH-nál extrahálva, éteres fázis

Megjegyezzük, hogy az A-extraktum vizsgálatánál a kvalitatív kromatográfiás kép az 1-es és a 3-as szénen jelzett vegyületek esetében azonos volt.

A B-extraktum vizsgálatát a III. oldószerben végeztük. A 16. ábrán látható, hogy a savas hidrolízis hatására a startban maradó folt intenzitása

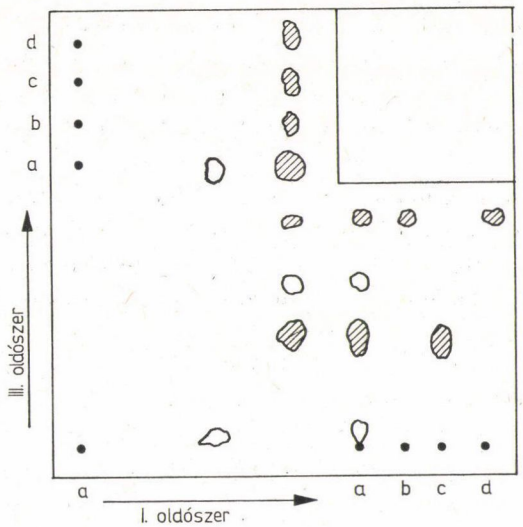


15. ábra. Az A-extraktum híg sósavban oldódó anyagainak kétdimenziós vékonyréteg kromatogramja. a = A-extraktum híg sósavban oldódó része; b = V-111-1-^{14}C; c = nor-V-111-1-^{14}C

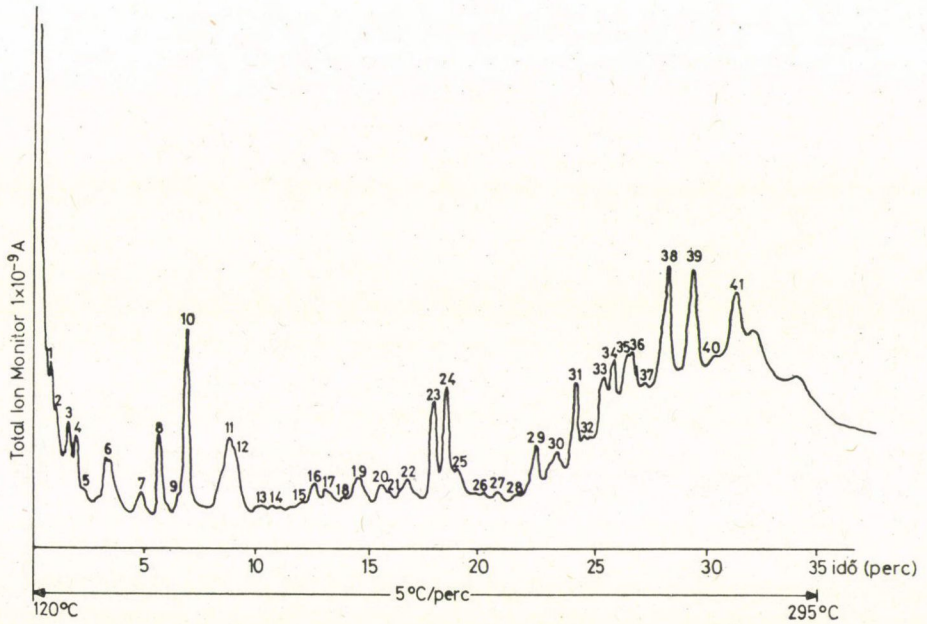


16. ábra. A B-extraktum vékonyréteg kromatogramja. a = B-extraktum 3-as C-jelzés; b = B-extraktum 3-as C-jelzés, savas hidrolízis után; c = B-extraktum 1-es C-jelzés; d = B-extraktum 1-es C-jelzés, savas hidrolizis után

erősen lecsökken (a feltételezett konjugátumok elbomlanak, de a keletkezett anyagok nem savanyú karakterűek). Az 1-es szénnel jelzett vegyülettel kezelt állatok vizeletében két olyan folt látható, mely a másik vegyület esetében nem jelentkezik, ami csak úgy magyarázható, hogy a metabolikus változások



17. ábra. A B-extraktum kétdimenziós vékonyréteg kromatogramja. a = B-extraktum 1-es C-jelzés; savasan hidrolizált; b = p-brómbenzoesav-1-^{14}C; c = p-brómhippursav-1-^{14}C; d = p-brómfenilecetsav-1-^{14}C



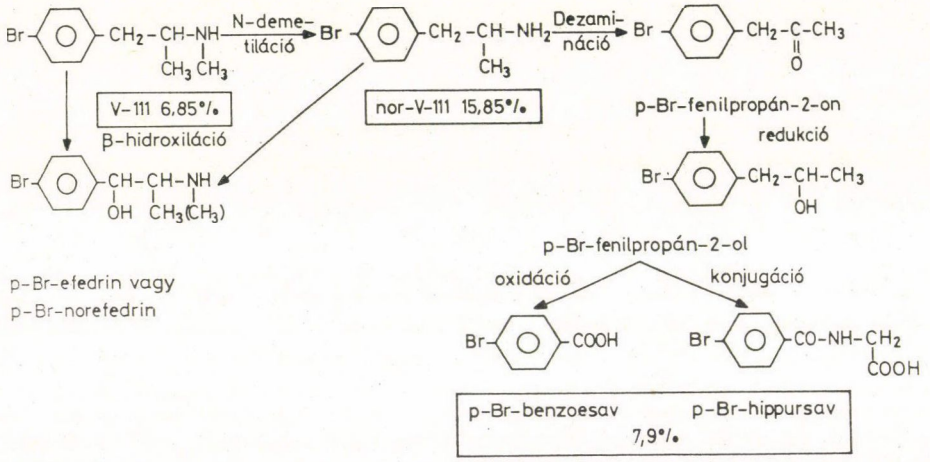
18. ábra. V-111-el kezelt patkányok vizeletéből savas, ill. lúgos pH-nál éterrel extrahált metabolitok gázkromatográfiás elválasztása GC/MS kombinációban. A patkányokat 15 mg/kg V-111-el kezeltük i.v. A vizeletet 24 órán át gyűjtöttük

a molekula dezintegrációjához vezetnek. A molekula dezintegrációjára utalt a V-111 két jelzési pozíciója esetén a vizeletürítésben észlelt eltérés is (12. ábra) patkánykísérletekben. A molekula dezintegrációja feltehetőleg oxidatív átala-

kulás, melynek eredményeként keletkező savas karakterű anyagok a p-brómfenilecetsav, p-brómbenzoesav, ill. konjugáció révén a p-brómhippursav lehetnek. A V-111-1-^{14}C-vel kezelt állatok vizeletében tehát a savas karakterű anyagokat a fenti referens anyagokkal hasonlítottuk össze kétdimenziós kromatogramon.

A 17. ábrából megállapítható, hogy a B-extraktumban csak az 1-es jelzés esetében található két folt, a p-brómbenzoesavval, illetve a p-brómhippursavval azonos. Meg kell jegyezni, hogy a p-brómbenzoesav és a p-brómfenilecetsav között az alkalmazott kromatográfiás rendszerekben nem sikerült különbséget tennünk.

A V-111-1-^{14}C-vel kezelt patkányok 0—12, 12—24 és 24—48 órás gyűjtött vizeletének vékonyréteg kromatogramjáról (Kieselgel-G) lekapartuk a nor-V-111 és a V-111-nek megfelelő foltokat és folyadék-szcintillációs módszerrel meghatároztuk azok aktivitását. Megállapítottuk, hogy a változatlan V-111 és demetilált származéka számottevő mennyiségben ürül ki a vizelettel. V-111-ből beadott dózis 6,85, nor-V-111-ből 15,05%-át találtuk meg a 0—24 óra alatt gyűjtött vizeletben. Az idő előrehaladtával a nor-V-111 mennyisége a V-111-hez viszonyítva jelentősen növekszik a vizeletben. Míg a két vegyület aránya (nor-V-111/V-111) 0—12 órás vizeletben 1,19, a 12—24 órásban 5,94, a 24—48 órásban pedig már 11,5. A p-brómbenzoesav és a p-brómhippursav a beadott dózis 7,9%-át képviselte a 0—24 órás vizeletben (19. ábra).



19. ábra. A V-111 metabolizmusának sémája patkánykísérletekben (metabolitok a 0—24 órás vizeletben). A bekeretezett értékek az identifikált metabolitok mennyiségét jelzik a beadott dózis %-ában. A V-111-1-^{14}C dózisa 9,9 mg/kg, 10 μCi/ patkány volt, i. v. beadva.

A vizelettel ürülő metabolitok gázkromatográfiás analízisét TIM-al detektálva a 18. ábra mutatja és mint látható, 41 viszonylag jól elkülöníthető csúcsot tudtunk detektálni a vizelet éteres extraktumából. A gázkromatográf-tömegspektrográfiás vizsgálat kísérleti paramétereit az V. táblázat mutatja.

V. táblázat

A gázkromatográf-tömegspektrográfiás vizsgálat paraméterei

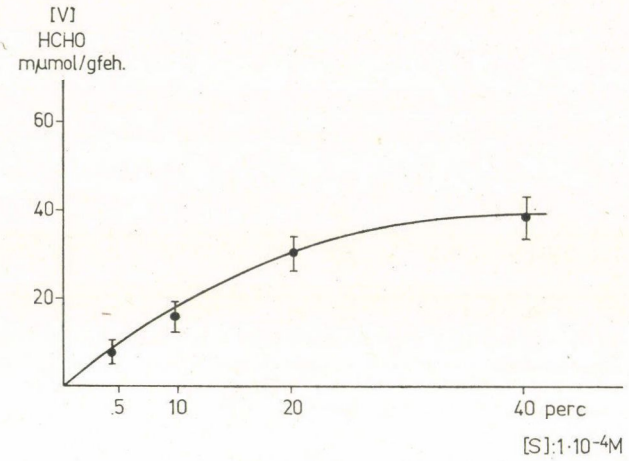
Gázkromatográf-tömegspektrográf	JGC 20K + JMSD — 100
Oszlop	2 cm×3 mm
Oszloptöltet	10%; PEG 20M; Gas-Chrom Q 100—120 mesh
Hélium áramlási sebessége	2 kg/cm²
Hőmérsékletek	
Injektor	270 °C
Oszlop	120—250 °C, 5 °C/perc
GC—MS	250 °C
Érzékenység	1×10^{-9}
Vákuum	1×10^{-5} Torr
Ionizációs energia	27 eV

A gázkromatográfiás elválasztással szeparálódott komponensek tömegspektrumaiból csak a brómot tartalmazó metabolitok analízisét végeztük el számítógéppel. A GC/MS technikával végzett vizsgálataink is alátámasztották a vékonyrétegen is identifikált V-111, nor-V-111, p-brómbenzoesav és p-brómhippursav jelenlétét a patkányok vizeletében. Ily módon sikerült azonban olyan metabolitokat is valószínűsíteni, melyeket vékonyrétegen, referens anyag hiányában nem tudtunk identifikálni. Így megtaláltuk a p-brómfenilacetont valószínűsítő 212 tömegszámú molekulaiont, valamint a 169 tömegszámú fragmens iont, ami az előbbiből a —$COCH_3$ leszakadásával (—43) keletkezhet. Mivel vékonyrétegen is azonosítottuk a p-brómbenzoesavat, illetve a p-brómhippursavat, melyek az amfetamin metabolizmusának is végtermékei — természetesen a p-bróm-szubsztitúció nélkül — a reakcióút ismeretében a p-brómfenilaceton, mint közti termék, jelen kell legyen a vizeletben (19. ábra). A p-brómfenilaceton redukciója révén, mint a 19. ábra mutatja, közti termékként p-brómfenilpropanol is keletkezhet. Ezt a vegyületet nem találtuk meg a vizeletben, viszont identifikáltuk a belőle vízkilépéssel keletkező 196 tömegszámú fragmens iont (C_9H_9Br), ami a p-brómfenil-1-2-propénnel lehet azonos. Megtaláltuk még a 170 tömegszámú (C_7H_7Br) fragmens iont, ami p-brómtoluolnak felel meg. Ez a p-brómfenilecetsav dekarboxilált végtermékeként fogható fel.

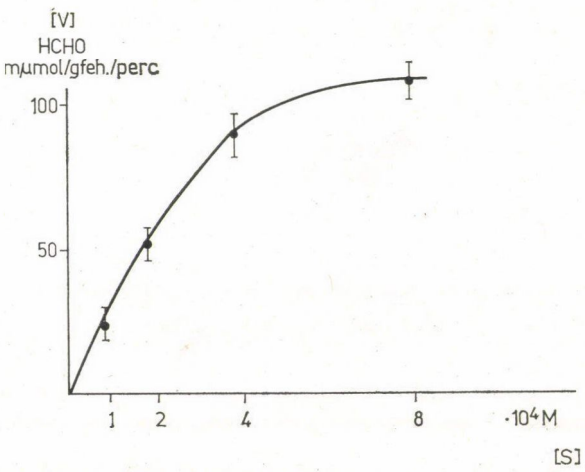
Vizsgálataink szerint tehát a V-111 fő metabolikus útja az N-demetiláció, mely további enzimatikus átalakulások révén p-brómbenzoesavhoz, illetve p-brómhippursavhoz vezet. Az eredményeket összegezve mutatja a 19. ábra. Az ábrán szereplő átalakulási termékek, metabolitok közül bizonyítottuk a V-111, a nor-V-111 a p-brómfenilecetsav a p-brómfenilaceton jelenlétét a vizeletben és vizsgálataink szerint közti termékként joggal feltételezhetjük a p-bróm-

fenilpropanolt is. Megtaláltuk és vékonyrétegen is bizonyítottuk a p-brómbenzoesavat, illetve a b-brómhippursavat is a vizeletben. A vegyület β-hidroxilációja csak mint elvi út szerepel a táblázatban, melynek lehetőségét az amfetamin esetében mások bizonyították *(Dring* és *mtsai* 1966).

Az amfetamin metabolizmusa patkánykísérletekben kvalitatíve is eltér a fenti képtől, mivel annak fő metabolikus útja a p-hidroxiláció. A p-hidroxilált termék patkányban 60%-át teszi ki a vizelettel ürülő amfetamin metabolitoknak. A V-111 p-hidroxilációja a p-brómszubsztitúció miatt nem mehet végbe, ezért a V-111 metabolizmusa, mint ezt bizonyítottuk, patkányban nem az amfetaminhoz hasonlóan történik. Ebben a speciesben is végbemegy



20. ábra. A (+)-V-111-metil-^{14}C demetilációjának idő függése.

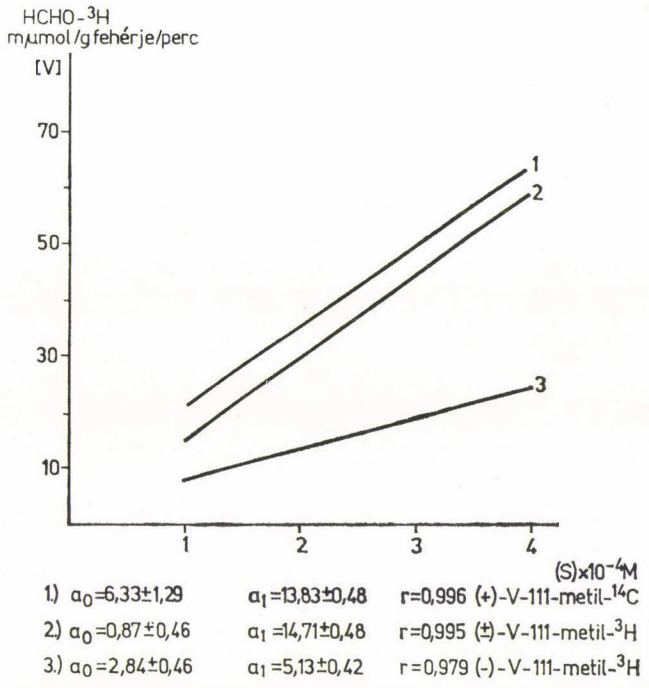


21. ábra. A (+)-V-111-metil-^{14}C demetilációjának szubsztrált függése.

elenyésző mértékben a metilamfetamin N-demetilációja és oxidatív dezaminációja, azonban a p-halogenált V-111 esetében ez fő metabolikus úttá lép elő.

Kísérleteinkben *in vitro* körülmények között patkánymáj mikroszómapreparátumon is megvizsgáltuk a V-111 N-demetilációját a vegyület metiljelzett módosulatainak segítségével. Kísérleteink azt mutatták, hogy a V-111 N-demetilációja *in vitro* körülmények között időben 10 percig lineárisan halad (20. ábra). A reakció szubsztrátfüggését pedig a 21. ábra mutatja.

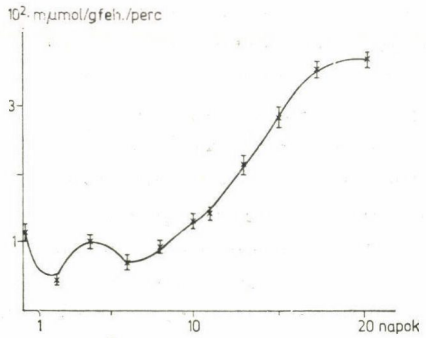
Mivel a V-111-metil jelzett módosulataiból mind a sztereoizomerek, mind a racem módosulat rendelkezésünkre állott, külön is elvégeztük azok N-demetilációs vizsgálatát. Az eredményeket 3 különböző szubsztrát koncentrációban a 22. ábra mutatja. Az egyenesek egyenleteiből látható, hogy a (+)-módosulat N-demetilációja szignifikánsan intenzívebb mint a (—)-izomeré. A racem V-111 demetilációja nem éri el a (+)-izomerét, azonban a közöttük észlelt különbség nem szignifikáns.



1.) a_0=6,33±1,29 a_1=13,83±0,48 r=0,996 (+)-V-111-metil-^{14}C
2.) a_0=0,87±0,46 a_1=14,71±0,48 r=0,995 (±)-V-111-metil-^{3}H
3.) a_0=2,84±0,46 a_1=5,13±0,42 r=0,979 (-)-V-111-metil-^{3}H

22. ábra. A V-111-metil jelzett sztereoizomerjeinek N-demetilációj. Az 1. és 3. sz. egyenes között az eltérés szignifikáns; $p < 0,05$. A statisztikai elemzést Student t-teszttel végeztük

Mivel a V-111 előkezelés patkányon fokozza a vegyület, illetve metabolitjainak vizeletürülését, megvizsgáltuk azt is, hogyan befolyásolja az előkezelés a májmikroszóma-frakció N-demetilációs aktivitását. A 23. ábra azt mutatja, hogy az N-demetiláció időben fokozódik és három hét múlva már



23. ábra. A (+)-V-111-metil-^{14}C N-demetilációja a vegyülettel előkezelt patkányok májmikroszóma preparatumán. Az előkezelés során az állatok naponta 15 mg/kg inaktív V-111-et kaptak s.c. (a dekapitálást egy órával megelőzően is). A (+)-V-111-metil-^{14}C koncentrációja $8 \cdot 10^{-4}$M volt a demetilációs médiumban

a kezdeti aktivitás mintegy háromszorosára nő. A V-111 kezelés tehát fokozza a máj mikroszomális állományának N-demetilációs aktivitását, ezzel saját metabolizmusát is.

Bár az amfetamin gyengébb pszichostimuláns mint a metilamfetamin, az N-demetiláció fokozódásának krónikus V-111 kezelés során nyilvánvalóan nincs befolyása a vegyület központi idegrendszeri zavart okozó hatásában észlelt toleranciához, hiszen az időben is gyorsabban kialakul annál. A tolerancia oka ugyanis abban áll, hogy a V-111 kiüríti az első kezelés során a szerotonin raktárakat, megszünteti tehát a szerotonin felszabadulásához kötött hatásokat, majd ezt követően a szerotonerg rendszer tartós változásaihoz vezet (Magyar és mtsai 1975d; 1976a).

VI. táblázat

Az emberi máj és patkánymáj mikroszóma preparátum N-demetilációs aktivitása in vitro *kísérletekben különböző szubsztrátkoncentráció mellett*

Species	Aktivitás mμmol/g fehérje/perc		
	1×10^{-4}M	2×10^{-4}M	4×10^{-4}M
Emberi máj	28,88±0,7*	48,72±1,4	96,07±1,3
Patkánymáj	18,30±2,7	40,23±3,1	86,40±9.65

Szubsztrát: (+)-V-111-metil-^{14}C.
A statisztikai értékelést Student t-teszttel végeztük.
* $p < 0,05$.

Emberen a metilamfetamin metabolizmusa eltér a patkányon észleltekétől, mivel itt a fő metabolikus út eleve az N-demetiláció (*Dring* és *mtsai* 1966). Ezért megvizsgáltuk, hogy a humán májmikroszóma fehérjére vonat-

koztatott N-demetilációs aktivitása hogyan viszonylik a patkányban észlelt N-demetilációs aktivitásához V-111 szubsztrát esetén.

Kísérleteink szerint (VI. táblázat) a kezeletlen humán és patkány májmikroszóma preparátum fehérjére vonatkoztatott aktivitása *in vitro* kísérletekben csak az alacsony szubsztrátkoncentráció esetében tér el szignifikánsan egymástól. Ilyenkor a humán májmikroszóma N-demetilációs aktivitása meghaladja a patkány májmikroszómáét.

Összefoglalás

A p-Br-metilamfetamin (V-111) radioaktív jelzett módosulatainak segítségével vizsgáltuk a vegyület szervezetbeni sorsát egér- és patkánykísérletekben. Egésztest autoradiográfiás vizsgálatokkal és kvantitatív folyadék szcintillációs méréssel egérkísérletekben megállapítottuk, hogy a vegyület gyorsan felszívódik és a vérből gyorsan penetrál a szövetekbe. A központi idegrendszerben a metilamfetamin koncentrációját meghaladó szintet ér el, és lassabban is hagyja el a központi idegrendszert. Differenciál centrifugálással bizonyítottuk, hogy a V-111 a metilamfetaminnál és az o-bróm-metilamfetaminnál (V-104) jobban kötődik a patkányagy mitochondriális és mikroszomális frakciójához. A kötődés intenzitása a vegyület lipoidoldékonyságával arányos. V-111 ill. metabolitjai főleg a vizelettel ürülnek, de megtalálhatóak a székletben is, sőt a molekula dezintegrációja következtében az oldallánc 3-as ^{14}-C-jelzése esetében kevés mennyiségű radioaktív CO_2 jelenik meg a kilégzett levegőben is. A vizeletben ürülő metabolitok radiokromatográfiás és gázkromatográf-tömegspektrometriás elemzésével bizonyítottuk, hogy a V-111 kis részben változatlan formában ürül, de megtaláltuk a vizeletben a demetilált V-111-et, a p-brómfenilacetont (közvetve bizonyítottuk a p-brómfenilpropanol előfordulását), a p-brómbenzoesavat és a p-brómhippursavat is. Az amfetaminnak és metil származékának fő metabolikus útja patkányban a p-hidroxiláció, ami a p-halogenált V-111 esetében nem megy végbe. Ezért a patkányban az amfetamin esetében csak másodlagos jelentőségű út (demetiláció, oxidatív dezaminációval) a V-111 fő lebontási útjává válik ebben a speciesben. *In vitro* kísérletekben is bizonyítottuk a V-111 intenzív demetilációját. Tartós kezelés során patkánykísérletekben nő a demetilációs aktivitás.

IRODALOM

Dring, L. G., Smith, R. L. és *Williams, R. T.*: J. Pharm. Pharmacol. **18,** 402 (1966).
Ehrenpreis, S., Fleisch, J. H. és *Mittag, T. W.*: Pharmacol. Rev. **21,** 131 (1969).
Knoll, J., Ecseri, Z., Kelemen K. Nievel, J. és *Knoll, Berta*: MTA V. Oszt. Közl., **15,** 231 (1964).
Knoll, J., Ecseri, Z., Kelemen, K., Nievel, J. és *Knoll,* Berta: Arch. Int. Pharmacodyn., **15** 154 (1965a).
Knoll, J., Vizi, E. S. és *Ecseri, Z.*: MTA V. Oszt. Közl. **15,** 413 (1965b).

Knoll, J., Vizi, E. S. és *Ecseri, Z.:* Arch. Int. Pharmacodyn. **159,** 442 (1966).
Knoll, J., Vizi, E. S., Knoll, Berta és *Somogyi, Gy.:* MTA V. Oszt. Közl. **18,** 35 (1967).
Knoll, J.: In: Amphetamines and Related Compounds, (Eds.: Costa, E. és Garattini, S. (Raven Press, New York, 761 (1970).
Knoll, J. és *Vizi, E. S.:* Pharmacology, **4,** 278 (1970a).
Knoll, J. és *Vizi, E. S.:* Pharm. Res. Comm. **2,** 67 (1970).
Knoll, J., Vizi, E. S. és *Knoll, Berta:* Acta Physiol. Hung. **37,** 151 (1970).
Knoll, J. és *Magyar, K.:* In: Third Int. Meeting of Int. Soc. for Neurochem. Budapest, Abstr., p. 231 (1971).
Knoll, J. és *Magyar, K.:* In: Monoamine Oxidases — New Vistas (Eds: Costa. E. és Sandler M.) Adv. Biochem. Psychopharmacol. **5,** Raven Press, New York, 393 (1972a).
Knoll, J. és *Magyar, K.:* Orvostudomány, **23,** 87 (1972b).
Knoll, J., Vizi, E. S. és *Magyar, K.:* In: Recent Development of Neurobiology in Hungary, **3,** (Ed.: Lissák, K.) Akadémiai Kiadó, Budapest, p. 167 (1972a).
Knoll, J., Magyar, K. és *Vizi, E. S., Knoll, Berta, Török, T.* és *Jóna, Gabriella:* Orvostudomány, **23,** 99 (1972b).
Knoll, J., Magyar, K., Vizi, E. S., Török, T., Sátory, Éva és *Jóna Gabriella:* In: Symp. on Pharmacologycal Agents and Biogenic Amines in the Central Nervous System, (Ed: Magyar, K.) Akadémiai Kiadó, Budapest, p. 13 (1973).
Knoll, J., Magyar, K., Makleit, S. és *Zólyomi, G.:* Orvostudomány, **26,** 111 (1975a).
Knoll, J., Magyar, K. és *Zólyomi, G.:* Acta Physiol. Hung. **46,** 163 (1975b).
Knoll, J.: In: Monoamine Oxidase and its Inhibition, Ciba Foundation Symp., Elsevier, Amsterdam, **39,** 135 (1976).
Magyar, K.: Orvostudomány, **19,** 341 (1968).
Magyar, K. és *Knoll, J.:* Acta Physiol. Hung. **37,** 150 (1970).
Magyar, K., Sátory, Éva, Zsilla, Gabriella és *Knoll, J.:* In: Seventh Meeting of the Federation European Biochemical Soc., Varna, Abstr. No. 847 (1971).
Magyar, K.: Activ nerv. sup., Praha, **14,** 4 (1972).
Magyar, K., Sátory, Éva, Jóna, Gabriella és *Knoll, J.:* Acta Physiol. Hung. **41,** 356 (1972)
Magyar, K.: Acta Morph. Hung. XIV. Suppl. p. 142 (1973).
Magyar, K. és *Knoll, J.:* In: Fourth Int. Meeting of the Int. Soc. for Neurochem. Tokyo, Abstr., 489 (1973).
Magyar, K. és *Knoll, J.:* In: Fifth Congr. of the Polish Pharmacol. Soc. Szczecin, Abstr. p. 35 (1975a).
Magyar, K. és *Knoll, J.:* In: Sixth Int. Congr. of Pharmacology Helsinki, Abstr. No. 371 (1975b).
Magyar, K. és *Knoll, J.:* In: Fifth Int. Meeting of the Int. Soc. for Neurochem. Barcelona, Abstr. No. 444 (1975c).
Magyar, K. és *Knoll, J.:* Polish J. of Pharm. and Pharmacy. Suppl. **27,** 139 (1975d).
Magyar, K., Hajnal, L. és *Knoll, J.:* In: Second Cong. of the Hung. Pharmacol. Soc. **3,** Monoaminergic Mechanisms in the Central Neurvous System. (Ed.: Magyar, K.) Akadémiai Kiadó, Budapest, 1976a).
Magyar, K., Zsilla, Gabriella és *Knoll, J.:* In: Second Congr. of the Pharmacol. Soc., **1,** Symp. on Analgetics. (Ed.: Vizi, E. S.) Akadémiai Kiadó, Budapest, p. 30 (1976b).
Nash, T.: Biochem. J., **55,** 416 (1953).
Schanker, L. S.: Ann. Rev. Pharmacol, **1,** 29 (1961).
Snyder, S. S. és *Bennett, J. P.:* Ann. Rev. Physiol. **38,** 153 (1976).
Sutherland, E. W., Cori, C. F., Haynes, R. és *Olsen, N. S.:* J. Biol. Chem., **180,** 825 (1949).
Thompson, J. A. és *Holtzman, J. L.:* J. Pharmacol. Exp. Ther. **186,** 640 (1973).
Ullberg, S.: Acta Radiol. Suppl. **18,** 1 (1954).

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

A dolgozatban található statisztikai értékelést és számítógépes analízist a Semmelweis Orvostudományi Egyetem Számítástechnikai Csoportjában dr. *Kanyár Béla* végezte, amiért ezúttal is köszönetünket fejezzük ki. Köszönet illeti Oszvald Editet és Knippel Ágostonnét a technikai munkában való gondos közreműködésükért.

Semmelweis Orvostudományi Egyetem, I. sz. Kórbonctani Intézet és Magyar Tudományos Akadémia Kísérleti Orvostudományi Kutató Intézet, Budapest

A MELLÉKVESE DAGANATAINAK FINOMSZERKEZETE

LAPIS KÁROLY az MTA levelező tagja és SZABÓ DEZSŐ az orvostudományok kandidátusa

Közlésre érkezett: 1977. II. 14.

A mellékvese két, embrionális és funkció szempontjából eltérő belső szekréciós tevékenységet végző szövetből, a kéreg- és velőállományból áll. Ezeket basalmembrán és kevés kötőszöveti sejt választja el egymástól.

Az embrionális fejlődés 4—6 hetében a vékonybelek hashártya-kettőzetének a hátsó hasfalon tapadó gyökerétől kétoldalt, az ősvese közelében alakul ki a kéregállomány telepe mint a középső csíralemez származéka.

A normális mellékvesekéreg-sejtek ultrastruktúrája

A mellékvesekéreg Arnoldtól származó klasszikus hármas felosztása az elektronmikroszkópos terminológiába is átment. A kortikoszteroid hormonok felfedezése az ún. zonális teóriához vezetett. E szerint a zona glomerulosában mineralokortikoidok, a zona fasciculatában glukokortikoidok, a zona reticularisban főképp androgén hormonok termelődnek. E teóriát lényegében nem cáfolták meg a korszerű összehasonlító morfológiai és fiziológiai vizsgálatok, de kialakult a nézet, hogy merev, éles elkülönítés nem minden esetben helytálló.

A három klasszikus zona a szokásos lokalizációban ritkán látható emberi mellékvesékben és ha jelen van, kóros állapotra kell gyanakodni (*Symington* 1969). A zona glomerulosának általában csupán egyes sejtcsoportjai találhatók közvetlenül a tok alatti régióban. Nem ritkán, a zona glomerulosa és a zona fasciculata a metszet egyes területein felcserélt sorrendben figyelhető meg. A zona gomerulosa sejtjeiben a magok viszonylag nagyok és a cytoplasma volumene kicsi. Lipidcseppek közepes mennyiségben találhatók, a lysosomák száma csekély. A mitochondriumok többsége kissé elongált, cristás vagy tubuláris belső szerkezetű.

A kéregsejtek zömét alkotó zona fasciculata helyenként közvetlenül a tok alatt kezdődik. A sejtek nagy része sok lipidcseppet tartalmaz (világos sejtek). A lipidcseppek elektrondenzitása egyazon sejten belül is gyakran változatos. A sejtek általában közepes mennyiségű lysosomát tartalmaznak. A mitochond-

riumok többsége spherikus, belső szerkezetük tubulovesicularis, ill. vesicularis (1. ábra). A vesicularis jelleg a szteroid termelő sejtek „morfológiai védjegye". Szórványosan „üres" mitochondriumok is előfordulnak, melyek belsejében csupán matrix figyelhető meg.

Feltételezhető, hogy a mitochondriumok szerkezetében megfigyelhető zonális különbségek részben enzimkészletük, részben funkciójuk különbözőségével magyarázhatók.

A zona reticularisban sok a lipidszegény sejt (kompakt sejtek). Ezek aránylag sok lysosomát és lipofuscin testet tartalmaznak. Elongált és spherikus mitochondriumok egyaránt előfordulnak, belsejükben cristák, ill. tubulusok találhatók.

Prominens Golgi komplex főképp a kompakt sejtekben figyelhető meg.

Az embrionális periódus kivételével a mellékvesekéreg parenchyma sejtjei aránylag kevés granuláris endoplasmás reticulumot tartalmaznak. Ezzel szemben kiterjedt agranularis retikulum található, melyről bizonyított, hogy a mitochondriumokkal egyetemben, a szteroid bioszintézis enzimatikusan szabályozott lépéseiben játszik kulcs-szerepet.

A parenchyma-sejtek lysosomái kerek vagy ovális elektrondenz képletek, melyeknek savanyú foszfatáz aktivitása igen intenzív.

A sejtmagok csekély változatosságot mutatnak. Finomszerkezetük alapján a sejtek szintetikus vagy szekretorikus aktivitására nem tudunk következtetni.

Főképp a zona glomerulosában és a külső zona fasciculatában az intercellularis és pericapillaris résekben kollagén fibrillumok is előfordulnak. A mellékvesekéregben a parenchyma és az interstitium funkcionális egységet alkot. A mellékvesekéreg kapillárisok sinusoid típusúak, melyeket fenestrált endothel-sejtek bélelnek. A kapillarisokat és a parenchyma-sejteket basalis membrán veszi körül. A kapillárisok körül kollagen-rostok és macrophagok találhatók, mely utóbbiak többnyire lipid cseppeket, úgyszintén fagocitált anyagot tartalmaznak. A parenchyma-sejtek felszínén helyenként mikrobolyhok láthatók, melyek néhol a pericapillaris résekbe türemkednek.

A mellékvesekéreg-sejtekbe bejutó hormonprekurzornak (koleszterin), valamint a kéregsejtekből kijutó szteroid hormonoknak a két basalis membránon, valamint az erek endotheliumán kell keresztüljutni. A mellékvesekéregsejtek úgy rendeződnek, hogy felszínük egy része közvetlenül vagy a pericapillaris rés közvetítésével a sinusoidokkal összefügg.

Hormontermelő mellékvesekéreg daganatok ultrastrukturális sajátságai

Az a tény, hogy ultrastrukturális vizsgálatokra csak frissen eltávolított szövet alkalmas, a gyorsan autolizálódó mellékvesére fokozottan érvényes. A finomszerkezet megőrzése csak a sebészileg eltávolított, azonnal fixált mel-

lékvesékben lehetséges. Ebből következik, hogy a boncolással nyert mellékvesék ultrastrukturális vizsgálatra alkalmatlanok.

Nem funkcionáló mellékvese-daganatokat ritkán operálnak. A metastatikus úgyszintén a virilizációt vagy feminizációt okozó daganatok szövettani szerkezetéről nagyobbrészt csak fénymikroszkópos adatokkal rendelkezünk.

Conn szindrómát és Cushing szindrómát okozó mellékvese-daganatok ultrastruktúrájáról számos közlemény jelent meg. Elektronmikroszkóppal a daganatok nagyobb strukturális heterogenitást mutatnak, mint amely a fénymikroszkópos leletek alapján gyanítható.

A daganatszövetben a parenchyma és a stróma viszonyának finomszerkezeti elemzése diagnosztikai és prognosztikai szempontból egyaránt jelentős.

Makroszkóposan és mikroszkóposan egyaránt szembeötlő, hogy a mellékvesekéreg-sejtek volumenükhöz képest minden más sejtnél több lipidet tartalmaznak. A közlemények többségéből kiderül, hogy kortikoszteroid-termelő mellékvese-daganatokban a lipideknek különös figyelmet szentelnek.

A szteroid hormonok fő prekurzorát, a koleszterint, a lipidcseppek főképp eszterifikált állapotban tárolják. A lipidcseppek jelentős mennyiségű foszfolipidet és kevés szabad koleszterint is tartalmaznak. A lipidcseppek száma, nagysága, megoszlása és ozmiofiliája pathologiás körülmények között nagy változatosságot mutat. Egyedül a lipidek mennyiségéből a sztreroidsejtek szintetikus vagy szekréciós aktivitására nehéz következtetni. A kevés lipid oka egyaránt lehet abszorbciójának vagy szintézisének lassulása, úgyszintén felhasználásának gyorsulása. A lipidcseppek fokozott felhalmozódása nemcsak gyorsult abszorbciójuk vagy szintézisükre utalhat, hanem lassult felhasználódásuk miatt is bekövetkezhet.

Kevéssé jól differenciálódott turmosejtekben általában közepes mennyiségű és nagyságú, mérsékelten osmiophil lipidcseppek találhatók. Világossejtes adenomákban nagyszámú, különböző alakú és nagyságú, főképp kevéssé osmiophil lipidcseppek figyelhetők meg. Gyakran több lipidcsepp összeolvadásából óriás lipidcseppek keletkeznek. A lipidgazdag tumorok a lipidszegényeknél általában kevésbé agresszívek *(Mackay* 1969). Cushing szindrómát okozó mellékvesekéreg daganatokban gyakori jelenség a tumorszövet melletti és az ellenkező oldali ép mellékvese kéregállomány atrophiája. Ilyenkor a csökkent működésű sejtek fokozott lipid akkumulációja figyelhető meg.

Morita és *mtsai* (1972) adatai szerint Cushing szindrómában a koleszterin felhasználás fokozódik. ^{131}I—19 koleszterint alkalmazva demonstrálták, hogy Cushing szindrómás betegek mellékveséiben több koleszterin inkorporálódott, mint azon egyénekében, akiknek mellékveséje normálisan működött.

Mellékvesekéreg daganatok nem mindig okoznak hyperkortikalizmust (nem funkcionáló tumorok). Ismeretes, hogy Conn szindrómában és Cushing szindrómában az esetek egy részében funkcionáló mellékvesetumort lehet találni. Conn szindrómában (primaer aldosteronismus) az esetek többségében mellék-

vesekéreg adenoma található (2., 3., 4. ábra). Kisebb számban diffúz vagy nodularis mellékvesekéreg hyperplasia, ritkán carcinoma észlelhető. Előfordul, hogy a fokozott aldosteron termelés ellenére a mellékvese szövettani képe normálisnak tűnik. Aldosteron-termelő mellékvese daganatok ultrastruktúrájáról viszonylag számos közlemény jelent meg. *Cervós-Navarro* és *mtsai* (1965), *Luse* (1967), *Propst* (1965), *Sommers* és *Terzakis* (1970) Conn szindrómát okozó mellékvesekéreg adenomákat vizsgáltak. Az ultrastrukturális leletek alapján Cervós-Navarro és mtsai, valamint Luse feltételezték, hogy az adenomák zona glomerulosa sejtekből állnak. Propst, valamint Sommers és Terzakis az adenomákat felépítő sejteket zona fasciculata sejtekből származtatták. *Reidbord* és *Fisher* (1969) aldosteront termelő mellékveseadenomákban egyes sejtekben a zona glomerulosában előforduló mitochondrium típusokat figyeltek meg. Más sejtek mitochondriumai a zona fasciculatában előfordulókra hasonlítottak. Mind a zona glomerulosa, mind a zona fasciculata jellegzetes ultrastrukturális sajátosságaira emlékeztető sejtek az ún. hybrid sejtek. *Neville* és *Symington* (1966) is azt találták, hogy az aldosteronomák hybrid sejtekből épülnek fel. *Kovács* és *mtsai* (1974) aldosteron-termelő mellékvese adenomában főképp fasciculata típusú sejteket figyeltek meg. Egyes sejtek mitochondriumai a zona glomerulosa sejtekre emlékeztető tubularis cristákat tartalmaztak. Véleményük szerint a mitochondriumok nem merev statikus alkotóelemekként tekintendők, mivel az aktuális funkcionális állapotnak megfelelően változhatnak. Megfigyelték még a lysosomák és a lipofuscin granulák akkumulációját, a granuláris endoplazmás reticulum membránok megszaporodását, lipid depletiót, a Golgi sacculusok fokális hypertrophiáját és dilatációját, valamint az agranuláris endoplazmás reticulum kifejezett hypertrophiáját. Az utóbbi változást az aldosteron túltermeléssel összefüggő fokozott sejtaktivitás finomszerkezeti megnyilvánulásának tartják.

Conn szindrómás betegeket gyakran kezelnek különböző aldosteron inhibitorokkal (pl. spironolakton). Ilyenkor a zona glomerulosa és a külső fasciculata sejtekben membranózus testeket (spironolacton bodies) lehet megfigyelni (4. ábra).

Cushing szindrómát okozó mellékvese-daganatok ultrastruktúrájáról számos közlemény jelent meg. Ismeretes, hogy a betegséget nem mindig mellékvesekéreg daganatok okozzák. *Symington* (1969), *Geyer* és *mtsai* (1971) nagy anyagon végzett statisztikai adatok alapján megállapították, hogy Cushing szindrómás betegek mellékveséiben leggyakrabban hyperplasiát, ritkábban carcinomát vagy adenomát lehet kimutatni. Az esetek kis részében a szövettani kép normális.

Elektronmikroszkópos vizsgálatokból kitűnik, hogy diffúz hyperplasia egyes eseteiben a mellékvesekéreg ultrastrukturális képe a normálistól alig különbözik, nodularis hyperplasiában adenomára emlékeztet (*Urushibata* 1971).

Mitschke és *mtsai* (1971) Cushing szindrómát okozó hyperplasiás mellékvesékben kompakt típusú sejteket figyeltek meg, melyekben sok „üres" mitochondrium és tágult agranularis endoplazmás retikulum volt található. *Kracht* és *Bayer* (1971) feltételezése szerint a diffúz hyperplasia fokozatosan adenomás alakba megy át. Más szerzők is felvetik a kérdést, hogy vajon a hyperplasia és a tumor különálló kórképek-e, vagy a mellékvesekéreg szövetének különböző növekedési stádiumai (*Kirschner* és *mtsai* 1964). Cushing szindrómát okozó mellékvesekéreg adenomákban a sok lipid vacuolát tartalmazó világos sejtes adenomákat elkülönítik a jól fejlett organellumokat tartalmazó kompakt sejtes adenomáktól. *Mitschke* és *mtsai* (1973) szerint a kompakt sejtes adenomák, fokozott funkcionális állapot morfológiai megfelelőjének tekinthetők, a világos sejtes adenomák a tárolási fázist képviselik és ACTH-val stimulálhatók. A fokozott mennyiségű granuláris endoplazmás retikulumot és pleomorph mitochondriumokat tartalmazó adenoma sejtek finomszerkezete a normális és hyperplasiás mellékvese zona fasciculata és zona reticularis sejtjeitől jelentősen különbözik. Főképp fokozati különbség állapítható meg mellékvesekéreg kompakt sejtes adenomája és a carcinomája között. Adenomában és carcinomában egyaránt megfigyelhető a magok pleomorphizmusa, megnagyobbodott nucleolusok és magzárványok. Differenciáldiagnosztikai jelentőségű, hogy carcinomában a sejtek organellumokban szegényebbek, általában primitívebb aspektust mutatnak, mint az adenomák. Az adenomák solid, trabekularis, illetve alveolaris felépítésűek, ezzel szemben a carcinomák inkább medullaris, ill. pseudopapillaris felépítésűek. Érbetörés, valamint kiterjedt necrosisok a carcinomára jellemzőek. Adenomákban a bazalis membrán megtartott, ezzel szemben carcinomában gyakori a membránok folytonossági hiánya. *Szabó* és *mtsai* (1975) sebészileg eltávolított Cushing szindrómát okozó mellékvesekéreg carcinoma (5. ábra), valamint a környező daganatmentes mellékvese szövettenyészetének ultrastruktúráját és in vitro hormontermelését vizsgálták. A kiindulási daganatszövetben két jellegzetes sejttípust különböztettek meg. A nagyobb számban előfordulóban magzárványokat, kevés lipidet és hypertrophizált dilatált agranuláris endoplazmás reticulumot figyeltek meg (6., 7. ábra). A másik sejttípus főképp sok lipidcseppet és elektrondenz szemcséket tartalmazott (8. ábra). A két sejttípus aránya a szövettenyésztés során megváltozott. A 17 napos tenyészetben nagyobb százalékban lehetett lipid-gazdag, elektrondenz szemcséket tartalmazó sejteket találni. Mivel a daganatszövet kezdetben magas hidrokortizon szintje a folyamatos ACTH kezelés ellenére fokozatosan csökkent, feltételezhető, hogy a lipid-gazdag sejteket hidrokortizon termelés szempontjából csökkent értékűeknek lehet tekinteni.

Az elmondottakból kitűnik, hogy egyedül az ultrastrukturális vizsgálatok alapján a mellékvesekéreg daganatok hormontermelésének minőségére és mennyiségére ez idő szerint biztosan következtetni még nem tudunk. Mind-

azonáltal szabálynak tekinthető, hogy a betegek műtét előtti endocrinológiai státuszát rögzítő klinikai leleteit, az eltávolított mellékvese-daganatok ultrastrukturális sajátosságaival minden esetben célszerű összevetni. Ily módon nemcsak a terápiát befolyásoló, hanem prognosztikailag is fontos információk nyerhetők.

A normális mellékvesevelői sejtek ultrastruktúrája

A velőállomány az embrionális neuralis idegléc primaer törzssejtjeiből (sympathogonia) származó chromaffin sejtekből épül fel (*Sullivan* 1972). A chromaffin sejtek meglehetősen monomorph polygonalis sejtek, melyek kötegekbe rendeződve capillaris sinusoidok körül helyezkednek el (9, 10a ábra). A normál emberi mellékvesevelő gazdag vérellátását ún. fenestralt capillarisok (*Yokoyama* és *Takayasu* 1969) biztosítják (13a, b ábra). A mellékvesevelő beidegzése a nervus splanchnicus felől történik. A chromaffin sejtek között preganglionalis idegrostokat és synaptikus kapcsolatokat egyaránt kimutattak. Cholinerg típusú transmissióról van szó (*Ribadeau Dumas* és *Poirier* 1973) (14. ábra). Az idegi stimuláció a catecholamin (CA) szekréció vonatkozásában alapvető szabályozó befolyást jelent.

Az adrenalin cytoplasmatikus partikulumokban való lokalizációját *Blaschko* és *Welch* (1953) állapították meg. Mellékvesevelőből készült metszetekben elsőként *Lever* (1955) észlelte elektronmikroszkóposan a chromaffin granulumok előfordulását. *Coupland* (1965) szerint a sejtek CA tartalmának 80%-a e granulumokban található.

A granulumok rendszerint kerekded, ovoid, ellipszoid, olykor szabálytalan alakú képletek (10a, 10b ábra), melyek mindegyikét unit membrán határolja (*Winkler* 1971), nagyságuk 150—200 nm között mozog (*Bässler* és *Habighorst* 1964). Állományuk elektrondenz szemcsés, 5—20 nm átmérőjű finom granulumokból áll. Magunk korábbi (*Benedeczky* és *Lapis* 1968; *Széplaki* és *mtsai* 1968) vizsgálatainkban a granulumok átmérőjét lényegesen nagyobbnak, a kisebb granulum típus esetében 200, a nagyobb granulum típus esetében 300 nm-nek találtuk. Megoszlanak a vélemények (*Yokoyama* és *Takayasu* 1969), hogy minden granulum, vagy csak azok egy része rendelkezik elektrondenz core-ral, melyet mintegy 10 nm széles elektron áteresztő zona választ el a határoló membrántól.

Ismeretes, hogy a mellékvesében található CA-ok túlnyomó többségét a noradrenalin (NA) és az adrenalin (A) képezik (*Eränko* 1951). A fénymikroszkópos cytokémiai leleteket többen elektronhisztokémiai módszerek alkalmazásával is megerősítették (*Hillarp* és *Hökfelt* 1953; *Elfvin* 1955; *Coupland* és *mtsai* 1964, *Tramezzani* és *mtsai* 1964; *Wood* és *Barrnett* 1964; *Benedeczky* és *mtsai* 1966). Azt is kimutatták, hogy a NA és az A csak a foetusban és az élet első napjaiban található egyugyanazon sejtben (*Ribadeau Dumas*

és *Poirier* 1973). Glutaraldehyd—OsO_4 kettős rögzítés mellett a NA tartalmú granulumok nagyobbak, erősen denz homogén megjelenésűek, míg a kisebb A tartalmú granulumok kevésbé denzek és finomszemcsés belső szerkezetet mutatnak (11. ábra) *(Coupland* és *mtsai* 1964; *Coupland* 1965; *Coupland* és *Weakley* 1968; *Ribadeau Dumas* és *Poirier* 1973).

A CA-ok intragranularis tárolódása természetesen csak azáltal lehetséges, hogy a granulumok képesek a cytoplazma CA szintjéhez viszonyítva lényegesen magasabb koncentráció-gradiens fenntartására, melynek magyarázatára kétféle hipotézis is van *(Bloom* 1972).

A mellékvesevelő sejtek specifikus vonását a CA tartalmú chromaffin-granulumok képezik, egyéb, sajátosan csak rájuk jellemző finomszerkezeti vonásuk nincs.

A sejtek közötti kapcsolatot gyér számú desmosoma típusú sejtkapcsoló struktúra és helyenként a szomszédos sejtek plazmamembránjának egymásba nyomuló invaginációi biztosítják. A kerekded, ovális sejtmag meglehetősen csekély elektrondenzitású, a chromatin állomány kisebb-nagyobb halmazokba tömörült. A mitochondriumok pálcika alakúak, matrixuk közepes elektrondenzitású, lamellaris cristáik igen változatos, szabálytalan orientációt mutatnak. A Golgi készülék a granulum gazdag sejtekben kevésbé fejlett, ritkán látható, a granulumban szegényebb sejtekben fejlettebb, szokványos felépítésű és az endoplazmás retikulummal szoros térbeli kapcsolatban áll. Előfordulnak még változó nagyságú (0,5—5 μm) lysosomák, multivesicularis testek és lipofuscin granulák is a mellékvesevelő chromaffin sejtjeiben. Előfordulnak csekély granulum tartalmú vagy érett granulumokat alig tartalmazó sejtek is (12. ábra). A granulumban szegény sejtek egyéb sejtorganellumokban gazdagabbak, főleg több mitochondriumot, durvafelszínű endoplazmás reticulumot, szabad ribosomát és fejlettebb Golgi készüléket tartalmaznak, mint a granulum gazdag sejtek. E vonások alapján tároló és szecernáló sejttípus látszott elkülöníthetőnek a mellékvesevelőben *(Benedeczky* és *Lapis* 1968). Helyesen mutattak azonban rá mások *(Yokoyama* és *Takayasu* 1969), hogy az eltérő finomszerkezeti vonások nem eltérő sejttípusokat, hanem a chromaffin sejtek életciklusának különböző funkcionálisan eltérő szakaszait tükrözik.

A mellékvesevelőben fénymikroszkóposan leírt ún. világos és sötét sejtek elektronmikroszkópos készítményekben is megfigyelhetők (12. ábra).

Az elektronmikroszkópos specialisták különös figyelmet fordítottak a sejtmembrán vizsgálatára, remélve, hogy ennek révén értékes megfigyeléseket gyűjthetnek a catecholamin szekréció módjára vonatkozóan. A ma legelfogadottabb nézet szerint ez exocytosis révén megy végbe (13a ábra). Eszerint a chromaffin granulumok Brown mozgásuk révén véletlenszerűen kerülnének érintkezésbe a plazmamembránnal, ahol kitapadva — miközben membránjuk a sejthártyával fuzionál — tartalmukat a külvilágba ürítik *(Smith* és *mtsai* 1973; *Smith* és *VanOrden* 1973; *Phillips* 1974).

A másik feltételezett szekréciós mód — a chromaffin granulumokból a hatóanyagok intracelluláris szabaddá válása és szabaddá vált finomszemcsés komponenseknek a sejthártyán és a fenestralt kapilláris falon a véráramba való jutása — jelen ismereteink szerint, szintén nem vethető el (*Bässler* és *Habighorst* 1964).

A mellékvesevelő eredetű daganatok finomszerkezete

A mellékvesevelőt felépítő chromaffin sejtekből kialakuló daganatok a phaeochromocytomák, ill. phaeochromoblastomák. E daganatok ritkák, 100 ezer új betegre vonatkoztatva a phaeochromocytomák előfordulási arányát 1,3—4,2-nek találták (*Winkler* és *Smith* 1972). E daganatok egy része hosszú ideig tünetmentesen nő, más részük viszont catecholamin-termelésükkel, ill. ürítésükkel kapcsolatos sajátos klinikai tünetek révén hívják fel magukra a figyelmet (*Gasser* és *mtsai* 1965). E daganatféleséget elektronmikroszkóposan először *Kleinschmidt* és *Schümann* (1961) írták le. Azóta viszonylag nagyszámú közleményben foglalkoztak e daganatok finomszerkezeti vonásaival (*Luse* 1961; *Bässler* és *Habigshorst* 1964; *Page* és *Jacobi* 1964; *Coupland* 1965; *Rosenthal* és *mtsai* 1966; *Tannenbaum* és *mtsai* 1966; *Yokoyama* és *mtsai* 1966; *Benedeczky* és *Lapis* 1968; *Blaschko* és *mtsai* 1968; *Huang* és *McLeish* 1968; *Laumonier* és *mtsai* 1968; *Misugi* és *mtsai* 1968; *Ratzenhofer* és *Auböck* 1968; *Széplaki* és *mtsai* 1968; *Albores-Saavedra* és *mtsai* 1969; *Greenberg* és *mtsai* 1969; *Mohr* és *mtsai* 1969; *Yokoyama* és *Takayasu* 1969; *Cornog* és *mtsai* 1970; *Brown* és *mtsai* 1972; *Lauper* és *mtsai* 1972; *Cervós-Navarro* és *mtsai* 1973; *De Lellis* és *mtsai* 1973; *Itoh* és *Ohmori* 1973; *Carmichael* és *Smith* 1974; *Oliva* és *Usera* 1974). Közülük talán külön figyelmet érdemelnek azok, melyekben a normál emberi mellékvesevelő és phaeochromocytomák ultrastrukturális vonásai kerülnek összehasonlításra (*Benedeczky* és *Lapis* 1968; *Yokoyama* és *Takayasu* 1969; *Winkler* és *Smith* 1972), vagy amelyekben az ultrastrukturális és biokémiai leletek, valamint a klinikai vonások között próbálnak kapcsolatokat keresni (*Benedeczky* és *Lapis* 1968; *Blaschki* és *mtsai* 1968; *Cornog* és *mtsai* 1970; *Brown* és *mtsai* 1972; *Lauper* és *mtsai* 1972; *Oliva* és *Usera* 1974).

Ami a phaeochromocytomák ultrastrukturális vonásait illeti, már az első megfigyelők (*Kleinschmidt* és *Schümann* 1961) demonstrálták, hogy e tumorokban chromaffin granulumok nagy bőségben vannak jelen (7., 8., 10., 11a ábra). Azóta ezt a diagnosztikai szempontból és e daganatok hisztogenezise szempontjából egyaránt legfontosabb megfigyelést valamennyi phaeochromocytomára vonatkozó elektronmikroszkópos tanulmányban megerősítették.

A tumorsejtekben látható granulumok körül határoló membrán rendszerint, csakúgy, mint a normál mellékvese esetében kimutatható volt. A granulumok alakja, nagysága, kontrasztossága (elektrondenzitása) azonban a

phaeochromocytoma sejtekben változatosabbnak bizonyult (17a, 18., 19a, 19b ábra). A granulumok átmérője 100—300 nm között mozgott. Egyes tumorokban leírtak 500 nm átmérőjű, egyébként a granulumokéval azonos elektrondenzitású és belső szerkezetű kerekded képleteket is.

Többnyire a tumorsejtekben is elektronáteresztő zóna választja el a határoló hártyát a granulum denz testétől (*Benedeczky* és *Lapis* 1968; *Misugi* és *mtsai* 1968) (19b ábra). Mások viszont (*Cervós-Navarro* és *mtsai* 1973) azt egyszerűen artefactumnak minősítik. Többen a noradrenalin és adrenalin tartalmú granulumok elkülönítésére kidolgozott elektronmikroszkópos eljárás (*Benedeczky* és *Lapis* 1968; *Széplaki* és *mtsai* 1968; *Lauper* és *mtsai* 1972; *Cervós-Navarro* és *mtsai* 1973), glutaraldehyd és OsO_4 rögzítés alkalmazásával a tumorokban is elkülöníthetőnek vélték e kétfajta granulumot (19a ábra). Míg egyesek a daganatokat illetően is arról számoltak be, hogy a szóban forgó 2 granulumféleséget csakis szeparáltan, más-más sejtben észlelték, addig mások (*Yokoyama* és *Takayasu* 1969; *Lauper* és *mtsai* 1972; *Cervós-Navarro* és *mtsai* 1973) szeparált noradrenalin, ill. adrenalin tartalmú sejtek létezését tumorokra nézve nem tudták megerősíteni és morfológiai vonásaik alapján noradrenalin, ill. adrenalin tartalmúnak minősülő granulumok ugyanazon sejtben való szimultán előfordulásáról számoltak be, éspedig világos és sötét sejttípus esetében egyaránt (*Lauper* és *mtsai* 1972). Itt talán egy sajátos, a tumorsejtek differenciálódási zavarának jeleként értékelhető jelenségről van szó, mely feltétlen további kivizsgálást érdemel. Ami a daganatsejtek granulumpopulációját illeti, különös figyelmet érdemelnek *Lauper* és *mtsai* (1972) vizsgálatai, akik a daganatsejtek μm^2-re számított granulum populáció denzitását arányosnak találták több esetben az adott daganat biokémiailag meghatározott catecholamintartalmával. *Yokoyama* és *Takayasu* (1969) két fő sejttípust: a catecholamingranulumokat tartalmazó és azoktól lényegében mentes típust különítenek el. Az első típusba sorolható sejteknek szerzők (*Yokoyama* és *Takayasu* 1969) három altípusát különítették el. Az Ia típusba sorolt sejtek csekély számú és kisméretű catecholamin granulumokat tartalmaznak, s a sejteknek csaknem egész cytoplazmáját számos, csaknem azonos nagyságú vacuolum tölti ki. Az Ib típusba azon sejteket sorolták, melyek már több granulumot és kevesebb vacuolát tartalmaznak (17a, 18. ábra). Ezekben a granulumnagyság változatos, átlagban 127 ± 63 nm-nek bizonyult, s mindenesetre nagyobbak, mint az Ia típusban megfigyelhető granulumok. E sejtekben fejlett Golgi zóna és endoplazmás reticulumállomány volt megfigyelhető. Az Ic típusba sorolt turmosejtek bőségesen tartalmaznak catecholamin granulumokat, azok nagyobbak a többi sejttípusban megfigyelhető granulumoknál (220 nm $\pm$ 97,5 nm), sőt a normális mellékvesevelői sejtek granulumainál is, vacuolák viszont alig fordulnak elő. Az endoplazmás reticulum állomány szerzők (*Yokoyama* és *Takayasu* 1969) leírása szerint e sejtekben is jól fejlett. E sejttípusok a phaeochromocytomákban egymás mellett, egymással elkeve-

redve és daganatonként változó arányban vannak jelen. A granulumszám, — nagyság fokozatos növekedése, és a vacuolák ezzel párhuzamos csökkenése, valamint a sejtek egyéb organellumait érintő elváltozások alapján szerzők a phaeochromocytoma sejtek életciklusának egymást követő fázisait látják az ismertetett sejttípusokban. Bizonyították (*Yokoyama* és *Takayasu* 1969; *Cervós-Navarro* és *mtsai* 1973), hogy az eltérő granulum tartalom daganatok esetében sem jelent eltérő sejttípusokat, hanem a tumorsejtek életciklusának funkcionálisan eltérő különböző fázisait reprezentálja.

A phaeochromocytoma sejtek egyéb organellumaira kevesebb figyelmet fordítottak. A sejtek polygonálisak, vérbő capillaris-sinusoidoktól övezett, kisebb-nagyobb sejtcsoportokat alkotnak (15., 16. ábra). A sejteket keskeny intercellularis rések választják el, helyenként azonban annak lacunaszerű kiöblösödése a daganatokban is megfigyelhető. Ebben szemcsés, közepes elektrondenzitású anyag található. A sejtfelszín lacunák felé tekintő felszíne tagolt, microvillus-szerű sejtnyúlványok figyelhetők meg rajta. A sejteket a tumorban is desmosoma típusú sejtkapcsoló struktúrák kötik egymáshoz, számuk azonban kevesebb s nagyságuk kisebb, mint a normál mellékvese velőállományában.

A magot általában kerekded-oválisnak, felszínét enyhén tagoltnak írják le. Magunk a sejtmagvakat több tumorban a sejtek jelentős hányadában, erősen lebenyezett, karélyozottnak találtuk, s állományukban gyakran cytoplasma invaginatumok átmetszetét figyeltük meg (17a ábra). Előfordultak kétmagvú, sőt másokkal (*Cervós-Navarro* és *mtsai* 1973) összhangban, többmagvú daganatsejtek előfordulását is gyakran észleltük (18. ábra). A sejtmag chromatinszegény (*Benedeczky* és *Lapis* 1968; *Széplaki* és *mtsai* 1968; *Yokoyama* és *Takayasu* 1969; *Lauper* és *mtsai* 1972; *Cervós-Navarro* és *mtsai* 1973), a világos sejtek magvában a chromatin a maghártya mentén tömörül. A nucleolus különösen a kevesebb granulumot tartalmazó sejtekben jól fejlett, s állományát a karyoplazma invaginátumai valósággal fonatszerűen átjárják. A durva felszínű endoplazmás reticulum állomány fejlettsége a tumorsejtek különböző típusaiban nem egyforma. A granulummentes vagy kevés granulumot tartalmazó daganatsejtekben aránylag bőséges a durvafelszínű endoplazmás reticulumállomány, s az olykor párhuzamos lamellák vagy dilatált cisternák formájában van jelen (17a ábra). Mennyisége azonban nem látszik feltűnően nagyobbnak, mint a ciklus hasonló fázisában levő normális mellékvesevelő sejtekben (*Benedeczky* és *Lapis* 1968; *Ratzenhofer* és *Auböck* 1968; *Greenberg* és *mtsai* 1969; *Yokoyama* és *Takayasu* 1969). Ez eléggé meglepő, különösen ha figyelembe vesszük azon biokémiai adatokat, miszerint a tumorsejtekben a catecholaminszintézis sokkal gyorsabb (*Nagatsu* és *mtsai* 1964).

A granulumokban gazdag tumorsejtekben csak kis mennyiségű és kevésbé organizált durva felszínű endoplazmás reticulum és csökevényes Golgi készülék figyelhető meg (19a ábra). A granulumszegény tumorsejtek Golgi zónája

viszont jól fejlett. Vannak megfigyelések (*Laumonier* és *mtsai* 1968; *Ratzenhofer* és *Auböck* 1968; *Yokoyama* és *Takayasu* 1969), miszerint csakúgy, mint a normál mellékvesevelő szövetben, a tumorsejtekben is a Golgi zóna a chromaffin granulumok képződési helye. A mitochondriumok száma is nagyobb a granulumszegény sejtekben. A tumorsejtek mitochondriumállománya alak- és nagyságbeli változatosságot mutat és a cristaállomány fejlettsége is változatos, a cristák orientációja szabálytalan. A normál chromaffinsejtek mitochondriumai lamellaris típusú cristákkal rendelkeznek, a phaeochromocytomasejtekben tubuloreticularis típus cristaállománnyal rendelkező mitochondriumok, s óriás mitochondriumok (*Cornog* és *mtsai* 1970) előfordulását is megfigyelték (*Benedeczky* és *Lapis* 1968). Itt kell megemlítenünk, hogy egyesek (*Cervós-Navarro* és *mtsai* 1973) a tumorsejtekben főleg a mitochondriumban gazdag területeken sima felszínű endoplazmás reticulum előfordulásáról is beszámoltak. Egy-egy esetben a mitochondriumok olyan excessiv mérvű felszaporodását észlelték a tumorsejtek egy részében (*Cervós-Navarro* és *mtsai* 1973), hogy azok kimerítették a tumorokban egyébként fénymikroszkóposan többek által leírt (*Sherwin* 1959; *Cavallero* 1964) onkocyták (20. ábra) kritériumait.

Lysosomákat is megfigyeltek (*Blaschko* és *mtsai* 1968; *Ratzenhofer* és *Auböck* 1968) a tumorszövetben. Valószínűleg a *Bässler* és *Habighorst* (1964) által leírt spheroid testek is lysosomáknak felelnek meg. Magunk a normál mellékvesevelőhöz képest a tumorszövetben ritkábban és kevesebb lysosomát és lipofuscin granulumot észleltünk (*Benedeczky* és *Lapis* 1968). Autophag vacuolumok előfordulásáról a tumorsejtekben szintén beszámoltak (*Blaschko* és *mtsai* 1968; *Ratzenhofer* és *Auböck* 1968). Gócos cytoplasma leépülés, granulumokat körülzáró myelin figura kialakulásával (17b ábra) szintén megfigyelhető. Leírták (*Cervós-Navarro* és *mtsai* 1973) a tumorsejtekben a glykogen granulumok elszórt, sőt olykor halmazokban való előfordulását is. Beszámoltak (*Cervós-Navarro* és *mtsai* 1973) arról is, hogy a sejtek többségében cytofilamentumok, olykor pedig microtubulusok megfigyelhetők. *Cervós-Navarro* és *mtsai* (1973) 6 daganat közül egyben a phaeochromocytoma sejtek részéről microtubulusokban gazdag dendritszerű nyúlványok kibocsátását figyelték meg. Az organellumok eloszlása is a sejtek neuronális jellegére utalt, synapsisnak megfelelő struktúrák azonban nem fordultak elő, s a szóban forgó sejtek típusos phaeochromocytoma sejtek közé ékelődve foglaltak helyet, s mint szerzők írják, a klinikai tünetek és a histológiai vonások nem hagytak kételyt a phaeochromocytoma diagnózis helyességét illetően. A jelenség a chromaffinsejt eredetű tumorsejtekben aberrans, neuronalis irányú, kóros differenciálódás jeleként értékelhető.

A *Yokoyama* és *Takayashu* (1969) által a phaeochromocytomák egyik sejttípusára jellegzetes vonásként leírt nagyobb vacuolák mellett számos tumorsejtben a sejthártya közelében megfigyelhetők apró, sima felszínű,

roblastomákban és ganglioneuroblastomákban (*Goodall* és *Stone* 1960; *Luse* 1964; *Gonzalez-Angulo* és *mtsai* 1965; *Staley* és *mtsai* 1967; *Beltran* és *mtsai* 1969; *Greenberg* és *mtsai* 1969; *Rosenthal* és *mtsai* 1969; *Yokoyama* és *Takayasu* 1969; *Itoh* és *Ohmori* 1973), carotis test tumorban (*Grimley* és *Glenner* 1967; *Toker* 1967; *Macadam* 1969) és jugularis glomus tumorban (*Gejrot* és *mtsai* 1963; *Balogh* és *mtsai* 1966; *Misugi* és *mtsai* 1968) írtak le. Előfordulhatnak még hasonló megjelenésű granulumok a pajzsmirigy parafollicularis sejtjeiből kiinduló medullaris carcinoma sejtjeiben, melynek granulumai calcitonin mellett serotonint is tartalmazhatnak, csakúgy, mint ahogy ezt nyomokban állati mellékvesevelő catecholamin tartalmú sejtjeiben is kimutatták (*Winkler* és *Smith* 1972). E tumorok közül gyakorlatban elsősorban a phaeochromocytomák, valamint neuroblastomák és ganglioneuromák közötti differenciáldiagnózis problémája merül fel. Ebben az ismert, jórészt eltérő klinikai és laboratóriumi leleteken (*Winkler* és *Smith* 1972) kívül, bizonyos mértékig a tumorszövet elektronmikroszkópos vizsgálata is segítségünkre lehet. Mindenekelőtt jól megállapított tény az, hogy a neuroblastomák és ganglioneuroblastomák sejtjeiben a catecholaminszerű granulumok sokkal kisebb számban vannak jelen. Emellett e tumorokban a szokványos nagyságú és megjelenésű granulumokon kívül számos, előbbieknél jóval nagyobb, változó alakú, nagyságú és elektrondenzitású, gyakran nagy aggregatumokat alkotó granulumok is jelen vannak. Ezeket nagy valószínűséggel a secretiós granulumok gyors degradációja manifesztációjának tartják, mely a sejtek éretlensége, s bizonyos enzimekben való elégtelensége következtében jönne létre, s a tároló képesség zavarait tükrözi. Emellett a szóban forgó neuralis tumorokban dendritszerű nyúlványokat és synapsisszerű struktúrákat is többnyire meg lehet figyelni (*Luse* 1964; *Misugi* és *mtsai* 1968). Megfigyeltek még e tumorokban, éspedig mind a bennük talált neuritekben, mind pedig az axonalis végkészülékszerű struktúrákban nagyszámú, kis, 40—150 nm átmérőjű világos, elektronáteresztő vesiculákat is (*Misugi* és *mtsai* 1968).

Mindenesetre tény, hogy a daganatok e sajátos csoportja különösen biológiai viselkedésének jobb megismerése és a differenciál-diagnosztikai lehetőségeink javítása érdekében e tumorok szekréciós aktivitásának további, lehetőleg biokémiai és elektronmikroszkópos módszerek kombinált alkalmazásával történő tanulmányozására lenne szükség, mely klinikusok és elméleti szakemberek szoros együttműködését igényli.

Összefoglalás

Szerzők ismertetik a normális emberi mellékvese kéreg- és velőállományának finomszerkezeti vonásait. Leírják a különböző klinikai szindrómák (Conn, Cushing szindróma) hátterében álló mellékvesekéreg hyperplasia és a

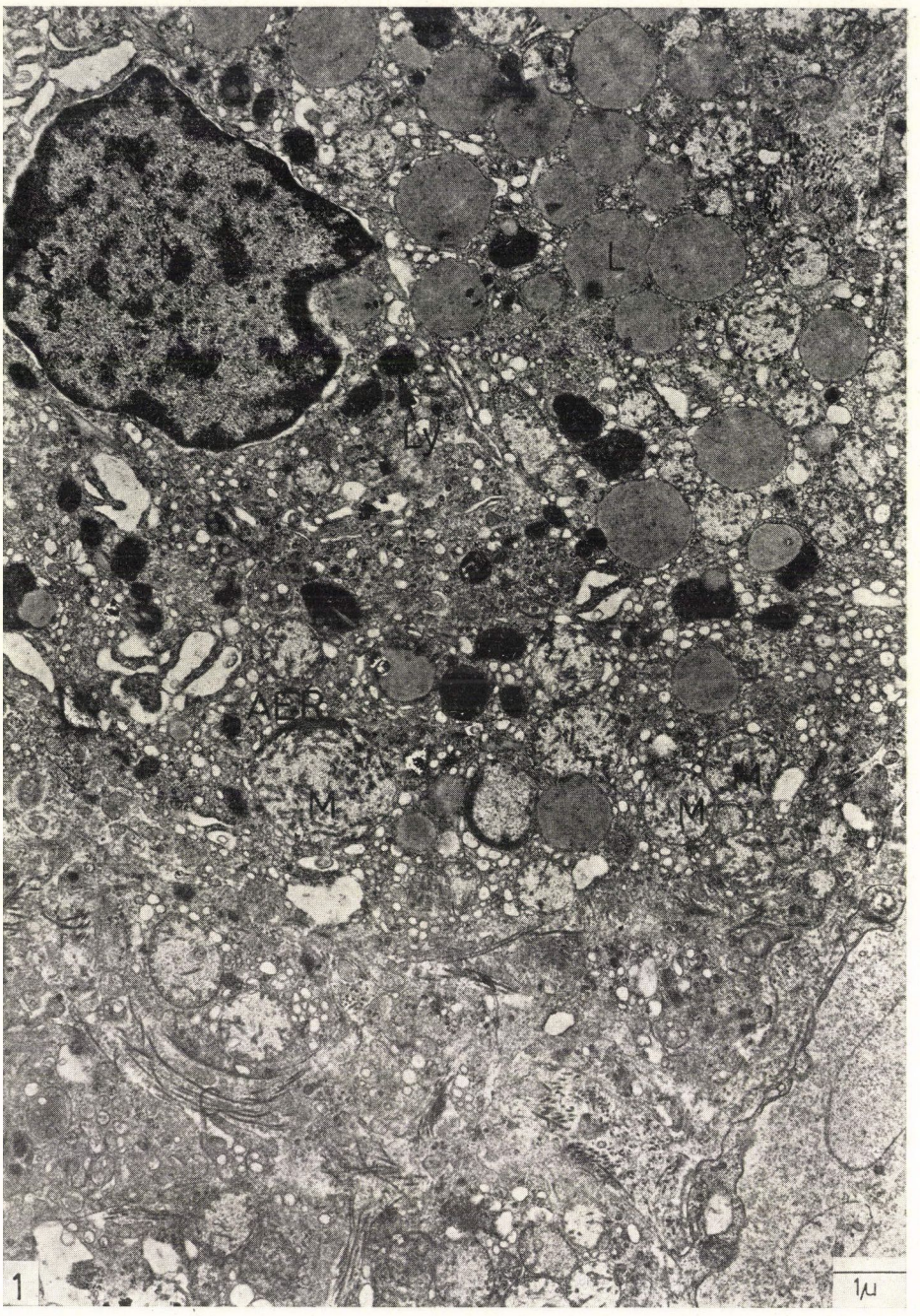
kéreg hormontermelő daganatainak ultrastrukturális vonásait. Ismertetik a mellékvese velőállomány adrenalin és noradrenalin tartalmú sejtjeinek elkülönítő vonásait; a chromaffin sejtek életcikulusának funkcionálisan eltérő szakaszait tükröző tároló és secernáló sejttípus finomszerkezeti jegyeit. Leírják és bemutatják a mellékvese velő beidegzésére vonatkozó megfigyeléseket, a secretio mechanizmusára utaló subcellularis elváltozásokat. Leírják a chromaffin sejtekből kiinduló phaeochromocytomák és phaeochromoblastomák ultrastrukturális vonásait, a daganatsejtek subcellularis architektúrájában tükröződő differenciálódási zavarokat. Összefoglalják az elektronmikroszkópos vizsgálat differenciál-diagnosztikai jelentőségét a phaeochromocytomáknak és phaeochromoblastomáknak az ugyancsak catecholaminokat termelő neuroblastomáktól, ganglioneuromáktól és chemodektomáktól való elkülönítésében. Hangsúlyozzák a klinikusok, endokrinológusok és elektronmikroszkópos specialisták szorosabb együttműködésének fontosságát a mellékvese eredetű daganatok biológiai sajátságainak jobb megismerése, a differenciál-diagnosztikus lehetőségek javítása érdekében.

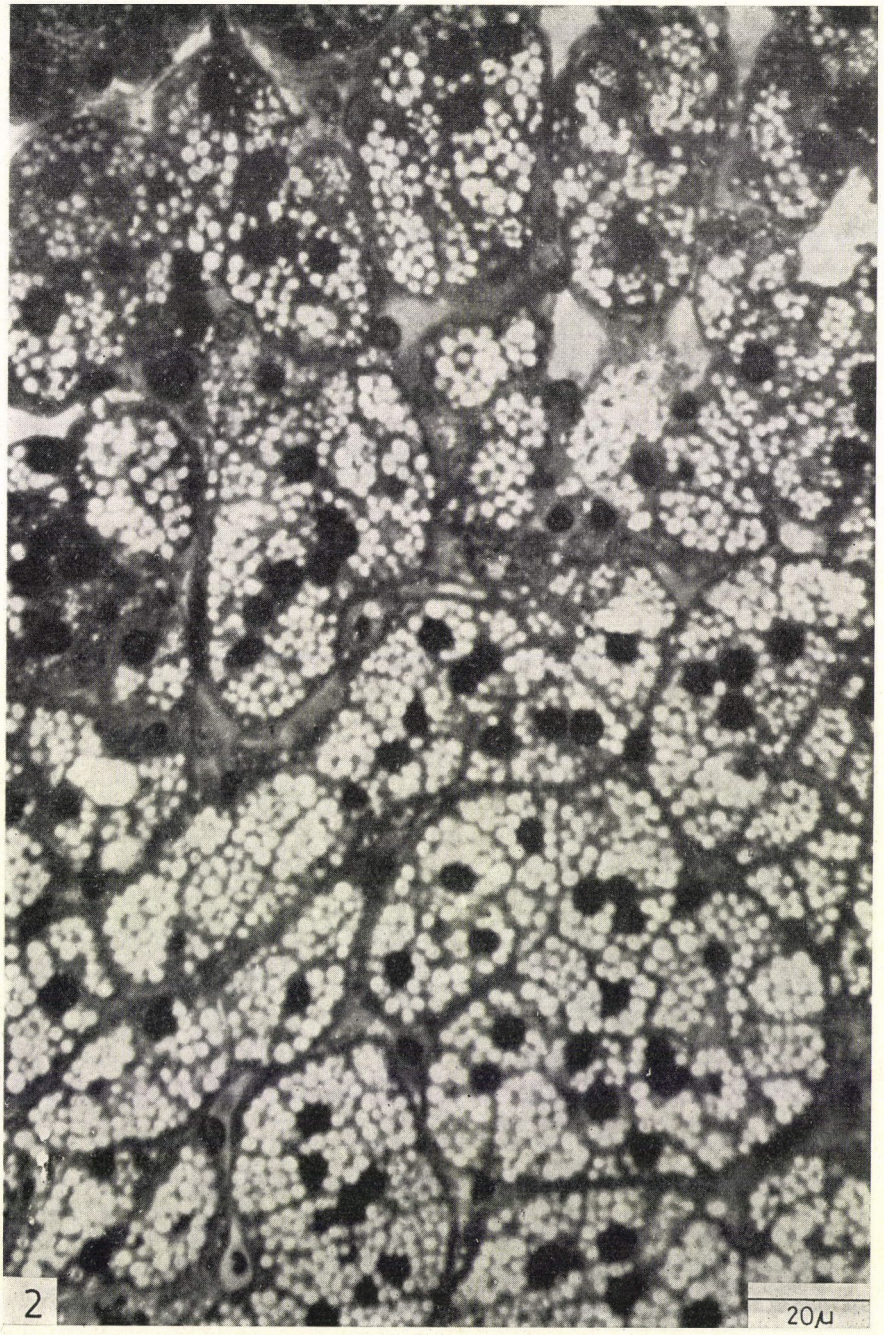
IRODALOM

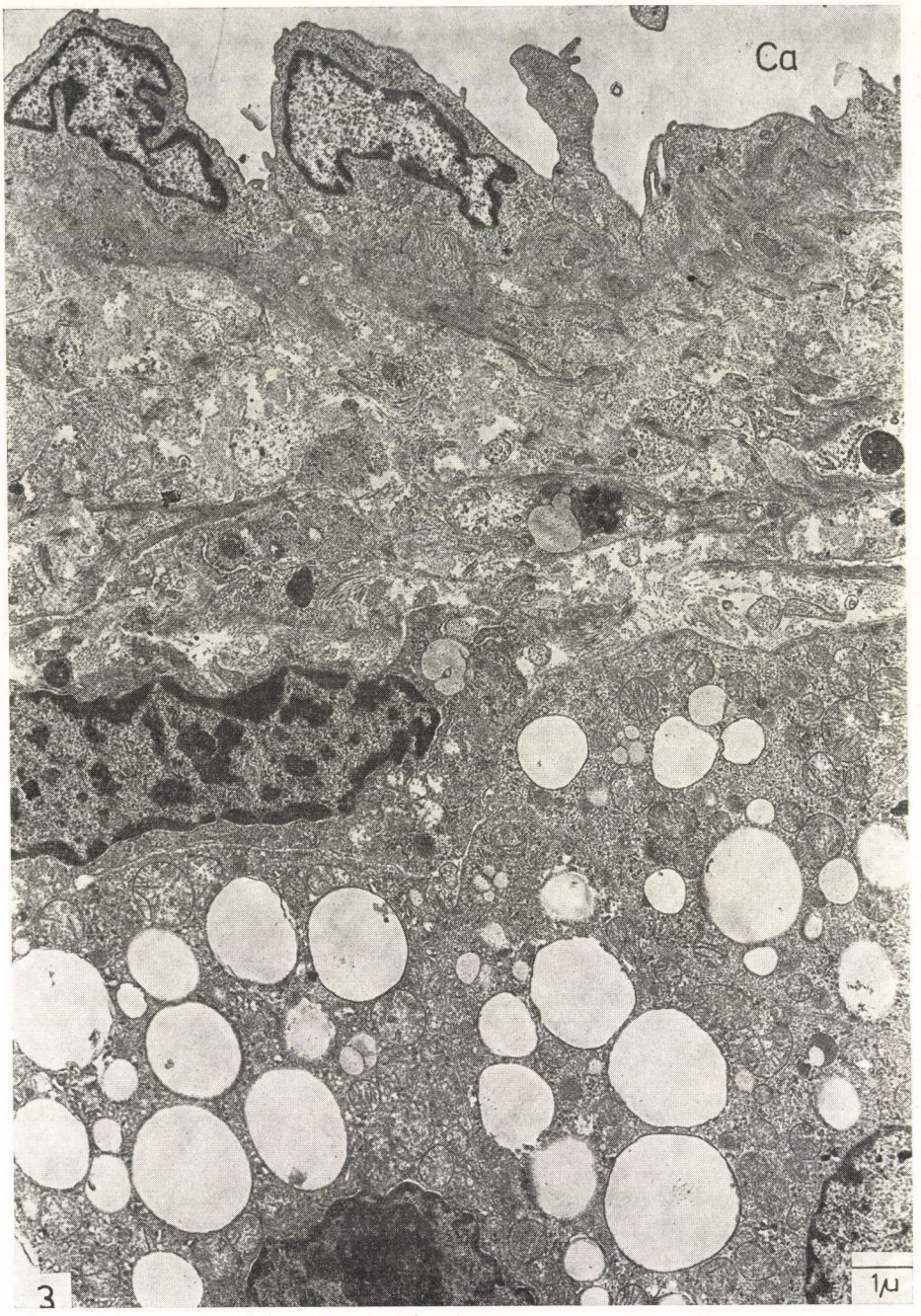
Albores-Saavedra, J., Maldonado, M. C., Ibarra, J., Rodriguez, H. A.: Cancer, **23,** 1110 (1969).
Arnold, J.: Arch. Pathol. Anat. Physiol. Klin. Med. **35,** 64 (1866).
Balogh, K. Jr., Draskoczy, P. R., Caulfield, J. B.: Amer. J. Path. **48,** 40A (1966).
Bässler, R., Habighorst, L. V.: Beitr. path. Anat. **130,** 446 (1964).
Beltran, G., Leiderman, E., Stuckey, W. J., Ferrans, V. J., Mogabgab, W. J.: Cancer, **24,** 552 (1969).
Benedeczky, I., Lapis, K.: Beitr. path. Anat. **137,** 403 (1968).
Benedeczky, I., Puppi, A., Tigyi, A., Lissák, K.: Nature **209,** 592 (1966).
Blaschko, H., Jerrome, D. W., Robb-Smith, A. H. T., Smith, A. D., Winkler, H.: Clin. Sci. **34,** 453 (1968).
Blaschko, H., Welch, A. D.: Arch. exp. Path. Pharmak. **219,** 17 (1953).
Bloom, F. E.: Electron Microscopy of Catecholamine-Containing Structures. *In:* Handbuch der experimentellen Pharmakologie. New Series. XXXIII. Catecholamines. (Eds.: H. Blaschko and E. Muscholl) Springer Verlag, Berlin—Heidelberg—New York, Chapter 3. pp. 46—78. (1972).
Brown, W. J., Barajas, L., Latta, H.: Anat. Rec. **169,** 173 (1971).
Brown, W. J., Barajas, L., Waisman, J., De Quattro, V.: Cancer, **29,** 744 (1972).
Carmichael, S. W., Smith, D. J.: Experientia, **30,** 1459 (1974).
Cavallero, C.: Chir. triven. **4,** 115 (1964).
Cervós-Navarro, J., Bayer, J. M., Käser, H.: Virch. Arch. Abt. A. Path. Anat. **361,** 51 (1973).
Cervós-Navarro, J., Tonutti, E., Garcia-Alvarez, F., Bayer, J. M., Fritz, K. W.: Endocrinologie **49,** 35 (1965).
Cornog, J. L., Wilkinson, J. H., Arvan, D. A., Freed, R. M., Sellers, A. M., Barker, C.: Amer. J. Med. **48,** 654 (1970).
Coupland, R. E.: The natural history of the chromaffin cell. London, Longmans. pp. 180—213 (1965).
Coupland, R. E.: J. Anat. **99,** 231 (1965).
Coupland, R. E., Pyper, A. S., Hopwood, D.: Nature, **201,** 1240 (1964).
Coupland, R. E., Weakley, B. S.: J. Anat. (Lond.) **102,** 425 (1968).
Crout, J. R., Sjoerdsma, A.: J. clin. Invest. **43,** 94 (1964).
Cushing, H., Burt, W. S.: Amer. J. Path. **3,** 203 (1927).
De Lellis, R. A., Merk, F. B., Deckers, P., Warren, S., Balogh, K.: Cancer, **32,** 227 (1973).
Elfvin, L-G.: J. Ultrastruct. Res. **12,** 263 (1955).
Eränko, O.: Acta physiol. scand. Suppl. **25,** 22 (1951).

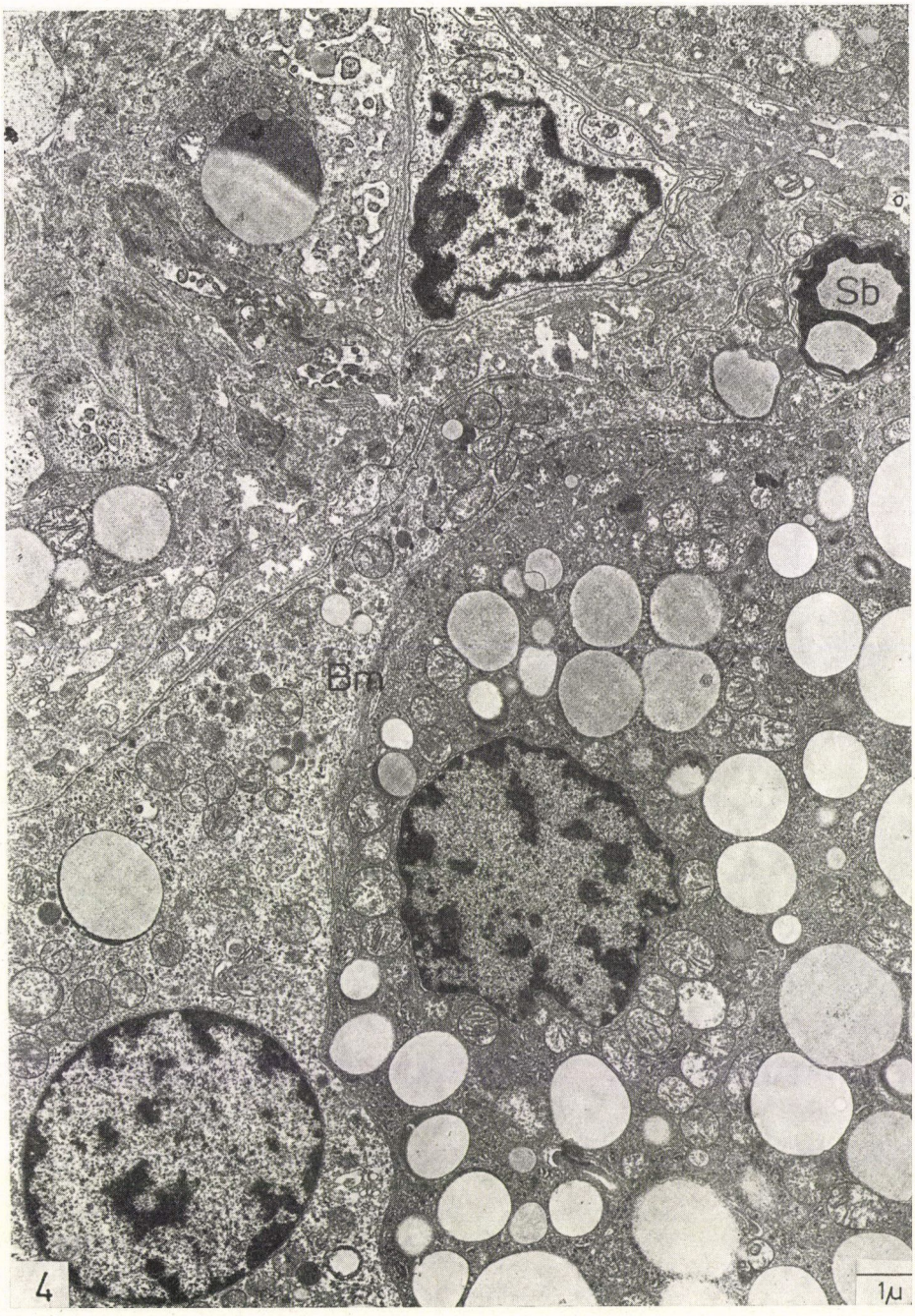
Gasser, G., Kühböck, J., Obiditsch-Mayer, I.: Wien Z. Iun. Med. **46,** 217 (1965).
Gejrot, T., Lagerlöf, B., Wersäll, J.: Acta oto-laryng. (Stockh.) Suppl. **188,** 220 (1963).
Geyer, G., Haschek, H., Schimatzek, A., Leibl, W.: Wien. Klin. Wschr. **83,** 258 (1971).
Gonzalez-Angulo, A., Reyes, H. A., Reyna, A. N.: Neurology, **15,** 242 (1965).
Goodall, Mc C., Stone, C.: Ann. Surg. **151,** 391 (1960).
Greenberg, R., Rosenthal, I., Falk, G. S.: J. Neuropath. exp. Neurol. **28,** 475 (1969).
Grimley, P. M., Glenner, G. G.: Circulation **37,** 648 (1968).
Grimley, P. M., Glenner, G. G.: Cancer, **20,** 1473 (1967).
Hermann, H., Mornex, R.: Human tumours secreting catecholamines. Oxford, Pergamon Press (1964).
Herxheimer, G.: Beitr. path. Anat. **57,** 112 (1913).
Hillarp, N.—A., Hökfelt, B.: Acta physiol. scand. **20,** 55 (1953).
Huang, S. N., McLeish, W. A.: Cancer, **21,** 302 (1968).
Itoh, T., Ohmori, K.: J. Lab. and Clin. Med. **81,** 887 (1973).
Kirschnev, A. M., Powel, R. D., Lipsett, M. B.: J. Clin. Endocr. Metabol. **24,** 947 (1964).
Kleinschmidt, A., Schümann, H. J.: Neunyn-Schmiedeberg Arch. exp. Path. Pharmak. **241,** 260 (1961).
Kovács, K., Horváth, E., Delarue, N. C., Laidlaw, J. C.: Hormone Res. **5,** 47 (1974).
Kracht, J., Bayer, J. M.: Acta Endocr. (Kbh.) Suppl. **152,** 95 (1971).
Laumonier, R., Marche, C., Marche, J.: Ann. Anat. path. **13,** 137 (1968).
Lauper, N. T., Tyce, G. M., Sheps, S. G., Carney, J. A.: Amer. J. Cardiol. **30,** 197 (1972).
Lever, J. D.: Endocrinology, **57,** 621 (1955).
Lever, J. D., Lewis, P. R., Boyd, J. D.: Anat. **93,** 478 (1959).
Luse, S.: Fine structure of adrenal cortex. *In:* The adrenal cortex. (Ed.: A. B. Eisenstein). Boston, Little, Brown and Co. (1967).
Luse, S A.: Arch. Neurol. **11,** 185 (1964).
Luse, S. H.: Electron microscopic observations on the adrenal gland. *In:* The Adrenal Cortex. (Ed.: H. D. Moon). New York, Hoeber Inc., (1961). Chapter 3. pp. 46—69.
Macadam, R. F.: J. Pathol. **99,** 101 (1969).
Macadam, R. F.: Cancer, **26,** 1300 (1970).
Mackay, A.: Atlas of human adrenal cortex ultrastructure. *In:* Functional pathology of the human adrenal gland. (Ed.: T. Symington). Livingstone, Edinburgh—London, 1969.
Misugi, K., Misugi, N., Newton, W. A. Jr.: Arch. Path. **86,** 160 (1968).
Mitschke, H., Saeger, W., Breustedt, H. J.: Virch. Arch. A. **360,** 253 (1973).
Mitschke, H., Saeger, W., Donath, K.: Virch. Arch. A. **353,** 234 (1971).
Mohr, Von U., Althoff, J., Kinzel, V., Goerttler, K.: Exp. Path. **3,** 153 (1969).
Morita, R., Lieberman, L. M., Bierwaltes, W. H., Conn, J. W., Ansari, A. N., Nishiyama, H.: J. Clin. Endocr. **34,** 36 (1972).
Nagatsu, T., Levitt, M., Udenfriend, S.: J. biol. Chem. **249,** 2910 (1964).
Nagatsu, T., Zamamoto, T., Nagatsu, T.: Biochim. Biophys. Acta (Amsterdam) **198,** 210 (1970).
Neville, A. M., Symington, T.: Cancer, **19,** 1854 (1966).
Oliva, H., Usera, G.: Ann. Anat. path. (Paris) **19,** 287 (1974).
Page, L. B., Jacobi, G. A.: Medicine (Baltimore) **43,** 379 (1964).
Phillips, J. H.: Biochem. J. **144,** 311 (1974).
Propst, A.: Beitr. path. Anat. **131,** 1 (1965).
Ratzenhofer, M., Auböck, L.: Beitr. path. Anat. **137,** 36 (1968).
Reidbord, H., Fisher, E. R.: Arch. Path. **88,** 155 (1969).
Ribadeau Dumas, J. L., Poirier, J.: La Nouv Presse méd. **2,** 2105 (1973).
Richardson, K. C.: J. Anat. **96,** 427 (1962).
Rosenthal, I. M., Greenberg, R., Goldstein, R., Kathan, R., Cadkin, L.: Amer. J. Dis. Child. **112,** 389 (1966).
Rosenthal, I. M., Greenberg, R., Kathan, R., Falk, G. W., Wong, R.: Pediat. Res. **3,** 413 (1969).
Ross, L. L.: J. Biophys. Biochem. Cytol. **6,** 253 (1959).
Roth, B. H., Stjärne, L., Levine, R. L., Giarman, N. J.: J. Lab. clin. Med. **3,** 397 (1968).
Sherwin, R. P.: Cancer, 12, 861 (1959).
Smith, U., Smith, D. S., Winkler, H., Ryan, J. W.: Science, **179,** 79 (1973).
Smith, D. J., VanOrden, L. S.: Neuropharmacology, **12,** 875 (1973).
Sommers, S. C., Terzakis, J. A.: Amer. J. Clin. Path. **54,** 303 (1970).
Staley, N. A., Polesky, H. F., Bensch, K. G.: J. Neuropath. **26,** 634 (1967).
Sullivan, J. M.: Arch. Surg. **104,** 130 (1972).
Symington, T.: Functional pathology of the human adrenal gland. Livingstone, Edinburgh—London, 1969.

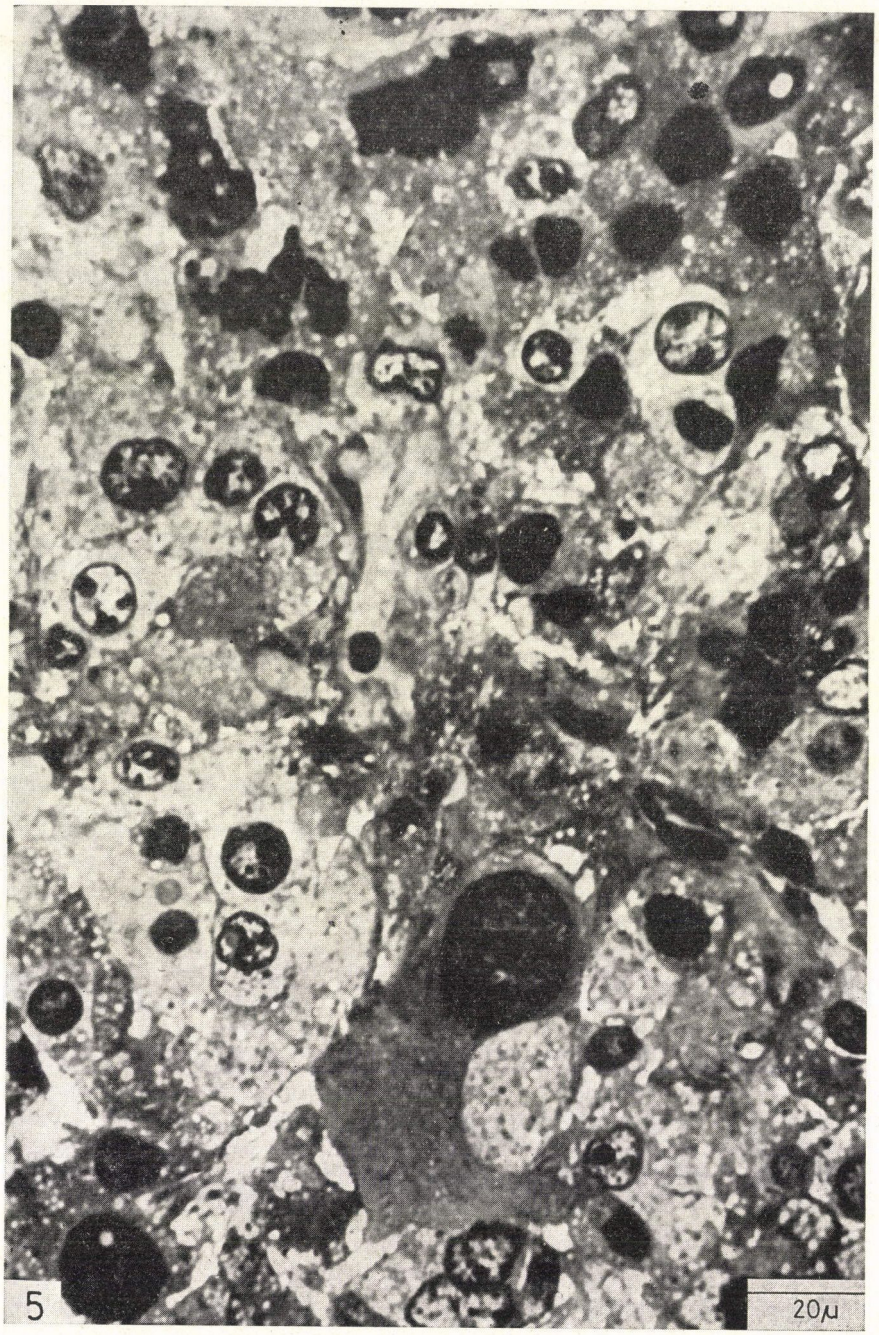
Szabó, D., Gyévai, A., Gláz, E., Stark, E., Péteri, M., Alánt, O.: Virch. Arch. A. Path. Anat. **367,** 273 (1975).
Széplaki, F., Benedeczky, I., Lapis, K., Cziráki, L., Merényi, I.: Magy. Belorv. Arch. **21,** 68 (1968).
Tannenbaum, M., Spiro, D., Lattimer, J. K.: Amer. J. Path. **48,** 48a (1966).
Tazaki, H., Murai, M., Baba, S.: Invest. Urol. **11,** 288 (1974).
Toker, C.: Cancer, **20,** 271 (1967).
Tramezzani, J. H., Chiocchio, S., Wassermann, F.: J. Histochem. Cytochem. **12,** 890 (1964).
Urushibata, K.: Nagoya J. Med. Sci. **34,** 27 (1971).
Wahl, H. R., Craig, P. E.: Amer. J. Path. **14,** 797 (1938).
West, G. B., Shephard, D. M., Hunter, R. B., MacGregor, A. R.: Clin. Sci. **12,** 317 (1953).
Winkler, H.: Phil. Trans. Roy, Soc. Lond. B. **261,** 293 (1971).
Winkler, H., Smith, A. D.: Phaeochromocytoma and Other Catecholamine-Producing Tumours. *In:* Handbuch der experimentellen Pharmakologie. New Series. XXXIII. Catecholamines. (Eds.: H. Blaschko and E. Muscholl). Springer-Verlag Berlin—Heidelberg—New York, 1972. Chapter 20, pp. 900—933.
Wood, J. G., Barrnett, R. J.: J. Histochem. Cytochem. **12,** 197 (1964).
Yokoyama, M., Takayasu, H.: Urol. int. (Basel) **24,** 79 (1969).
Yokoyama, M., Tokue, A., Takayasu, H.: An electron microscopic study of the human adrenal medulla and pheochromocytoma. Electron Microscopy, Vol. 2. pp. 541—542. Maruzen, Tokyo, 1966.

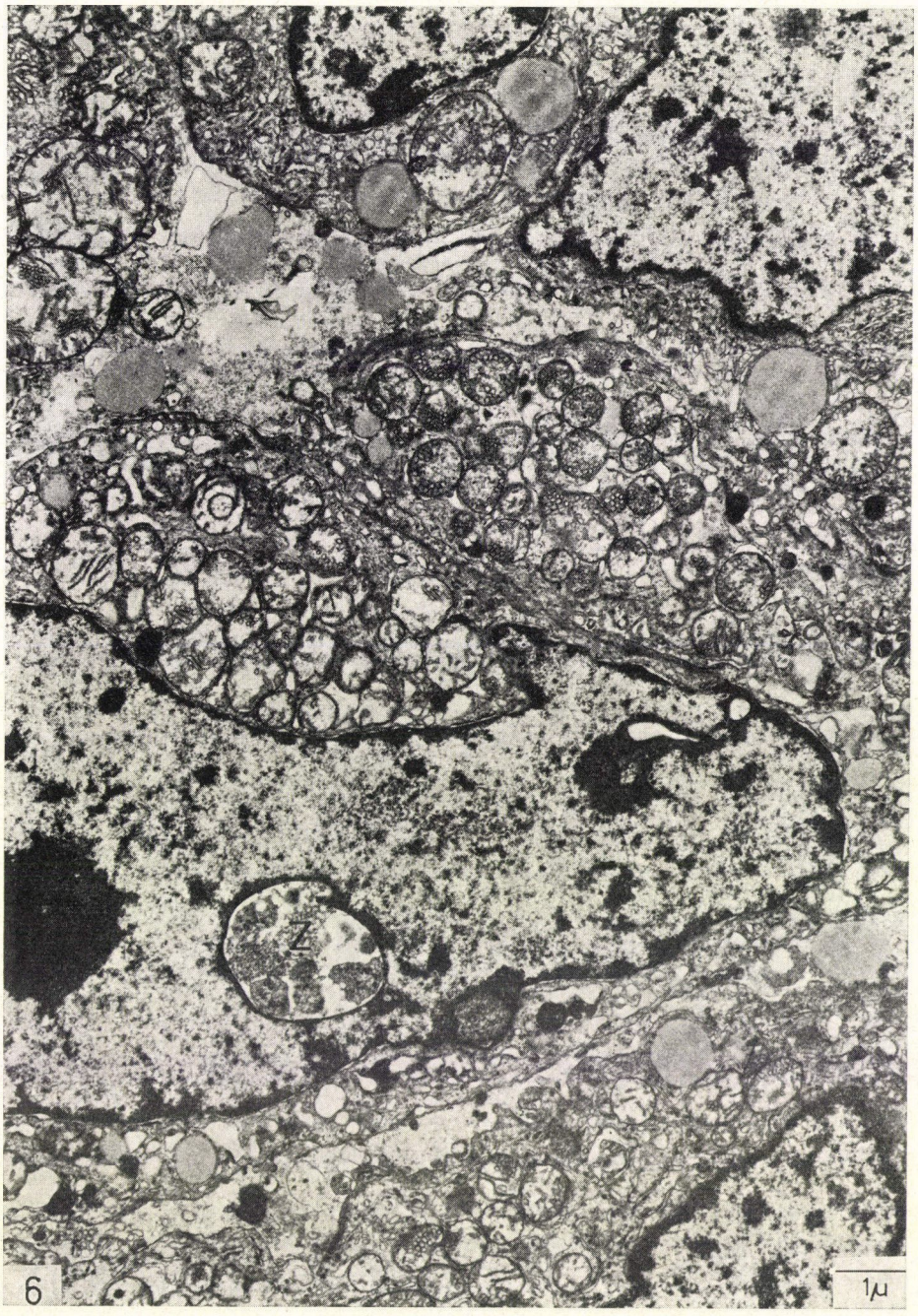

L
M
M
M
1
1μ

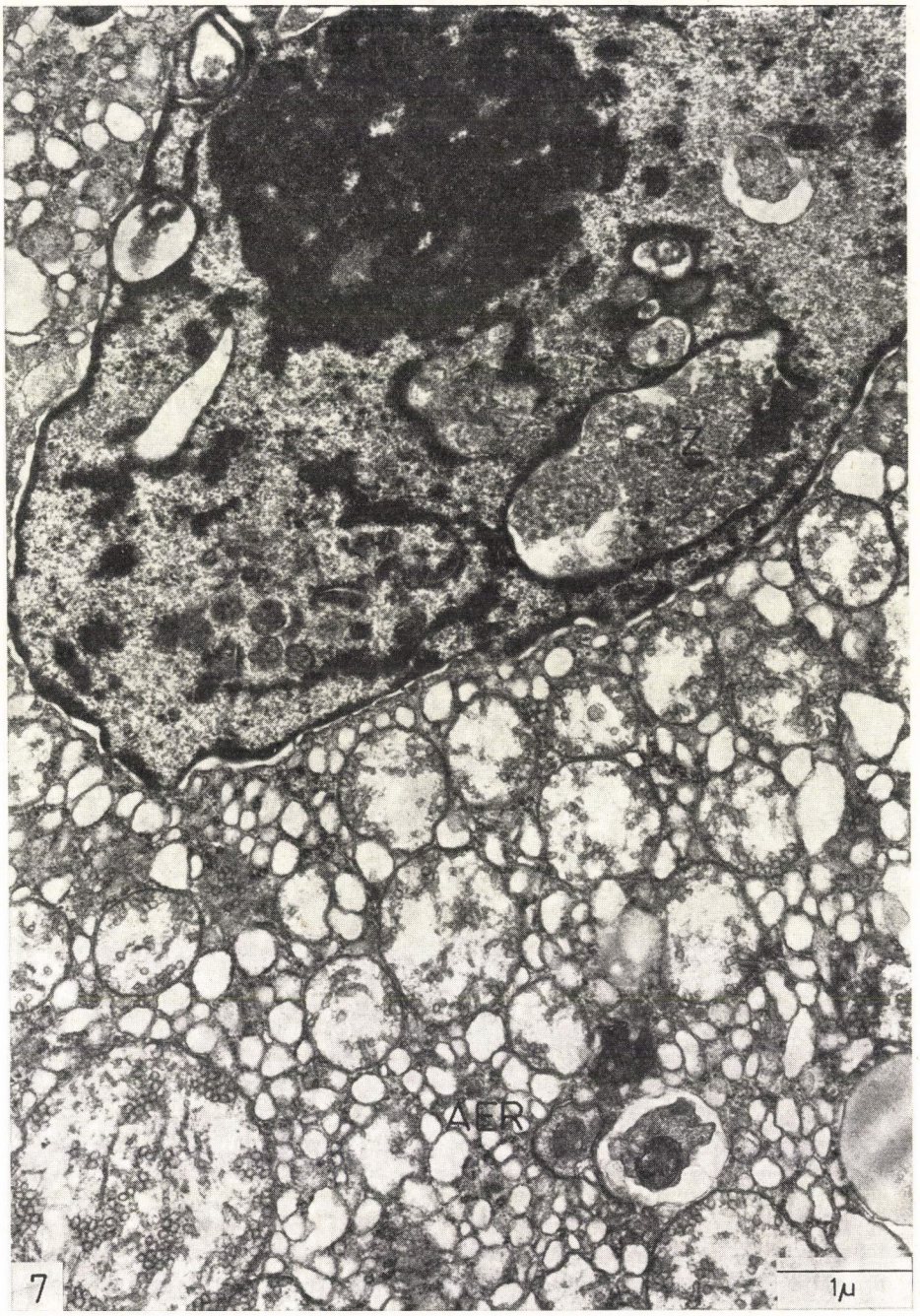

2
20μ

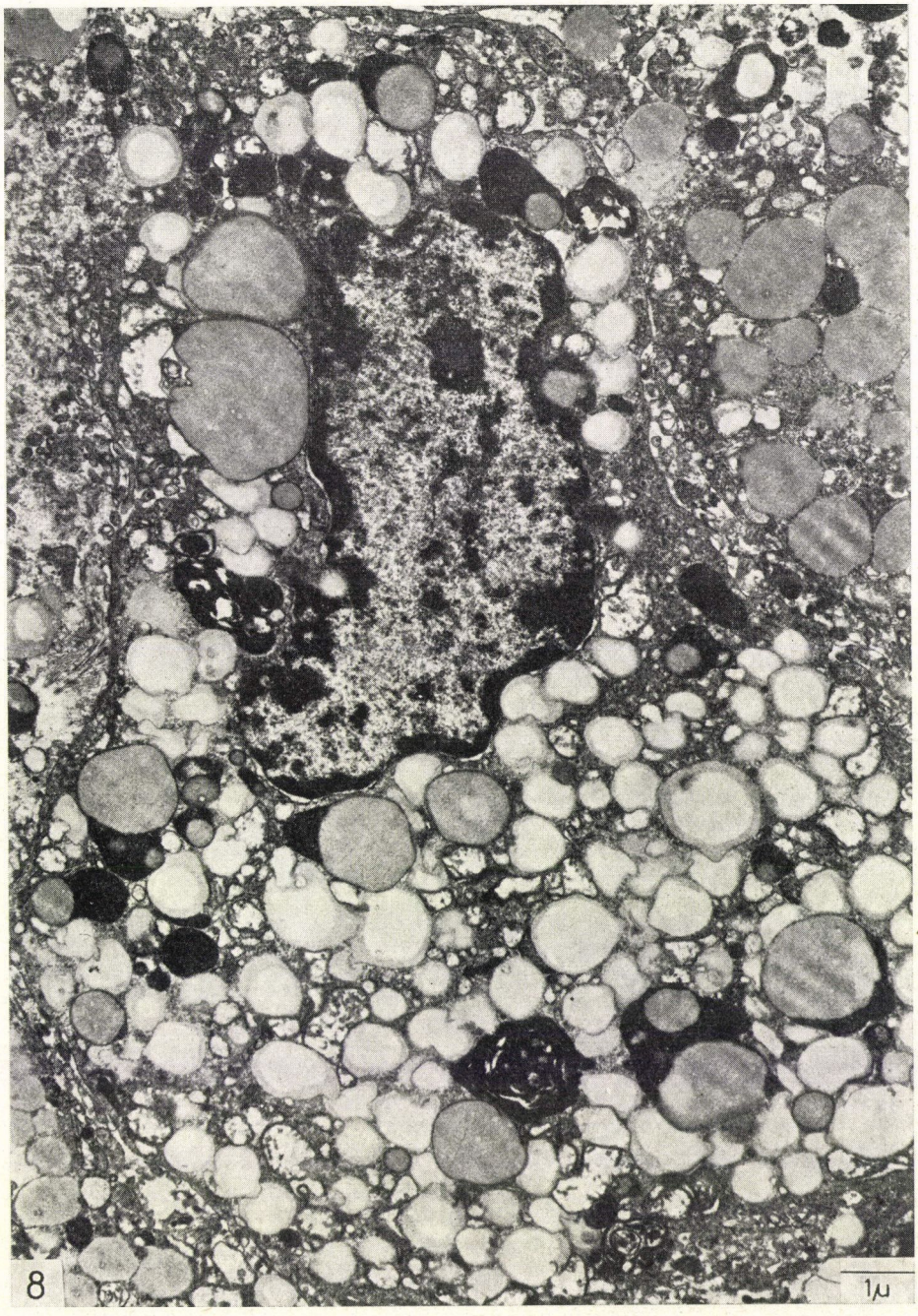

Ca
3
1/μ

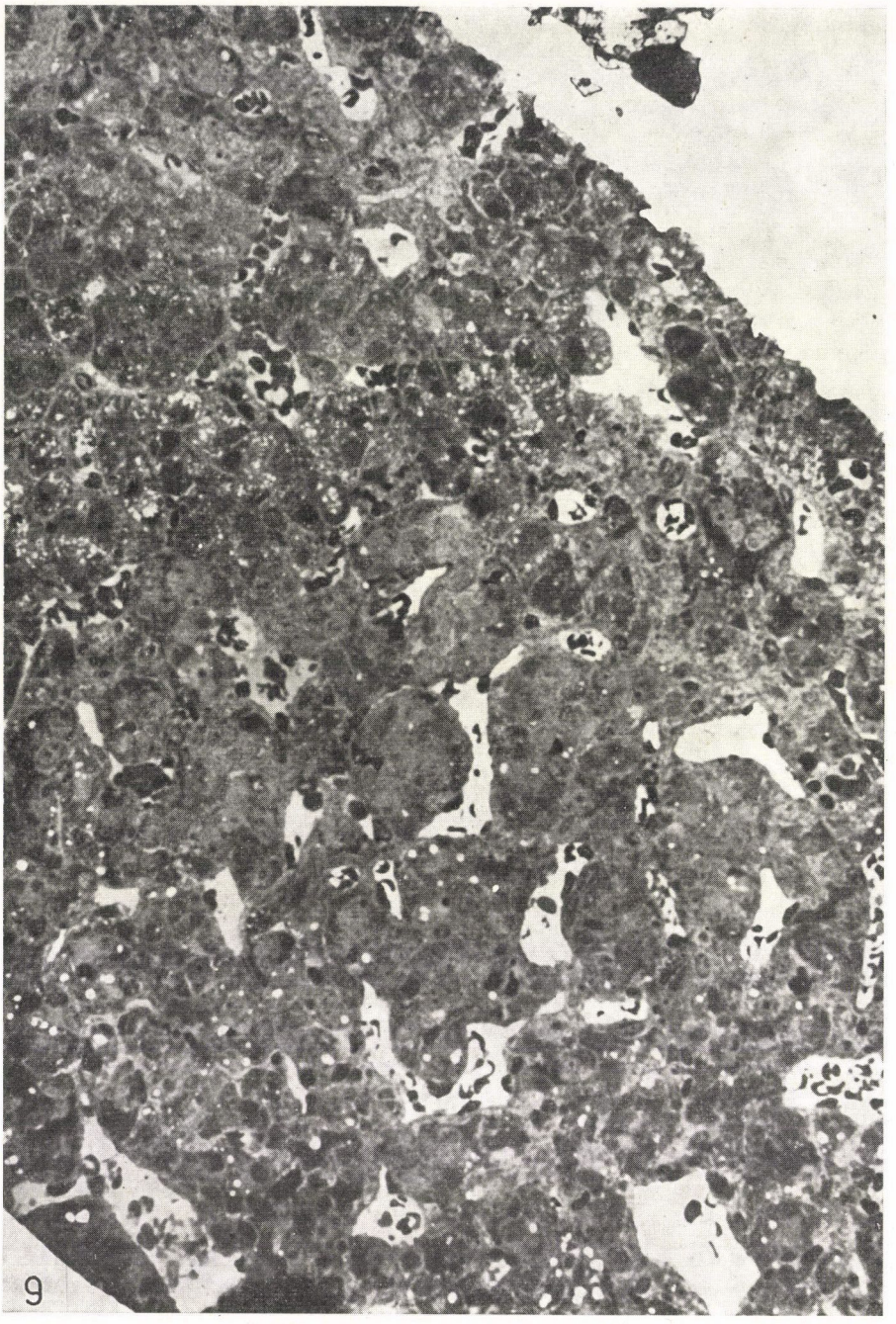

Sb
Bm
4
1μ

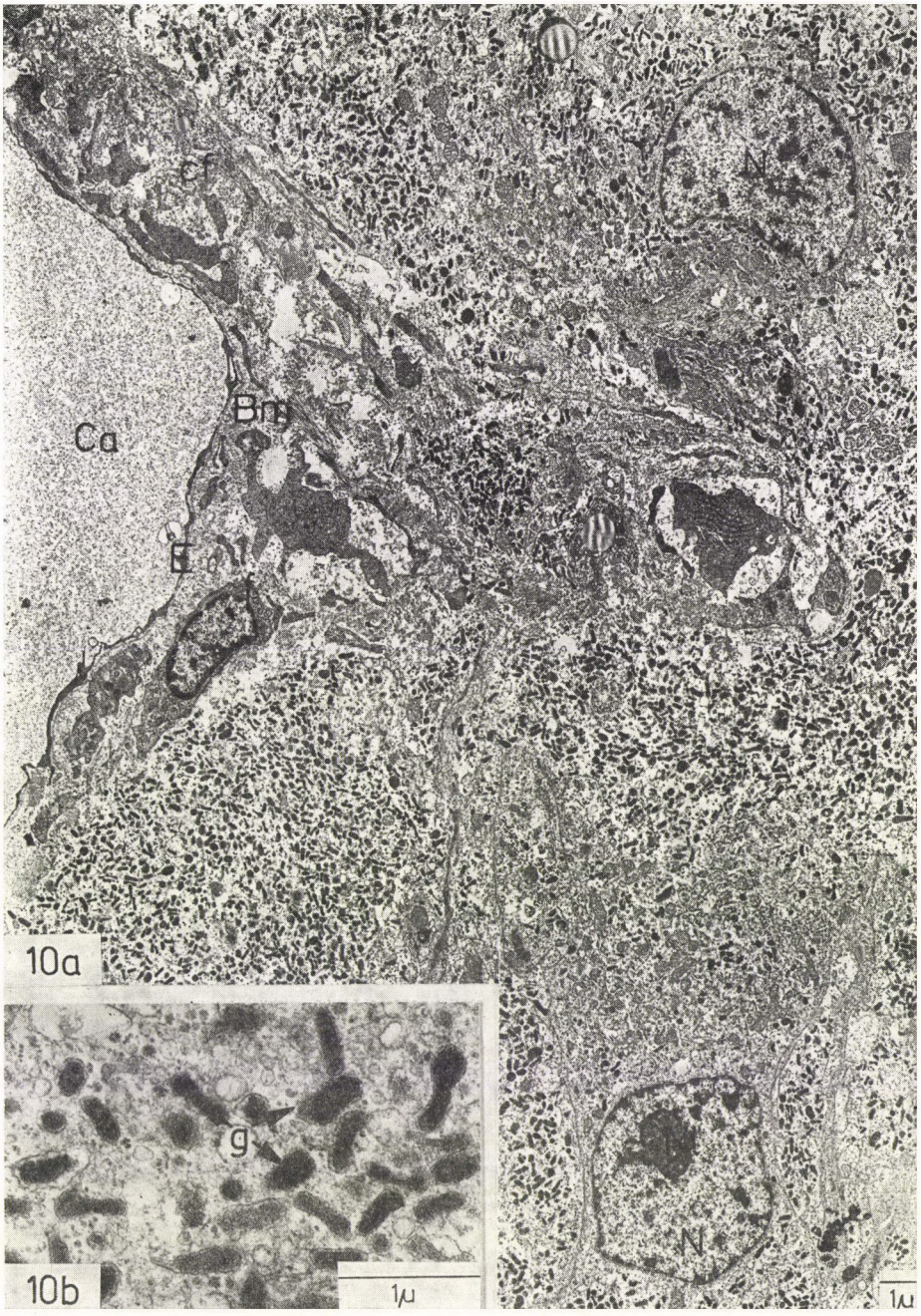

5
20μ


Z
6
1μ


Z
AER
7
1μ

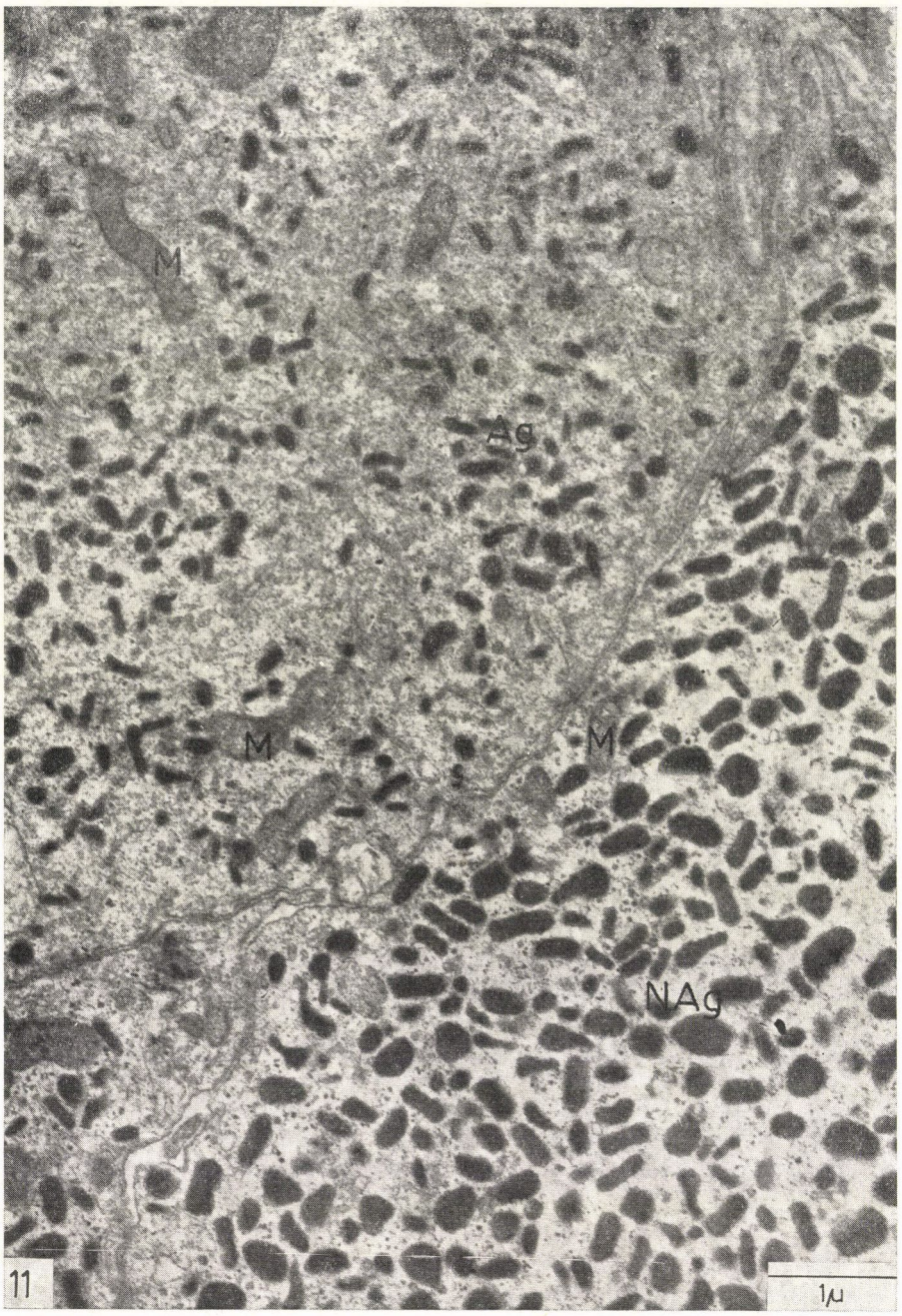

8
1μ

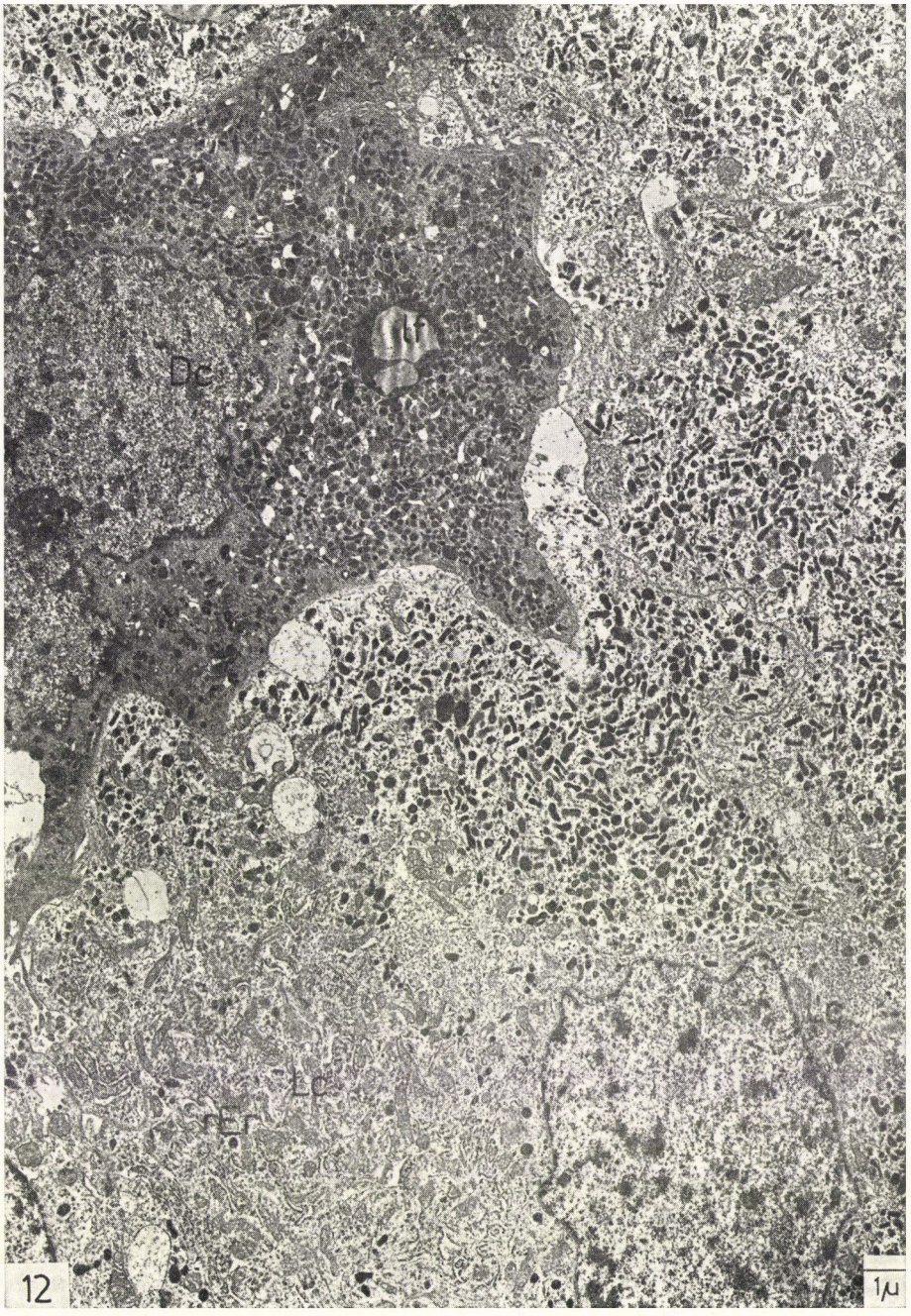

9

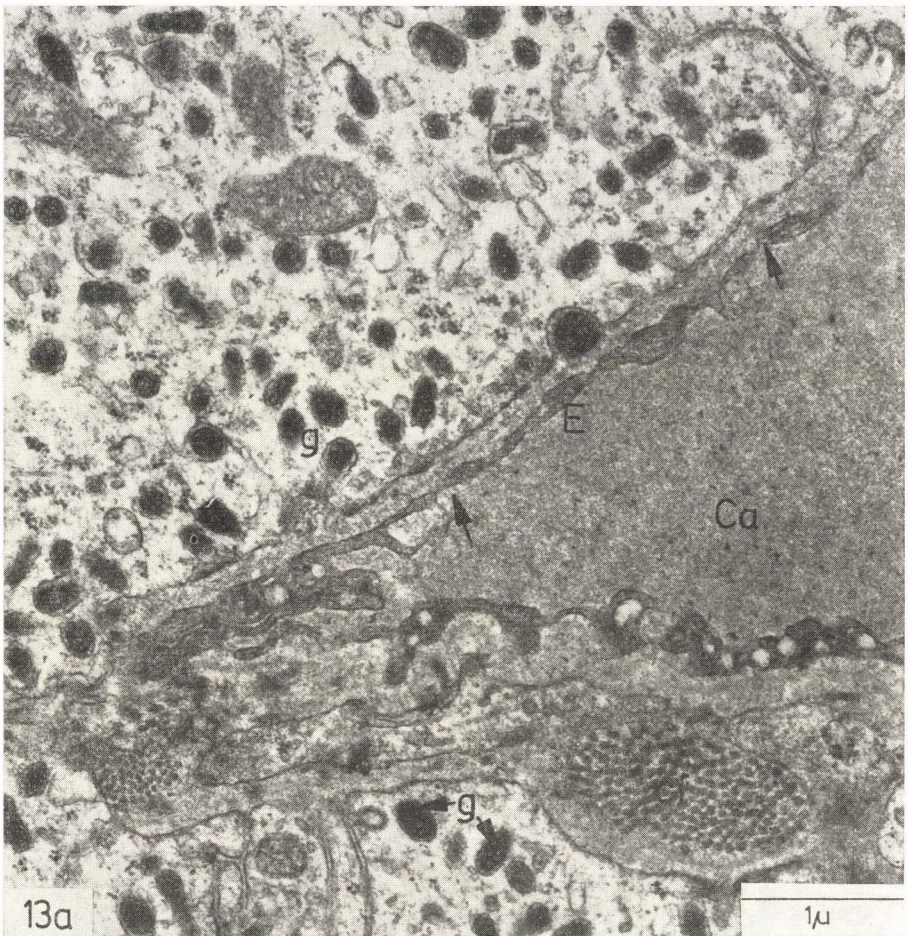


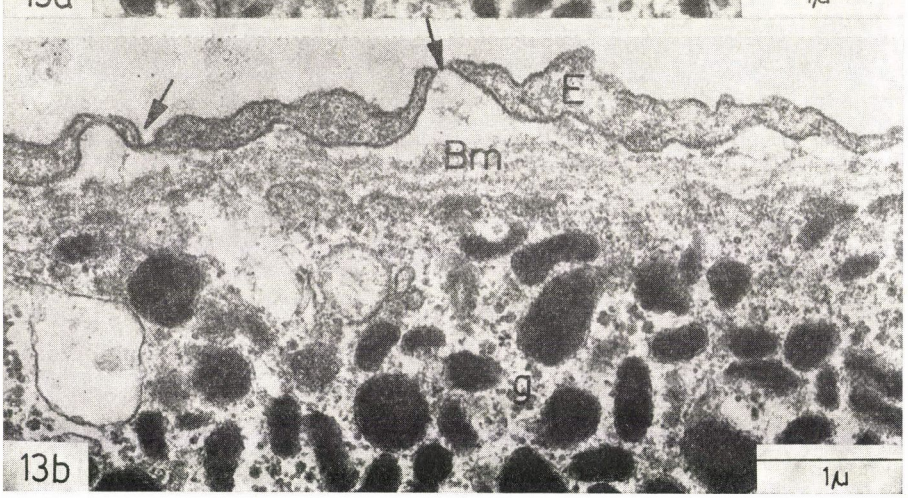
10a

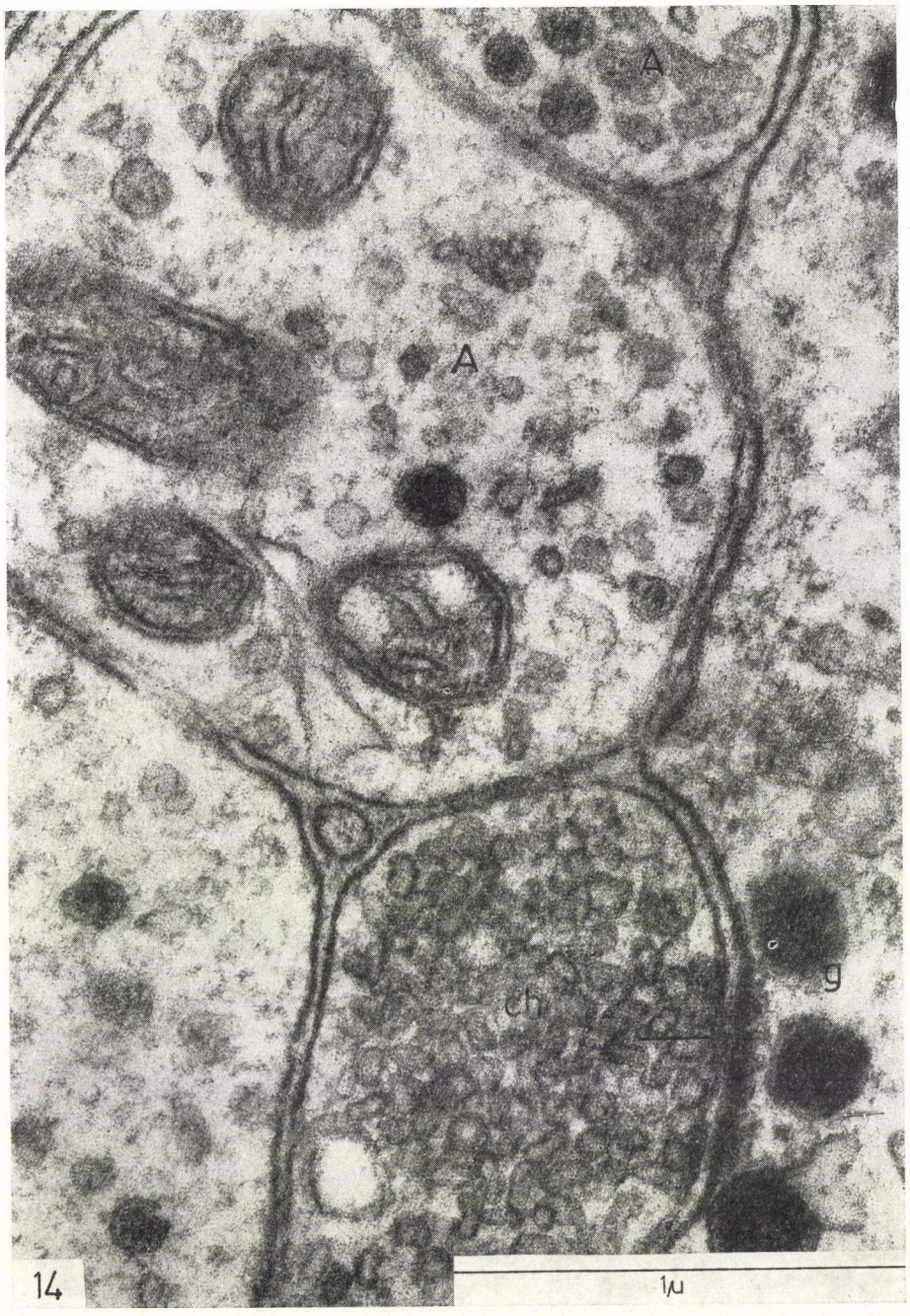
10b


M
Ag
M
M
NAg
11
1μ

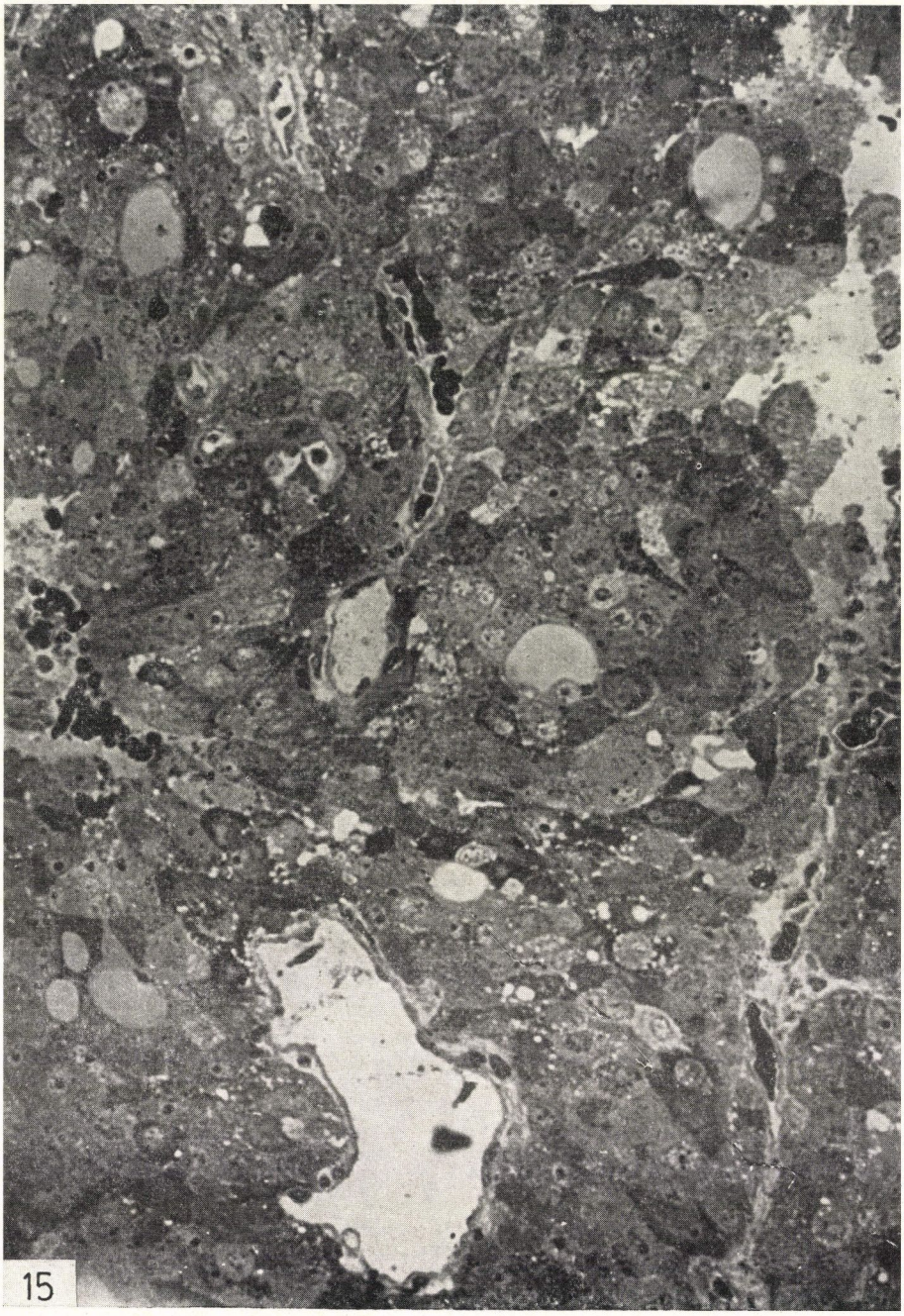

Dc
Lc
rER
12
1μ

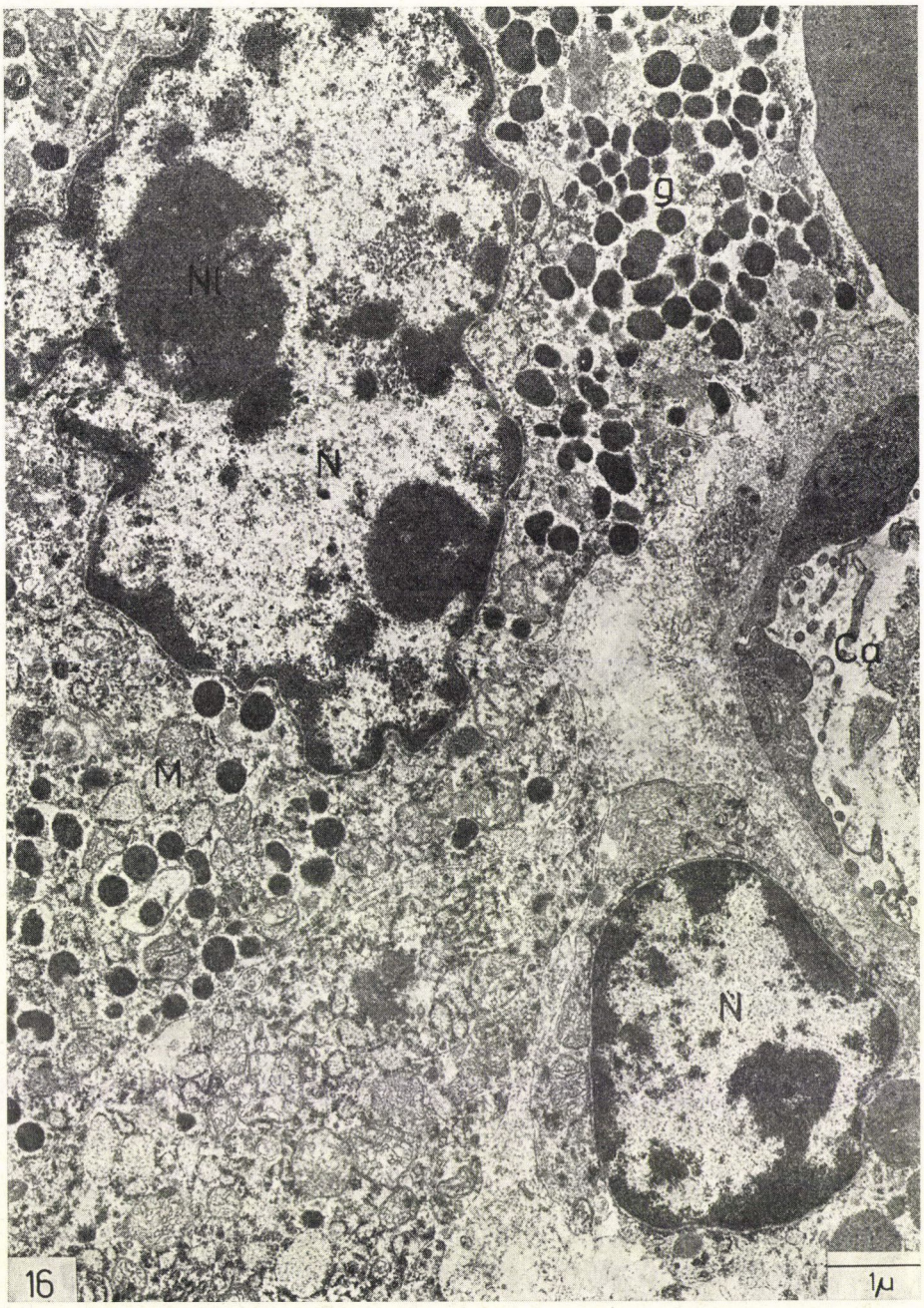

g
E
Ca
g
13a
1µ

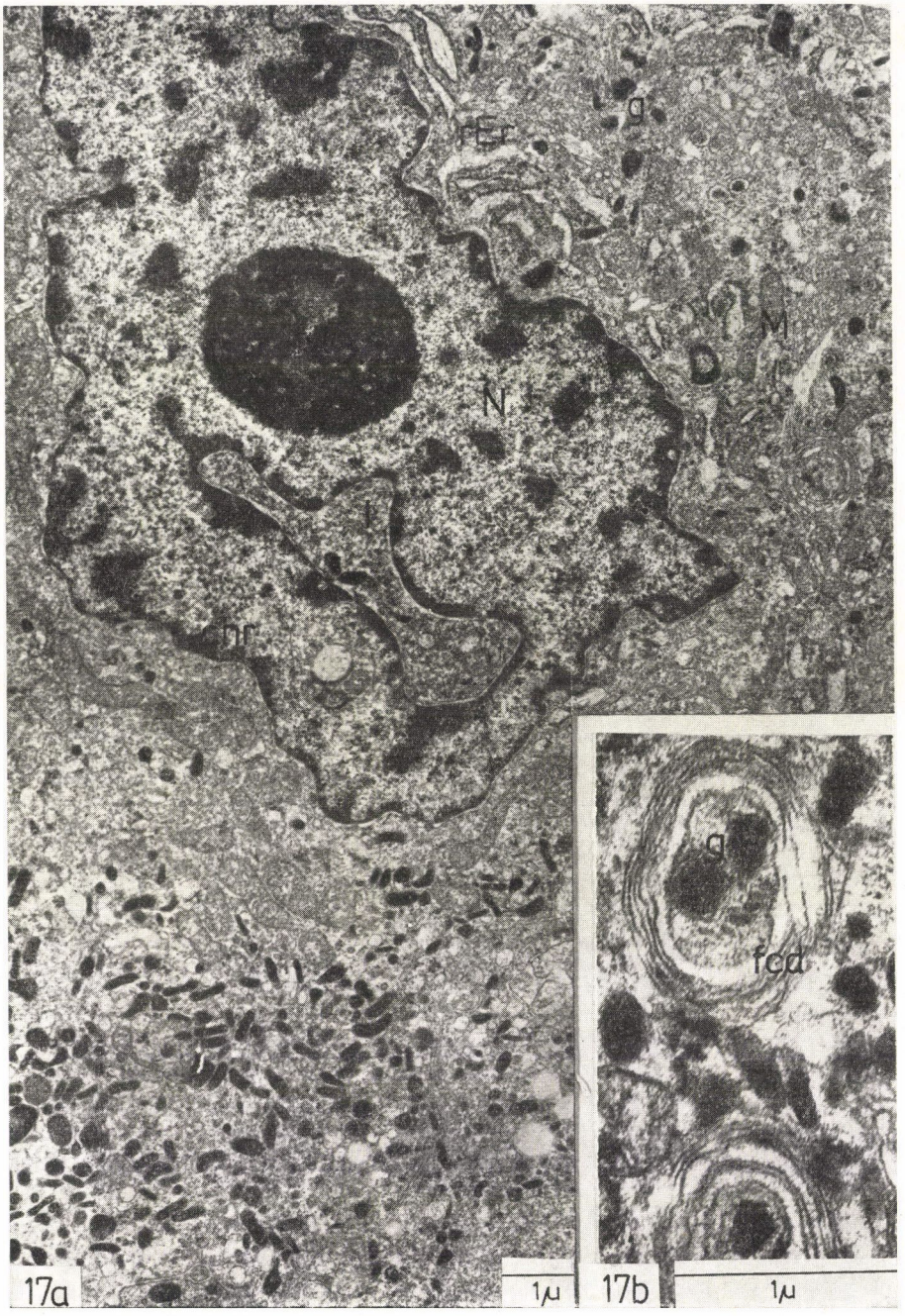

E
Bm
g
13b
1µ



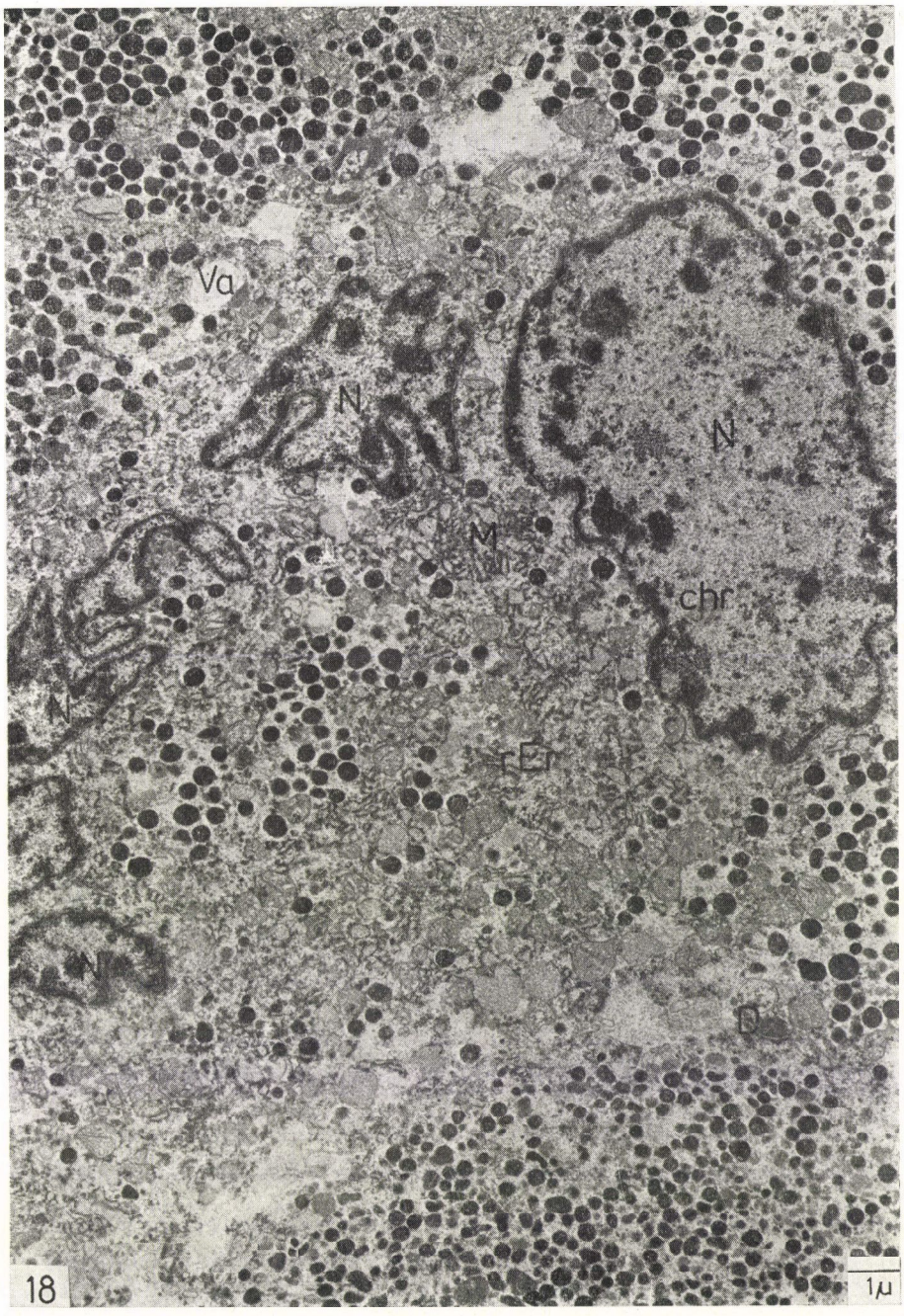
14

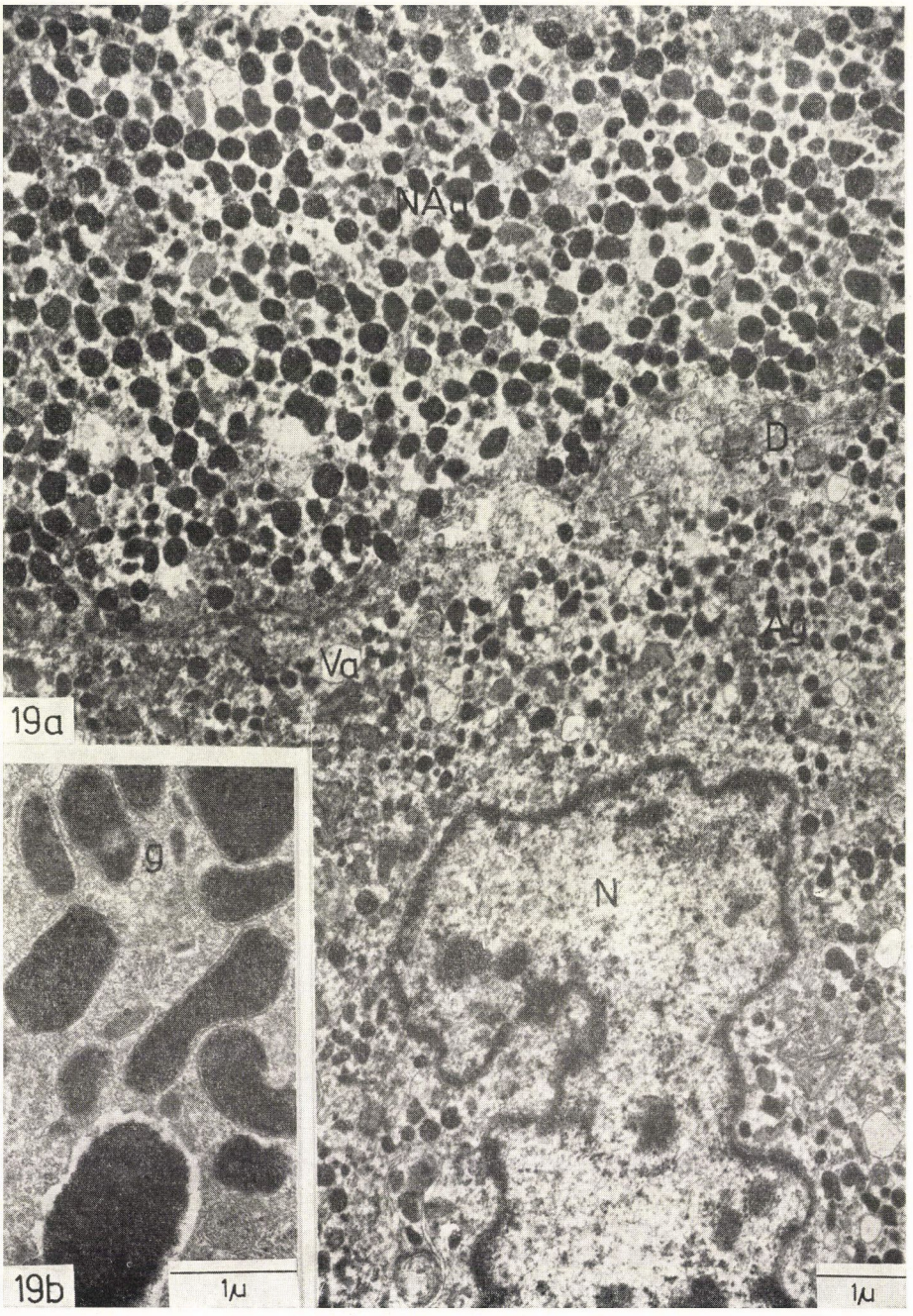

15

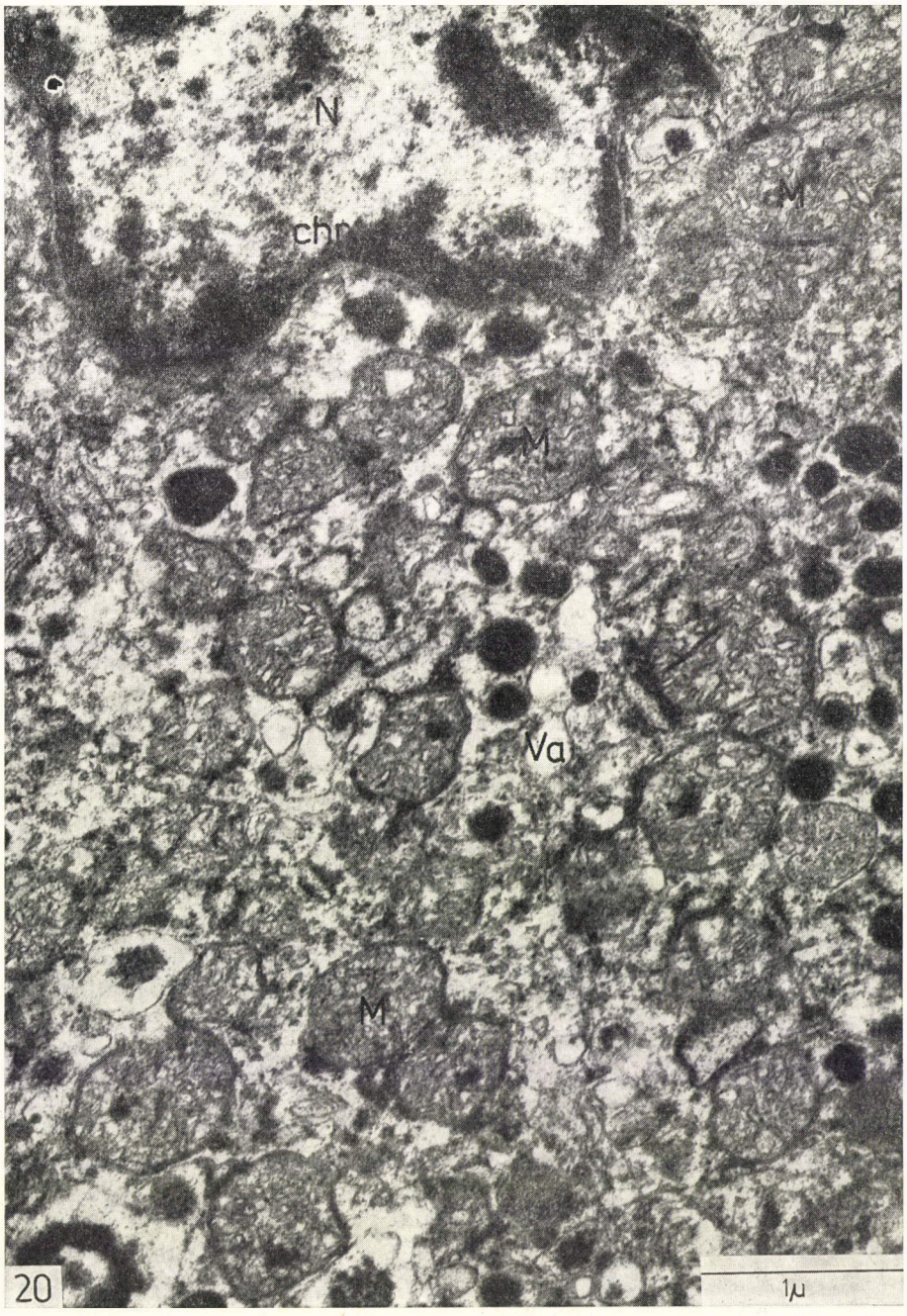

g
Nl
N
Cg
M
N
16
1μ



17a 17b


Va
N
N
M
chr
N
ER
N
D
18
1μ


NAd
D
Ag
Va
19a
g
19b
1µ
N
1µ



20

Az 1—8. ábrán látható metszetek kettősen rögzített (4,5% glutaraldehyd és 1% OsO_4) anyagból készültek. Az 1. 3. 4. 6. 7. és 8. ultravékony metszeteket uranilacetáttal és lúgos ólomcitráttal kontrasztoztuk. A 2. és 5. félvékony metszeteket toluidin-kékkel festettük.

1. ábra: Emberi normális mellékvesekéreg. Sejtrészlet külső zóna fasciculatában. Az ultravékony metszetben, chromatinban gazdag mag (N) környezetében, közepes mennyiségben lipid cseppek (L) és lysosomák (Ly) láthatók. A mitochondriumok (M) többsége spherikus, tubulovesicularis vagy vesicularis belső szerkezetű. Kiterjedt agranularis endoplazmás reticulum (AER) és kevés collagen (C) található. ×9800

2. ábra: Conn szindrómában észlelt adenoma félvékony metszete. Lipidgazdag (világos sejtek) élesen körülhatárolt csoportjai láthatók. A csoportokon belül a sejtmembránok szerkezete nem kivehető. ×800

3. ábra: Conn szindrómában észlelt adenoma ultravékony metszetében megfigyelhető, hogy a capillarist (Ca) a lipidgazdag parenchyma sejtektől kötőszöveti elemekben gazdag terület választja el. ×7500

4. ábra: Az előző metszet más területén jól kivehető a sejtek közötti basalis membrán (Bm). Az egyik sejtben osmiophil membranózus test (Sb) (spironolacton body) látható. ×7100

5. ábra: Cushing szindrómában észlelt mellékvesekéreg carcinoma félvékony metszete. Szembetűnő a magok pleomorphizmusa, valamint a sejtek alakjának, méretének és festődésének változatossága. ×800

6. ábra: Az előző esetből származó ultravékony metszet. A sejtek sok mitochondriumot és kevés lipidet tartalmaznak. Egyes magok erősen megnagyobbodtak és zárványokat (Z) tartalmaznak. A sejtek körül nincs basalis membrán. ×10 500

7. ábra: Az előző metszet más területéről származó sejt erősebb nagyítású felvételén, a magzárványok (Z) szerkezete és a hypertrophizált és dilatált AER látható. ×17 200

8. ábra: Sok lipidcseppet és elektrondenz testet tartalmazó sejtek Cushing szindrómát okozó mellékvesekéreg carcinomában. ×8400

* A 9—20. ábrák mindegyike kettősen rögzített anyagból készült. 2,5% glutaraldehyd és 4% Formol aa keverékében történő rögzítést 2% OsO_4-ben való utórögzítés követte. A metszeteket uranilacetáttal és Reynolds szerint kontrasztoztuk.

9. ábra: (212) Félvékony toluidin kékkel festett metszet 33 éves, Buerger-kórban szenvedő beteg mellékveséjéből. Az ábrán túlnyomórészt a mellékvese velőállománya látható. A polygonális kromatin sejtek kötegekbe rendeződve tág capillaris-sinusoidok körül helyezkednek el. ×300

10/a. ábra: (100917) Az ábrán emberi mellékvesevelő-állomány részlete figyelhető meg. A velőállományt felépítő chromaffin sejtek cytoplazmája zsúfolásig telt osmiophil, elektrondenz, kerekded, ovális, catecholamin tartalmú granulumokkal. A chromaffinsejtek tág capillaris (Ca) sinusoid körül helyezkednek el. A capillaris endothel bélése (E) mentén folytonos basalmembrán (Bm) figyelhető meg, a capillaris fal és a chromaffin sejtek közötti keskenyebb-szélesebb térben fibroblastok (f) és collagen fibrillumok (cf) láthatók. N = Sejtmag, Nl = magvacska. ×4180

10/b. ábra: (101313) Normál emberi mellékvese chromaffin sejtjeiből catecholamin tartalmú granulumok (g). A granulumok kerekded, ovoid, olykor szabálytalan alakú képletek. Elektrondenz szemcsés, core állományukat elektronáteresztő zóna választja el a határoló unit membrántól. ×19 920

11. ábra: (28698) Normális emberi mellékvesevelő chromaffin sejtjeinek cytoplazma részlete. Glutaraldehid és osmiumtetroxid kettős rögzítés mellett a noradrenalin (NAg) és az adrenalin (Ag) tartalmú granulumok jól elkülöníthetők. A granulumok között mitochondriumok (M) figyelhetők meg. ×18 550

12. ábra: (100919) Normál emberi mellékvesevelő. Az ábrán sötét (Dc) és világos (Lc) típusú chromaffin sejtek láthatók. Mind a sötét, mind az egyik világos chromaffin sejt cytoplazmája bőségesen tartalmaz elektrondenz, catecholamin granulumokat. Megfigyelhető az ábrán granulumokban szegény, chromaffinsejt részlete is, melynek cytoplazmája durva felszínű endoplasmás reticulumban (rEr) gazdag. A sötét sejt cytoplazmájában a catecholamin granulumok mellett lipofuscin (lf) is megfigyelhető. ×5440

13/a. ábra: (88118) Hörcsög mellékvesevelő részlete* 250 mg/kg guanetidin kezelést követően. A capillaris (Ca) mentén több chromaffin sejt foglal helyet. A capillarist határoló endothel (E) sejt számos ponton erősen fenestrált (→). Vele szemben a chromaffin szemcse extruziója, azaz exocytosisa figyelhető meg. A plazmamembrán omega alakú bemélyedésében membrán nélküli, nagy denzitású, granulum substantia foglal helyet. A capillaris körül nagy mennyiségű collagen (cf) is megfigyelhető. A chromaffin sejtekben változó denzitású, secretios granulumok (g) foglalnak helyet. ×20 100

13/b. ábra: (101547) Emberi mellékvesevelő részlete, capillaris és chromaffin sejtek viszonya. A capillaris endothel (E) sejteken szakaszosan fenestratio (→) figyelhető meg. A chromaffin sejt és a capillaris endothel bélése között a basalmembrán (Bm) jellegű anyag több rétegben helyezkedik el. A chromaffin sejt részletében elektrondenz catecholamin tartalmú granulumok (g). ×22 100

14. ábra: (77305) Normál aranyhörcsög mellékvesevelő beidegzése.* Az ábrán catecholamin tartalmú secretios granulumokat (g) tartalmazó chromaffin sejthez szorosan illeszkedő cholinerg (ch) idegvégződés látható. Jól látható a synapticus kapcsolat is (→). Az idegvégződésben nagyszámú, ún. üres, synapticus vesicula foglal helyet. A synaptisaló idegvégződésben csak ez az egy típusú synapticus vesicula fordul elő. A vele szomszédos axonokban (A) főleg denz core típusú synapticus vesiculák és mitochondriumok láthatók. Ezek egyike sem synaptizált a chromaffin sejttel. ×60 000

* Dr. Benedeczky István felvételei, az ábrák rendelkezésre bocsátásáért szerzők ezúton is köszönetet mondanak.

15. ábra: (121) Emberi mellékvesevelő eredetű phaeochromocytoma részlete, félvékony metszetben. A polygonális daganatsejtek fészkes elrendeződésben figyelhetők meg, a tumorszövet gazdagon vascularizált. Egyes tumorsejt cytoplasmájában fénymikroszkóposan is szemcsék, granulumok figyelhetők meg. ×275

16. ábra: (101512) Az ábrán daganatsejt és capillaris (Ca) viszonya látható. A tumorsejt közepes mennyiségű catecholamin tartalmú, változó nagyságú, denz granulumot (g) tartalmaz. Emellett a cytoplazmában mitochondriumok (M) és főként vesicularis típusú durva felszínű endoplazmás reticulum állomány figyelhető meg. A magfelszín karélyozott, a chromatin állomány marginizált, s sejtmagban (N) nucleolus (Nl). ×8580

17/a. ábra: (99355) Emberi mellékvese eredetű phaeochromocytoma részlete. Egy közepes mennyiségű, változó alakú és nagyságú catecholamin granulumot tartalmazó sejt részlete. Feltűnő a magfelszín karélyozottsága, és a magállományban mélyre terjedő cytoplazmatikus invaginátum (I). A magban (N) jól fejlett nucleolus és aggregált és marginizált chromatin (chr) állomány látható. A cytoplazmában a granulumok (g) mellett gazdag mitochondrium (M) állomány, kisebb-nagyobb vacuolák és viszonylag bőséges durva felszínű endoplazmás reticulumállomány (rEr) látható. ×8580

17/b. ábra: (101510) Mellékvesevelő eredetű phaeochromocytoma sejtjének részlete. Focalis cytoplazma degradáció (fcd), a catecholamin granulumokat (g) több rétegben membranosus struktúrák veszik körül, myelin figura jellegű képződmény szerkezetét utánozva. ×29 050

18. ábra: (101505) Mellékvesevelő eredetű humán phaeochromocytoma. Az ábrán erősen karélyozott, lebenyezett vagy többmagvú (N) daganatsejt részlete figyelhető meg. A sejtmagvak felszíne karélyozott, a chromatin állomány (chr) marginizált. A tumorsejt cytoplazmája kissé dezorganizált, elektrondenz, kerekded, catecholamin granulumok mellett a mitochondriumokon (M) és durva felszínű endoplazmás reticulumon (rEr) kívül megfigyelhetők membrántól határolt finomszemcsés, alacsony elektrondenzitású vacuolák (Va), melyek feltehetően a durva felszínű endoplazmás reticulum állomány tágult cysternáinak felelnek meg. A sejthatárok elmosódtak, de megfigyelhető desmosoma típusú (D) sejtkapcsoló struktúra. ×6480

19/a. ábra: (24637) Mellékvesevelő eredetű emberi phaeochromocytoma. Az ábrán megfigyelhető tumorsejtek közül az egyik zömében kisebb méretű, feltehetően adrenalin (Ag) tartalmú granulátumokat tartalmaz, míg a másik lényegesen nagyobb méretű és denzitású, feltehetően noradrenalin (NAg) tartalmú granulumokat tartalmaz túlnyomórészt. A két sejt között desmosoma (D) típusú sejtkapcsoló struktúra is megfigyelhető. A magot (N) is tartalmazó sejtrészletben a granulumok mellett több vacuola (Va) is megfigyelhető. ×11 700

19/b. ábra: (99091) Emberi phaeochromocytoma tumorsejtjének részlete. Az ábrán a granulumok (g) alak-, nagyságbeli változatossága és a granulum szerkezet figyelhető meg. A denz core granulum állományt keskeny, elektronáteresztő zóna választja el a határoló membrántól. Egyik granulum esetében a határoló membrán nem ismerhető fel. ×17 000

20. ábra: (24629) Emberi mellékvesevelő eredetű phaeochromocytoma. Az ábrán catecholamin granulumokban szegény tumorsejt részlete figyelhető meg. A mag (N) chromatin állománya (chr) marginizált, a cytoplazmában kevés catecholamin tartalmú granulum, több változó nagyságú kisebb-nagyobb vacuola (Va) és feltűnően nagyszámú mitochondrium (M) figyelhető meg. A felszaporodott mitochondrium állomány a sejtnek szinte oncocyta jelleget kölcsönöz. ×28 875

A kiadásért felel az Akadémiai Kiadó igazgatója. Műszaki szerkesztő: Salgó István
A kézirat nyomdába érkezett: 1977. V. 3. — Terjedelem: 12,25 (A/5) ív,

77.4480 Akadémiai Nyomda, Budapest — Felelős vezető: Bernát György

Ára: 27 Ft ISSN 0030—6045

TARTALOMJEGYZÉK

Zsebők Zoltán, Szlávy László és *Vadon Gábor:* A szelektív angiográfiás eljárásról 3

Felkai Dénes: A fejlődő országok egészségügye 25

Ralovich Béla, Malcolm Woodbine és *Manoucher Shahamat:* Minimál táptalaj Listeria törzsek vizsgálatához 43

Antoni Ferenc, Mandl József, Garzó Tamás és *Mészáros Károly:* Az izolált hepatocyták jelentősége a máj anyagcsere folyamatainak tanulmányozásában 57

Magyar Kálmán, Tekes Kornélia, Zólyomi Gábor és *Knoll József:* A para-bróm-metilamfetamin (V-111) sorsa a szervezetben 75

Lapis Károly és *Szabó Dezső:* A mellékvese daganatainak finomszerkezete 101

Megjelent: 1977. XII. 9.

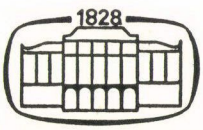
Index: 26.615

ORVOSTUDOMÁNY

SZERKESZTI: KNOLL JÓZSEF

28.
KÖTET

A MAGYAR TUDOMÁNYOS AKADÉMIA V. ORVOSI TUDOMÁNYOK OSZTÁLYÁNAK KÖZLEMÉNYEI



AKADÉMIAI KIADÓ, 1977

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

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.

AZ EMBER TESTI SZERVEZETÉNEK ÉS PSZICHIKUMÁNAK EGYMÁSRA HATÁSA ÉS EGYMÁSTÓL FÜGGÉSE

GEGESI KISS PÁL akadémikus

Közlésre érkezett: 1977. IV. 19.

Semmelweis Orvostudományi Egyetem I. sz. Gyermekklinika, Budapest

A testi szervezet (szomatikum) mint minden emberre általában érvényesen meghatározott morfológiai és működési rendszer, és *az emberi pszichikum* mint egyénileg kialakultan meghatározott funkcionális struktúra kölcsönösen egymásra hatását akkor lehet helyesen értelmezni, ha a két szisztéma egyedenkénti kialakulását és lényegi minkéntjét figyelembe vesszük.

I. A szomatikum

A korszerű tudomány felhasználva a gyakorlati megfigyelések és a tudományos kutatások eredményeit a testi szervezetre (szomatikum) vonatkozó kérdésekben világos és egyértelmű állásfoglalást képvisel. Így célszerű elsősorban ezt a problémát foglalni össze röviden.

Az emberi testi szervezet (szomatikum) az ontogenezisben akként alakul a magzati életen, a megszületésen, az újszülött, a csecsemő, a gyermek, az ifjú, a felnőtt, az idősödő és az öregkoron át, az érésen, a felépülésen, majd a már kifejlettek megtartásán, végül a lebontódáson keresztül, ahogyan a filogenezisben beprogramozódott és a csírasejtek egyesülésekor a zygóta állapotban egyberendeződött kromoszóma garnitúrában realizálódott alapvető „törvényszerűségek", vezérlési rendszer előírja. *Egészséges körülmények között* ez a vezérlési rendszer bizonyos típusokra csoportosulás (nevezzük alkatnak) ellenére is minden ember testi szervezetére általában érvényes morfológiai és élettani jellegű működési formációk kialakulását mintegy törvényszerűen kierőszakolja. Elindulva a *zygóta* állapotból minden ember testi szervezetében folyamatosan kialakul meghatározott alaki és működési formában minden szerv, kialakul a szervek koordinált működése, létrejönnek a különböző működési rendszerek, és kialakul a rendszerek működésének *„belső"* célszerűségét mintegy kényszerszerűen igénylő és biztosító testi szervezeti egész. Ez az egész, mint egység más, talán több is mint a részek szummációja. Ennek az egységnek, ennek *az „egész"-nek* a belső egyensúlyát — az élet folyamán jelentkező szükségszerű kilengések ellenére — a belső testi-szervezeti homeosztázist megfelelő belső és külső idegvégződések (intero- és exteroceptorok) részben onnan ide, innen oda

haladó idegpályák közbejöttével (neuralisan) mintegy kitapogatva, közvetítve a váltakozásokat és a vezérlést, részben a testnedvek áramlásával (humoralisan) a testnedvekben levő anyagok mint a megfelelően érzékeny idegsejtcsoportokra hatást kifejtők (információt átadók) szolgálják.

A szomatikus rendszerben önmagán belül tehát a filogenezisben megszerveződött egy bizonyos vezérlő- és végrehajtó rendszer működik. A vezérlőrendszer elsősorban mindig az adott testiszervezet fennmaradását, életben maradását, közvetlenül ehhez kapcsolódva bizonyos érési szint kialakulása után az emberi szervezet önmaga megismétlését, vulgárisan kifejezve az ember mint faj fennmaradását hivatott érvényesíteni. Érvényesül ez a vezérlés a testi-szervezet egészségi állapotában éppúgy, mint különböző betegségi állapotokban. Utóbbi esetekben ez a vezérlési rendszer irányítja és aktivizálja azokat a funkcionalitásokat, amelyek a test-idegen anyagokat a szervezetből kilökni törekednek, irányítja a nem megfelelő anyagokat közömbösítő működéseket, a hiányállapotokat vagy a „túlsok"-állapotokat megszüntető működéseket és a morfológiailag sérült részeket helyreállító vagy a keletkezett réseket „heggel" kitöltő funkciókat.

Bármilyen bonyolult is ez az emberi testi-szervezeti rendszer, a biológia és a különböző orvostudományok már nagyon sokat felderítettek és objektíven értékelhető adatokkal elfogadhatóvá tettek e rendszer alaki és működési milyenségéről mind egészséges állapotra, mind betegségi állapotokra, folyamatokra vonatkozóan. Részletekre ezúttal nem lehet célom kitérni. Arra kívántam az eddigiekkel rámutatni, hogy a testi-szervezet általában minden emberre érvényesen, genetikailag, veleszületetten meghatározott törvényszerűségeket követve a legkülönbözőbb külső környezeti körülmények között is egyugyanazon sémát követve alakul ki és halad az érés útján elhanyagolható egyéni különbségekkel a felnőttséget jellemző testi-szervezeti morfológiai és szervi, szervrendszeri funkcionális formáció felé.

A testi-szervezeti rendszer működési alapelve *a jelen élettani jellegű szükségletei kielégítésének* biztosítása. Eközben mind a részfunkciók, mind azok koordinálása a múlt begyakorlásait követő. Ez a működés a szükségletek kielégítési törekvése közben nem improvizál, hanem minden történés a korábban kialakult módszer, meghatározott törvényszerűség szerint zajlik le. Azt jelenti ez, hogy a filogenezisben beprogramozottak szerint kialakul a testi-szervezet részeiben és egészének egységében az élet élése folytán keletkezett szükségletek érzékelése-, észrevevése-funkció, kialakul a szükségletek kielégítésére törekvés funkció és a kielégítéshez szükséges akarási belső anyagmozgatási és mozgási-cselekvési funkciós készség és képesség. Mindezek a működések — ismétlem — az egyén testi-szervezete fenntartására, illetve adott időpontokban az érés tovább haladásának biztosítására irányulnak.

Ezen élettani jellegű szükséglet-kielégítést szolgáló működési folyamatok belső mechanizmusát az ugyancsak a filogenezisben kialakult *„feltétlen reflex"*-

funkció rendszer jelenti, illetve az egyedi fejlődés kezdet kezdetén e feltétlen reflex-rendszer kialakulására vonatkozó készség képessége. E mechanizmusban az inger-forrás az adott időpontban fellépő bizonyos élettani jellegű vegetatív változás által előidézett *szükséglet*, „a reflexív" pedig az első jelzőrendszerben a feltétlen reflex folyamatok egymáshoz kapcsolódó lánca. A lánc befejeződése azután olyan történés, ami tulajdonképpen a szükséglet kielégítését eredményezi. Vonatkozik ez a testi-szervezet részeire (sejtek, szövetek, szervek, szervrendszerek) és a testi-szervezet egészére, mint egységre egyaránt.

A filogenezisben kialakult *feltétlen reflex* mechanizmusok közül csupán néhány fontosat említek meg. Ilyenek: a szívműködésnek, a vérnyomásnak, az erek tónusának, a légzésnek, a bőrfelszín hőmérsékletének, az izzadás-mirigyek, az emésztőrendszer, a vizelet-széklet űrítési rendszerek működésének, a sejti anyagcserének, az endokrin rendszernek, a pupilláknak meghatározott szükséglet okozta ingerekre való reagálási válasza. Megemlíthetők az odafordulási (tájékozódási) reflex, a szájjal keresési-megragadási reflex, a szopási-nyelési reflex, a sírással (hangadással) jelzés reflex, a kapaszkodási, a menekülési reflex, a mozgással-védekezési reflexek, a szükséglet intenzívvé válása kiváltotta és sírással, testmozgással jelzett nyugtalanság (kín)-reflex, valamint a szükséglet *kielégítése* kiváltotta megnyugvási (öröm)-reflex.

Mindezen feltétlen reflex-funkcionalitások egészséges körülmények között végig kísérik az embert megszületésétől kezdve az egész egyéni életen.

A testi-szervezet (szomatikum) működési, megnyilvánulási lényegének alapja tehát a testi-szervezet egészében, egységében, illetve összetevő részeiben (sejtjeiben, szöveteiben, szerveiben, szervrendszereiben) az élet élése folytán természetesen kiváltódott *élettani jellegű szükségleteknek kielégítésére törekvés*. Az élet lüktetését jelentő működéseket kiváltó inger tehát valamilyen szükségletnek megfelelően intenzívvé válása. A működési mozgások mechanizmusa *feltétlen reflex* folyamat. A működés célja az ingerre válaszadás, vagyis a szükségleteknek vagy a külvilágból „megszerzéssel" vagy a saját belső tartalékaiból mobilizálásával való kielégítése. Végeredményben e működést megindító és fenntartó vezérlési „elv" az egyedi élet és ezen át a faj fennmaradásának biztosítása.

Az elméletileg elkülönülten szemlélt emberi testi-szervezet (szomatikum) élettani jellegű *szükségleteinek* kialakulása, a szükségletek kielégítési történéseinek mechanizmusa és a kielégítéshez felhasznált anyagoknak a külvilágból való „megszerzése", esetleg belső tartalékok mobilizálása és a kielégítés célja is mind a biológia-fiziológia törvényszerűségei szerintiek. A testi-szervezetben érvényesülő inger—ingerület—izgalom, ennek belső és külső feldolgozása, az oldás, a válaszadás mind biológiai-fiziológiai jellegűek, *a természet* közvetlen megnyilvánulásának az élőt jellemző emberi specifikus formái.

E testi-szervezeti rendszer (szomatikum) biztosítja az emberi élet számára a biológiai folytonosságot. Alapjában e biológiai-fiziológiai formáció ad

lehetőséget minden emberi történés számára. Ezen belül alakul ki az a sajátos funkcionalitás is, amit emberi pszichikumnak nevezünk. A pszichikum azonban már sajátos emberi alkotásként túllép a tisztán biológiai szféra határain.

Az elméletileg elkülönítetten szemlélt testi-szervezetre vonatkozóan vita csak egyes részletkérdésekben van. Ezek azonban a most tárgyaltak szempontjából elhanyagolhatók.

Nem ilyen egyértelmű és nem is ilyen egyszerű *az emberi pszichikum* mibenlétére és kialakulására vonatkozó felfogás.

II. A pszichikum

A pszichikummal foglalkozásban ezúttal nem részletezzük azt az álláspontot, amit a lélekről az idealista ideológia képvisel. A leghatározottabban talán *Platon* fogalmazta meg azt az idealista világszemléletet, mely szerint a lélek, a psziché mintegy tárgyában örökkévaló. E felfogás szerint a létezésben a lélek az elsődleges lényeg, és az idea ekként halhatatlan és elsődlegesen irányító. A halhatatlan lélek különváló a testtől. E felfogás mellőzését — gondolom — elfogadhatóvá teszi már néhány orvostudományi és gyakorlati eredmény. Elegendő azon általános ismeretekre hivatkozni, hogy ha speciálisan bizonyos idegsejtekhez kötődő kémiai szerekkel, gyógyszerekkel morfológiai változások nélkül idegsejti fiziológiai változásokat hozunk létre, a fiziológiai változással meg lehet változtatni, befolyásolni lehet a pszichikumot. Ilyenszerű legdurvább hatás, ha valakit narkotizálunk. A narkotizáláshoz használt anyagok bizonyos idegsejtcsoportok specifikus működését felfüggesztik, és erre megszűnik a teljes pszichés működés. Ismert az is, hogy bizonyos kemikáliák alkalmazására depressziók jönnek létre, mások hatására pedig eufóriás állapotok. Jól ismertek azok a fantasztikus víziók, hallucinációk is, amelyeket általában pszichés megnyilvánulásoknak fogadnak el, és amelyek bizonyos kémiai jellegű anyagok használatakor alakulnak ki. A csecsemőgyógyászat területéről kiemelhető az is, hogy a kromoszóma-aberrációk fejezetben mind több kórképet ír pontosan le a tudomány, amikor bizonyos enzim működési zavarok (tehát jellegzetesen fiziológiai zavar) miatt pszichés fogyatékosságok jönnek létre. Van e pszichés fogyatékosságok között olyan is, amelyet meghatározott összetételű táplálással meg lehet szüntetni. Emlékeztetünk arra is, hogy az agy legkülönbözőbb morfológiai változással járó betegségei következtében teljesen megváltozik a korábbi „lélek", vagy valamelyik „lelki" működés. E helyen nem részletezem ezeket sem. Mi úgy véljük, hogy a lélek lényegének megértéséhez eredményesen használhatjuk az orvosi gondolkodásmódot.

A pszichikum elnevezéssel az élő szervezet egészén belül a központi idegrendszer, az agy bizonyos speciális működéseinek rendszerbe rendeződött funkcionális egységét jelöljük.

Hangsúlyozottan kiemelem *az élő szervezet egészén belül* kifejezés fontosságát. Sem a szervezet egészéből kiemelt agynak, sem a szövettenyészetben továbbélő idegsejteknek nincsen pszichés működésük. A környi idegrendszer, az érzékszervek, a mozgászervek, az endokrin szisztéma, az extero- és interoceptor rendszer egységben működése — hogy csak a leglényegesebbeket említsem — mind elengedhetetlen feltételei a pszichés funkciónak. Például maga a cselekvés sem kizárólagosan idegrendszeri (környi és központi idegrendszeri) működés eredménye, hanem a cselekvésben elengedhetetlen szerepe van sok más mellett az izomzatnak, az ízületrendszernek, sőt a támasztó csontrendszernek is.

Az ekként értelmezett emberi lélek nem örökkévaló, nem elsődlegesen létező lényeg. Az emberi pszichikum újból és újból minden egyes ember fejlődésében egyedenként alakul ki. Ezen egyedi kialakuló folyamat közben állandó változásban van, és végül az egyed testi, szervezeti élete befejeződésével, a testi szervezeti élet lebontódásával párhuzamosan egyedileg megszűnik a lélek is.

E szemlélet az emberi életre vonatkoztatva azt is magában foglalja, hogy *a pszichikum szempontjából minden egyes emberben a megszületéskor minden elölről kezdődik* és az ontogenezisben a mindennapi folyamatos emberi létezési forma és tartalom alakítja ki az egyedben a pszichikumot. Ez az ontogenezisben a sajátos egyéni életélés történelme folyamán az egyedi életút minden pontján önmagát felépítő, önmagát kormányozó, önmagát kifejező, a világot (a külső világot és a belső világot) értelmező, értékelő, a világban érző, gondolkodó, a cselekvést, a viselkedést irányító kibernetikai jellegű funkcionális egység, funkcionalitás, amit pszichikum névvel jelölünk, minden egyes emberben a megszületéstől kezdődve a maga sajátos egyéni természeti és döntően társadalmi jellegű környezetével, e környezet felnőttjeivel együttélve, ezekkel a környezeti tényezőkkel egymásra passzívan és aktívan hatva, a hatásokat egyénileg passzívan és aktívan feldolgozva, az egyedi élet adott időpontjáig lezajlott szakaszainak mintegy eredményeként mindenkiben külön-külön jön létre. Azaz: a lélek egyedi és az egyedi élet minden szakaszában az adott időpont érési-fejlődési szintjének megfelelő funkcionalitás.

E gondolatban benne van az is, hogy az emberi pszichikum nem egyetlen, hirtelen egy csapásra jön létre, hanem bizonyos folyamat eredménye. A középkor festőművészei a bibliai leírásokra támaszkodva csodálatosan szép képekben mutatták be, hogy a pünkösdi ünnepek alatt a Szentlélek miként szállt le az égből, és akkor egy csapásra, egyszerre mintegy kívülről miként kapta meg az arra érdemesnek ítélt ember a lelket. Bármilyen szép művészi hatású is ez az elképzelés és ábrázolás, mégsem így *kívülről* egyetlen csapásra kerül az emberbe a lélek. Nem így alakul ki a pszichikum. Nem is úgy, mint ahogyan az ókor mitológiája leírta, hogy mintegy *belülről*, Zeusz fejéből Hephaisztosz csapására Pallasz Athéne egyszerre pattant ki teljesen készen támadó és védekező fegyverzettel a maga szépségében és díszében. Szép költészetek ezek, de a valóság-

ban sem nem kívülről jövő, sem nem belülről induló ilyen hirtelen, egyetlen csapásra lesz az embernek lelke, hanem a kialakulás bizonyos egyedi életélésfolyamat lassanként fokozatosan létrejövő eredménye. *Az emberi pszichikum mint speciális funkcionalitás egyedi „termék". E „termék" nem tárgy jellegű, hanem funkcionalitás.*

A kérdés világos megfogalmazásához fontos annak figyelembe vétele, hogy a mai mindennapokban a folyamatos emberi létezés, bár biológiai alapú, de mégis lényegében társadalmi jellegű. Ennek megfelelően a pszichikum kialakulására ható környezetek közül a társadalmi jellegűek a döntőek. Látni kell, hogy a környezeti hatások emberközösség jellegűek, emberközösségi együttélés, együtt cselekvés, együtt tevékenység jellegűek. E társadalmi jellegű környezeti hatások az iskoláskor előtt a fiatal fejlődő egyedre (újszülött, csecsemő, kisgyermek) lényegében a családban az anya, az apa, a szülők együttese, a testvérek, a rokonok, a család egészének együttese, az iskoláskortól kezdve pedig a családon kívüli közösségekben a felnőttek, közöttük is kiemelkedően a tanítók, a tanárok, valamint az idősebb és a kortárs iskolai pajtások (meghatározott csoportok), felnőttkorban pedig elsősorban a munkatársak, a munkahely egész együttese hatásain át, a mindezekkel való együttélés, együtt cselekvés, együtt értelmezés, együtt értékelés hatásain át konkretizálódnak.

Ez *a környezettel együttélés* sok mindent jelent, a mondottakkal éppen csak érintettem a leglényegesebb összefüggéseket. Az együttélést meghatározó lényeg az — és minél fiatalabb az egyén, annál szigorúbb az a törvény, hogy *az egyén és a környezete funkcionális egység.* Az egyén megszületése kezdetkezdetétől kezdve a természeti és társadalmi jellegű egységes környezet fizikai és kémiai jellegű elemekből, tárgyakból (eszközökből), személyekből rendszerekből, struktúrákból, konkrét történésekből, jelenségekből és absztrakt tartalmakból (szellemi örökségek és aktuális jellegek) áll. Az egyén és az ekként értelmezett környezet által alkotott funkcionális egységen belül az egyén számára az *együttélés* folyamata az egyén oldaláról nézve, tehát az ő szempontjából hármas mechanizmus szerint történik és hármas követelményű. 1.) *Az egyik* történés-rendszer az egyénnek a környezethez való *alkalmazkodási* (passzív és aktív) törekvései, cselekvései és természetszerűleg ezek eredményei. 2.) *A második:* az egyénnek a környezeten aktív *változtatási* törekvései és cselekedetei. 3.) *A harmadik:* az egyénnek az előbbi két folyamat közben *tartalékolási* törekvései és cselekvései (tudatos és tudattalan). Bizonyos fejlettség elérése után e három történésrendszer egymással összeszövődik, és az egyénre az összességük és egységük hatása érvényesül. Ezen komplex történések eredményét orvosi kifejezéssel élve *adaptáció és akkommodáció* névvel jelölhetjük.

Fenti szemléletnek része az is, hogy tulajdonképpen másodlagosan a már kialakult pszichikum funkcionálásának eredményei formálóan visszahatnak az alapra: mind az egyedi létezésre, mind a társadalmi, közösségi létezésre.

Ha már kialakult a pszichikum — miben nyilvánul meg ez a funkció?

Mindenekelőtt e speciális funkcionalitással tartja az egyén a kapcsolatot egyrészt a külvilággal, másrészt saját belvilágával, a saját emlékvilágával. A külvilággal való pszichés kapcsolattartás kommunikációs jellegű jelzésfelvételekből és jelzés-leadásokból áll. A belvilággal való kapcsolattartás pedig a jelzések kódolásából, értelmezéséből és ezzel együtt *a jelentések* szubjektív értékeléséből áll.

A pszichikum mint funkcionalitás azonban nemcsak lehetővé teszi, irányítja, megszabja, szabályozza, megvalósítja e kapcsolatokat, hanem eközben e kapcsolatokat egyben élően tükrözi is. Tükrözi részben objektíve a kapcsolatok hatásaként kialakuló testi-szervezeti változásokban, részben e mintegy passzív objektív tükrözésen túl aktív folyamatként *értékeli* is a kapcsolattartásból keletkezett ingerületeket, izgalmakat az egyén szubjektuma szempontjából. A pszichikum tehát nemcsak a kapcsolattartó működésfolyamatok összessége és egysége, hanem kialakulása bizonyos szintje után egyben az adott időpontig felhalmozódott pszichés jellegű tartalmak tartamszerű egésze és egysége is. Ez utóbbi lényegében az emlékvilág. Ez az emlékvilág részben statikus mint verbálisan rögzült ismeret- és tapasztalatrendszer, részben dinámiaszerűség mint az öröklött biológiai jellegű feltétlen és az egyedileg kialakult „szerzett" feltételes reflexrendszerek működéseinek és működéslehetőségeinek rendkívül bonyolult összefüggése. Ezen összefüggésekben a dinamizmus abból adódik, hogy a mindenkori jelenben a szélesen értelmezett emlékezés révén tulajdonképpen a múlt eredményei funkcionális potencialitásban jelen vannak. A folyamatos kapcsolattartás mellett meglevő és az adott időpontig már kialakult e tartamszerűség nem más, mint *az egyén szubjektuma.*

Az elmondott rendszerekben kölcsönhatás van. A már meglevő szubjektum mint a pszichikum egyik összetevő eleme, lényegében az egyedi élet folyamán zajló kapcsolattartási folyamatok eredménye, a kapcsolattartás folyamatok hozzák létre. Ez az eredmény viszont megszabja az alapjában őt létrehozott két kapcsolattartó folyamatot: a külvilággal kapcsolattartást és a saját belvilággal kapcsolattartást. Hasonlóan kölcsönös a hatás az értékeléssel is. Az értékelés ugyanis az emlékvilágra támaszkodó és a kapcsolattartás folyamatai eredményeiből a múltban kialakult *jelentések* rendszerében történik. Ez az értékelés azonban bizonyos fokban alá van rendelve a szubjektíve kialakult és az említett tartamszerű energiamezőkben ható szélesen értelmezett *életcél*-nak, ami viszont *a jövő* reprezentánsa.

Olyan valami tehát a pszichikum, ami a) egyrészt tartamszerű energiamezők (emlékvilág) dinamikai jellegű rendszere, b) másrészt kapcsolattartásos aktuális folyamatok kinetikai jellegű rendszere (a külvilággal való kommunikáció történéseinek végzése, információk leadása, információk felvétele és a saját emlékvilágával, saját szubjektumával való kapcsolattartási folyamatai),

c) továbbá e kapcsolattartási folyamatokból keletkezett impulzusok belső feldolgozása folyamatainak rendszere, d) és végül minden keletkezett ingerületnek, izgalomnak a jelentések rendszerére támaszkodva az önmagára, a szubjektumra vonatkozó értékelő rendszere.

A pszichikum mint funkcionalitás megértéséhez nagyon lényeges, hogy az előbbi a)—d) pontokban foglalt folyamatok eredményeként felépül az „emlékvilágban", a szubjektumban egyrészt a *külvilág (objektív, szubjektív) belső modellje*, másrészt az egyénnek *a saját magáról való modellje:* a testséma és az *én* séma. E kettő együtt egyben lényegében a belső ember modell is. A külvilág modell és az ember modell egysége pedig a szubjektumban a világ modell, a létezés modell.

E modell-rendszer teszi lehetővé a külvilággal és a saját belvilággal való kapcsolattartás folyamatok minden fázisának az akciót megelőző, mérlegelő *ellenőrzését*. Ez teszi úi. lehetővé a cselekedeteknek, a megnyilvánulásoknak, a magatartásoknak, a viselkedéseknek, a tevékenységeknek kifelé is érvényesülő *operatív végrehajtása előtt* az indítás, az elhatározás, az akarás folyamatainak mintegy előzetes belső mérlegelő végigpróbálását és ennek eredményeként e modellekben elképzelt várható hatásnak figyelembe vételével az eredetileg tervezett cselekvések szükségszerű helyesbítését. A cselekvések operatív megtörténte után e rendszer teszi végül lehetővé a megtörténtek eredményeinek az értékelés szerinti elraktározását (tartalékolását) is.

A pszichikum, e bonyolult funkcionalitás *mechanizmusát tekintve* kibernetikus jellegű. A központi idegrendszerben az egyéni ontogenezis folyamán önmagát felépítő, folyamatosan helyesbítő visszacsatolásokkal önmagát továbbépítő kibernetikus jelleg teszi lehetővé az egész rendszeren belül az összes résztörténéseknek meghatározott rend és cél szerinti folyamatos zajlását.

E kibernetikus jellegű emberi idegrendszeri specifikus funkció (amit pszichikumnak mondunk) akként tartja az emberi fiziológiai és pszichológiai jellegű homeosztázis szempontjából a kapcsolatot a külvilággal és saját magával az emlékvilággal, hogy a kapcsolatot tartó folyamat döntően a mindenkori aktuális jelenben történik. Az aktuális jelenből indul az izgalmat kiváltó információ jellegű inger, és az aktuális jelenre vetül ki az izgalomnak értékelő belső feldolgozása után a válasz. Tudni kell azonban, hogy az aktuális jelen ingerének, információjának, impulzusának értékelő belső feldolgozásos folyamatában — amint erről már szó volt — mindig benne vannak *a múlt* tapasztalatai, tanultjai és benne van *a jövő* lehetőségeinek (életcél) figyelembevétele is. Vagyis minden jel (aktuális inger: információ, impulzus) értékelő belső feldolgozása a pszichikumban a korábban felépült *külvilág modell és a saját magáról felépült szubjektív modell* folyamatosan egybevetülő (világ modell) felhasználásával történik az egyénnek e modellek szerinti *jövőbeni* érdekeit és így céljait figyelembe véve. A pszichikum egyrészt mint folyamatszerű funkcionalitás, az aktuális időben a jövőt figyelembe véve végzi el feladatát, más-

részt mint egyben tartamszerűség a világot és vele együtt saját magát folyamatosan tükrözi is.

Milyen mechanizmus szerint alakul ki az ember pszichikuma?

A pszichikum fogalommal jelzett és a fentiekben egészen röviden értelmezett funkcionális rendszer az emberre általában érvényes általános biológiai alapokon minden egyes emberben az egyedi kialakulás kezdet-kezdetétől indulva az adott testi-szervezet egyedi morfológiai, fiziológiai rendszereinek működési eredményeiből absztrahálódva fokozatosan rendeződik az agy specifikus funkciórendszerévé. Ezt az absztrahálódást a filogenezisben kialakult és csupán az embert jellemző képesség teszi lehetővé. Ezért nevezzük az embert *absztrakt jel-teremtő* lénynek. És ezzel az absztraháló képességgel vált az ember az anyagmozgás ma ismerten legfejlettebb megjelenési formájává.

Az absztrakt funkcionálásnak az egyedben rendszerré formálódása az egyedi éréssel egybekapcsolódott társadalmi-természeti környezeti hatásokra történik. Pontosabban fogalmazva, e környezeti hatásokkal együtt élve, együtt cselekedve, együtt tevékenykedve, a környezeti hatásokhoz alkalmazkodva, illetve egyeseken változtatni törekedve, a történések eredményeiből bizonyos dolgokat tartalékolva halad a rendszerré formálódás. A tartalékolás funkció eredményei közé sorolom az egyéni átéléssel szerzett tapasztalatokat és a „megtanult" ismereteket is.

Végeredményben a pszichikum e három alapformájú történések által kiváltott ingerületek, izgalmak belső és külső egybekapcsolódott passzív és aktív feldolgozódás-feldolgozás eredménye. Vagyis az egyedi morfológiai kereten belül az egyedi szervezeti fiziológiai történések, a szervezeti fiziológiai funkcionális rendszerek működése az a biológiai alap, amire a megszületés után már az egyedi kialakulás kezdet kezdetén a fentiek szerint kezdenek ráépülni, amibe kezdenek beépülni, amiből absztrahálódnak a későbbi életszakaszban már önmaga törvényszerűségeit követő és a már kialakultakkal közvetlenül egymásra épülő pszichológiai jellegűnek nevezett történések.

A háromfajta történésféleség: 1. az *alkalmazkodási* törekvések és ténykedések, 2. a környezetet maga számára jobbá, alkalmasabbá *változtatási* törekvések és ténykedések, 3. a *tartalékolási* törekvések és ténykedések a fiatal életévek mindennapi életének kényszerére nemcsak kibontakoznak, hanem be is gyakorlódnak. Kezdetben ezek mintegy egymástól független részfunkciók. A biológiai éréssel párhuzamosan haladó mindennapi élet további kényszerére és a gyakorlódásra azután fokozatosan mind több és több részfunkció-egység szedődik össze nagyobb rendszerbe. Teljes fejlettségben ezek a nagyobb rendszerek egyetlen rendkívül bonyolult funkcionális egységbe rendeződnek.

Az emberi pszichikum tehát az egyén és a környezete (természet + társadalom) folyamatos együttélésének, egymásra hatásának, együtt cselekvésnek, együtt tevékenységnek és e történések részfolyamatai, célja, sikerei,

kudarcai egyedi belső feldolgozásának (passzív és aktív) történelmi jellegű eredménye. Az egyedi pszichikum történelme megszületés után kezdetben a fiziológiai funkciókból való közvetlen absztrahálódásból, a feltétlen reflexekre való ráépülésből, azokba beépülésből áll. A későbbi tovőbbfejlődésben pedig a már bizonyos szintig kialakult pszichés rendszeren önmagán belüli, mintegy „autonóm" továbbfejlődésű történésekből tevődik össze a pszichikum bonyolultabb fejlődése. A környezet felnőttjei és a társadalom különböző ténykedései és elvárásai: a táplálás, a gondozás, a szükségletek és igények kielégítéséről való gondoskodás, a szoktatás, a tanítás, az oktatás, a vele együtt élés, együtt cselekvés egybefoglalva a nevelés (jutalmazás és büntetés) jelentik azokat az ingereket, amelyek által okozott ingerületeket—izgalmakat a fiatal fejlődő, érő egyén belsőleg feldolgoz, magáévá tesz. A pszichés funkció-rendszer nem morfológiai és nem statikai, hanem dinamikai, energetikai jellegű szisztéma és lényege a folyamatos működésben levés.

A fejlődés bizonyos szintjét már elért emberi pszichikumnak mint funkció-rendszernek szerkezete, struktúrája van. Szerkezetét két nagy alapvető funkcionális rendszer adja: a tudatos és a tudattalan funkciók rendszere.

a) *A tudat* meghatározása a pszichológiai irodalomban nem egyértelmű, ma is sok a vita róla. Saját meghatározásomban tudattartalmaknak, tudatfunkcióknak azon emberi élettörténések *eredményeit* tekintem, amelyek az egyed pszichikumában legalább belső beszédben használható érzetté, képzetté, fogalommá, szóvá formálódtak. Ekként e tartalmak szavakban végiggondolhatók, belső vagy külső beszédben szóval végigbeszélhetők.

A tudatnak ez a meghatározása elfogadhatónak tűnik, ha meggondoljuk, hogy a szó-, a beszéd-megértésnek, majd aktív használatának, a beszélésnek a megtanulása az egyedben a korábbiakhoz viszonyítva új részfunkció-rendszert alakít ki, és épít be a korábbi primitív, még csak tudattalan pszichés funkciórendszerbe. Nevezetesen az aktuális szituációtól elvonatkoztatásnak, majd az egyes tárgyi jelentéstől elvonatkoztatásnak a funkcióját. A beszéd jelenti az egyes fiziológiai jellegű aktuális történés által kiváltott érzékeléstől, érzéstől elvonatkoztatásnak és ezzel együtt az egyes értékelésétől az általános értékeléséig gazdagodó funkciót. Lényegében a belső és külső beszéd a legmagasabb absztraktív alkotó folyamatok eszköze.

b) Nem lezárt a vita az emberi pszichikum azon szerkezeti eleme milyenségéről sem, amelyet *a tudattalan* funkciók rendszere, a tudattalan tartalmak funkcionális rendszere névvel jelölünk.

Az emberi tudattalanról mindenekelőtt azt emelem ki, hogy az emberi pszichikum tudattalan funkcionális tartalmai is egyediek. Mint ilyenek az egyed ember szélesen értelmezett emlékvilágában mint dinamikai jellegű egyedi emlékek helyezkednek el. Az egyedi élet alatt ezúttal is az egyed és környezete együttes élete, együtt cselekvések, együtt tevékenységek történései feldolgozásának folyamatait és eredményeit értem.

Ezen dinamikai jellegű egyedi tudattalan „emlékeket" is az jellemzi, hogy az emberi személyiség egészén belül bizonyos ingerek hatására kialakult ingerület-izgalom folyamatok már egyszer rögzült egységeinek, esetleg az adott folyamatra nem is specifikus inger hatására zárt formában funkcionálisan megismétlődés-lehetőségeik, sőt megismétlődési kényszereik vannak. A funkcionális belső megismétlődésben tehát egyedileg meghatározott „emlékezés forma" játszódik le. A tudattalan belső megismétlődésben ezen meghatározottan zárt formájú „emlékezések" lejátszódása különböző szintű lehet. Lejátszódhat a zárt formájú folyamat megismétlődés az általános szervezeti nedvrendszerben, sejti-szöveti anyagmozgásban. Lejátszódhat egyes szervi funkciókban. Lejátszódhat bizonyos primitív szintű érzelemben, indulatban. Megismétlődhet a tudattalan emlékezéssel egybizonyos egykori egyedi létezés-állapot a maga teljességében. A tudattalanban levő ezen egyedi „emlékek" tehát nemcsak a szexusra irányulóak, hanem az egyedi korai élet egész létezésének úgyszólván minden területére.

Az emberi pszichés tudattalan funkcionális tartalmak létrejöttéről azt is megemlítjük, hogy felfogásunk szerint, egyes szerzők álláspontjával szemben, örökletes emberi pszichés tudattalan tartalmak sincsenek. A tudattalan funkciótartalmak is — amint az előbb említettem — az ember egyedi életfejlődésének (ontogenezis) egészen korai szaka folyamán mint primitív élettapasztalatok gyakorlódnak, épülnek be és rögzülnek meg zárt formában az *akkori* (!) személyiségbe.

Ezen primitív élettapasztalatok a testi szervezet élettani jellegű szükségletei kielégítésének vagy kellőként ki nem elégíthetésének mint inger—ingerület—izgalom folyamatoknak az akkori élettel együttjáró, naponta akár többször ismétlődő lejátszódásai, mintegy gyakorlódásai révén rögzítődnek meg. A rögzítődés azt jelenti, hogy bizonyos aktuális ingerekre „emlékezéssel" átélésben megismétlődnek az erre kész részfunkcionális zárt egységformákban ugyanazon folyamatok.

Az ontogenezis valamivel fejlettebb szakán, de még mindig a beszéd előttes életkorban azután *az egyén által „észrevett" egyes testi szervezeti élettani szükségletekből, illetve azok kielégítéseinek az egyén számára kellemes tapasztalataiból már* **pszichológiai jellegű** *primitív érzelmi* **igények** *absztrahálódnak.* Különösen a beszéd előttes korban az ilyen pszichés igények ismétlődő sikeres vagy sikertelen kielégítési kívánásai, tendenciái, törekvései mint primitív emocionális motivációk által kiváltott inger—ingerület—izgalom folyamatok az emlékezéssel átélésben megismétlődésre ugyancsak kész részfunkcionális zárt egységekként rögzítődhetnek „a tudattalanban". Az ilyen tudattalan „emlékek" is bizonyos ingerek hatására a megismétlődés lehetőségét, esetleg kényszerét reprezentálják.

A tudattalan emlékek tehát egyrészt egészen korai életszakban fiziológiai jellegű szükségletek, másrészt ezekből korán absztrahálódott primitív pszicho-

lógiai jellegű igények folyamatosan ismétlődő ugyanolyan kielégítési vagy ki nem elégítési folyamatai rögzülésének a következményei. A fiatal életszakban (a beszéd előttes kor) a kielégítés vagy ki nem elégítés által kiváltott inger—ingerület—izgalom folyamatai a mintegy állandó ismétlődés révén begyakorlódott zárt feltételes reflexrendszereket építenek ki. Ezek „az emlékezésben" megismétlődő folyamatok a későbbi életévekben mint rögzítődött motivációs funkciók hatnak a pszichés működésre.

E pszichés tudattalan funkció-tartalmaknak a későbbi életben közös lényegük, hogy — ha valamilyen külső vagy belső aktuális ingerre az ilyen módon rendeződött izgalom az emlékvilágban feléled — ezen izgalmak az oldási feldolgozás mechanizmusában *nem tudnak elsődlegesen közvetlenül a tudatba absztrahálódni és érzetté, képzetté, fogalommá, belső szóval végiggondolássá, beszéddé formálódni, fogalmazódni.* Ellenkezőleg, az ilyen megismétlődő izgalmak és oldásaik a tudattalan szférában maradnak és legprimitívebb formában csupán belső mozgású testi szervezeti történésekbe csapódnak ki. E testi szervezeti válasz-történések — amint már említettük — lehetnek: az organizmuson belül a testnedvekben anyagösszefüggés-változások, lehetnek szervi funkció-változások, lehetnek szóval meg nem nevezhető tudat előttesben hangulat—érzelem—indulat keletkezések, s lehet a válasz egykori egyedi létezésállapot teljes ismétlődése. Valamivel bonyolultabb oldási formában megnyilvánulva lehet a válasz közvetlenül rövidre zártan haladva (nem vonva be a tudatot) valamilyen külső mozgás (testmozgás, nem tudatosan akart cselekvés, indulat-kitörés) is.

c) A tudatos és a tudattalan az emberi pszichikumban nem mereven szétválasztott statikai, hanem dinamikai szisztémák. A pszichikum szerkezetén belül rendkívül bonyolult a kapcsolatuk, a személyiség egészén belül pedig állandó a kölcsönhatásuk.

Röviden az alábbiakban foglalhatom össze az emberi pszichikumra vonatkozó elég bonyolult ismereteket.

1) A pszichés tartalmak nem veleszületettek, nem örökletesek, hanem az ontogenezisben „*szerzettek*". Veleszületettek, örökletesek a filogenezisben kialakultak azon *készségek*, azon *képességek*, amelyek lehetővé teszik, hogy a későbbi pszichés tartalmak a társadalommal, a többi emberrel való együttélésben, együtt cselekvésben, együtt ténykedésben az egyén belső feldolgozása eredményeként ki tudjanak alakulni, meghatározott működési rendszerré tudjanak rendeződni, az egyént jellemző kibernetikai jellegű egységgé tudjanak organizálódni.

2) A pszichikumnak mint működési rendszernek alapelve bár a jelen *igényei* kielégítési törekvéseinek, történéseinek koordinálására irányul, az igény—kielégítés belső folyamatának mechanizmusa azonban „az életcél" követését szolgálja, vagyis a jövőt. Az igény-kielégítés belső folyamatában *a kívánatos jövő elérési lehetősége keresésének dinamizmusa mint hatás olyan*

jelenre vetül rá, amelynek beállítódottságát a múltnak ma is ható élő dinamizmusa határozza meg.

3) A pszichikum mint funkcionalitás a sajátos mechanizmusában a feltételes reflexrendszer, lényegében tehát közvetlen és közvetett társadalmi összefüggések törvényszerűségeit követi. E társadalmi törvényszerűségek akként épülnek be a belső működési folyamatokba, hogy az ontogenezis kezdet kezdetétől indulva a feltételes reflexek a környezet felnőttjeinek közbejöttével a feltétlen reflexrendszerre épülnek rá, mintegy abba épülnek be.

4) A két mechanizmus (a feltétlen és a feltételes reflexfunkcionalitás) az egész életen át lényegében szorosan egybefűződött marad annak ellenére, hogy adott szituációkban és adott dinamikai helyezetekben az egyik vagy a másik a személyiségen belül dominánssá válhat, mintegy függetlennek tűnhet. Ilyenkor a másik gátlás jellegű feltételes reflexműködés eredményeként mintegy átmenetileg parciális blokkírozottság alá kerül. Az is lehet, hogy átmenetileg valamilyen túl intenzív inger hatása mintegy interferenciaszerűen kioldja a feldolgozásban, az ingerre válaszadásban az egyik vagy a másik reflexműködés érvényesülési lehetőségét.

5) A reflex értelmezése a pszichikumra vonatkoztatva sem Descartes, hanem Anohin felfogása szerinti. Eszerint reflexív, reflexlánc, reflexgyűrű, egymásba kapcsolódó komplex reflexrendszerekre gondolunk.

6) Az emberi reflex-folyamatban a kívülálló csak a végeredményt, „*a választ*" tudja közvetlenül észlelni. A mechanizmus egészét csak bonyolult módszerrel lehet felderíteni, illetve nyomon követni mintegy a már kész válaszból visszafelé következtetve. Nehezíti ui. a felderítést, hogy az eredeti elsődleges reflexív vége a belső folyamatban inger-forrás a következő láncszem számára, ez pedig a még tovább következő számára, és így tovább a bonyolult reflexfolyamaton át és sokszor csak áttételeken keresztül tudunk eljutni a reflexfolyamat egésze és részei megértéséhez. Pedig csak ekként eljárva lehet eljutni az eredeti „inger"-ig, és csak ekként lehet felgöngyölíteni a bonyolult inger—ingerület—izgalom—belső feldolgozás, válasszal oldás folyamatot is és ezzel megérteni a bonyolult reflexrendszer egészét, a részek egymásba kapcsolódását. Enélkül viszont nem lehet megérteni az ember magatartását, viselkedését meghatározó tényezőket sem.

III. Az egymásra hatás és az egymástól függés rendszerré formálódása: a személyiség

Ha az eddig tárgyaltakat figyelembe véve közvetlenül foglalkozunk az ember pszichikus és szomatikus tényezőinek kölcsönhatásával, mindenekelőtt arra utalunk, hogy az emberi szomatikum és az emberi pszichikum kölcsönös egymásrahatásának és működéseik szoros egybefűződésének, egymástól

függésének megvalósulása lényegében *az emberi személyiség* kialakulásában, folyamatos funkcionálásában, a külvilág számára pedig a személyiség megnyilvánulásaiban fejeződik ki. Ha tehát a személyiség-meghatározókat és a személyiség működését áttekintjük, ezzel egyben közvetlen választ adunk az emberi szomatikus és pszichés tényezők kölcsönhatására vonatkozó kérdésre is.

A személyiség az egyén testi morfológiai összetevőinek és az életélés funkcionális formájának, az egyén beállítódásának, magatartásának, megnyilvánulásainak, tevékenységeinek olyan meghatározó egysége, ami őt mindenki mástól megkülönbözteti, egyénivé teszi azon társadalmi közösségen belül, amelyben személyisége kialakult és amelyben aktuálisan él.

A személyiséggel való gyakorlati és elméleti foglalkozásban tehát a mai ember testi-szervezeti (vegetatív szomatikum) fejlődését és működését és lelki (pszichés) fejlődését és működését nem különítjük el egymástól. A két jelleget végig az egész egyedi életen át szorosan egybetartozó egymásra ható, egymástól függő egységnek tekintjük. Egységnek tekintjük mind az egyedi folyamatos fejlődés, mind a mindenkori aktuális működés, mind a tartam szempontjából. Felfogásunkban a személyiség tehát nemcsak az egyén pszichés tulajdonságainak (tudatos és tudattalan tulajdonságainak) az összessége, hanem magában foglalja a testi-szervezet (vegetatív-szomatikum) általános emberi és egyéni sajátosságait is. Meghatározásunkban *az emberi személyiség az általános emberi jellegzők keretein belül az egyed összes tulajdonságainak (alaki + működési) sajátos egyéni rendezettségű egysége.* Ezen egységen belül történnek a szomatikum és a pszichikum egymásra való kölcsönhatásai: a szomatiko-pszichés és a pszicho-szomatikus mozgásirányú inger—ingerület—izgalom—oldás (feldolgozás) folyamatok.

E kölcsönhatások megértéséhez elengedhetetlen a személyiség **funkcionálásának** egyértelmű meghatározása is. A személyiség nemcsak tartalmaiban, hanem potenciális vagy reális funkcionalitásban tükrözi az egyén egészének viszonyulását egyrészt a külső világhoz (tárgyakhoz, struktúrákhoz, személyekhez, egyénekhez, csoportokhoz, „másokhoz", a kulturális „örökségekhez"), másrészt a saját belső világához, testi-szervezeti és pszichés saját magához: jelenéhez, múltjához (emlékvilág) és a megvalósítandónak vélt jövőjéhez (életcél). Magában foglalja és egységbe integrálja a külső és belső ingerekre (információkra) keletkező testi-szervezeti és pszichés inger—ingerület—izgalom folyamatok formáját, intenzitását, milyenségét, az ingerekre keletkezett ingerület—izgalom folyamatok feldolgozásának, oldásának, oldódásának (a válasz) integrált formáit. A feldolgozások integrált eredményeinek elraktározását (tartalékolás) vagy kifelé való közlése miként jét is a személyiség eszközli. Beleértjük utóbbiba az ingerekre kifelé irányulóan adott válaszok, a külvilágba történő kommunikációk intenzitásának, milyenségének egyedi jellemzőit.

A személyiség funkcionálása mindezek mellett magában foglalja az önépítés révén az eddigiekben már kialakult személyiség-formának és tartalomnak a visszacsatolásokon és a belső értékeléseken át való módosítási lehetőségét, vagyis önmaga továbbfejlődésének a kereteit.

A fentiekben értelmezett személyiség az egyén egyedi élete folyamán (az ontogenezisben) *fejlődik*, változásokon megy át. Emiatt nem tartjuk helyesnek a személyiség-fogalommal kizárólag a már érett, felnőtt egyén beállítódási, magatartási és megnyilvánulási egységét jelölni. Nem helyes ez, mert hiszen akkor mivel jelöljük a csecsemőkori, a gyermekkori, az ifjúkori egyedek megnyilvánulásainak egységét. Nyilvánvaló, hogy az emberek között egyedi különbségek vannak már a magzati, az újszülöttkori, a csecsemőkori, a kisgyermekkori, az iskoláskori, az ifjúkori életszakaszokban is. A gyakorlat mutatja, hogy ezen életszakokban levő egyedeknek is van beállítódási, magatartási, megnyilvánulási egysége: egyedisége, személyisége. Magunk a meghatározásunkban is elkülönítjük e különböző életszakok személyiségeit. *A különböző és egymást követő életszakokban levő egyedek adott életszakában levő személyiségét* **aktuális személyiség** *elnevezéssel jelöljük.*

Az egymást követő különböző életszakokban levő *aktuális személyiségek* az egyedi fejlődés folyamán egymásra épülnek, a mindenkori következő a megelőzőkből bontakozik ki, és így az egymást követők szorosan összefüggenek. Eltérés közöttük az életkor adta, lényegében a feldolgozott és magáévá tett információs gazdagodottságban van.

Az aktuális személyiségek feldolgozott és magáévá tett információs gazdagodottsága, a feldolgozottak tartalmainak adott időbeni mennyisége és minősége, e tartalmak összefüggése, majd ezen összefüggéseknek az életfolyamatban egymásból egymásra és egymásba épülésének formája, tartalma és módja, egymásutánja foglalja magában *az emberi személyiség-fejlődés menetét.* A kedvező fejlődés lényeges, hiszen a külvilág és ezen belül a többi ember, sőt többé-kevésbé az egyén önmaga is az egyedet minden életszakában a személyisége megnyilvánulásaiból, magatartásából, viselkedéseiből, cselekedeteiből ítéli meg és értékeli.

Az egyedi életben a személyiségnek két alapvető szisztémája, a testi-szervezet és a pszichikum önmagukra vonatkozó fejlődése alá van rendelve a személyiségben megvalósuló egység fejlődésének. Hogy a két rendszer között a továbbfejlődési viszony szomatikus vagy pszichés dominanciájú lesz-e, ezt is a már kialakult személyiség sztereotípiái határozzák meg.

A szélesen értelmezett emlékezés—felejtés működés közbejöttével az egyedi élet folyamán *személyiség-struktúra* alakul ki és válik tartamszerűvé. A személyiség-struktúra — a kibernetika törvényszerűségeit követő — funkcionális struktúraként szemlélendő. Szükséges ez, mert az ember testi-szervezeti és pszichés tényezőinek egymásra hatását és egymástól függését, csakúgy mint a személyiség funkcionálását csak akkor érthetjük meg, ha a személyiséget

nem merev statikai építményként, hanem saját magára is visszaható, a megnyilvánulásokban folyamatosan érvényesülő dinamikai jellegű funkcionális rendszerként fogjuk fel.

Felfogásunk szerint *a személyiség-struktúrán belül a következő összetevő szerkezeti elemek, részfunkcionális egységek vannak:* a vegetatív egyediség-, az érzelmi személyiség-, a kinetikus mozgás (motoros) személyiség- és az értelmi személyiség-elemek. Ezek bonyolult egybeszövődésében valósul meg a sexus-személyiség elem. Ezek a személyiség-struktúra egészen belül levő speciális *személyiség-elemek* sem statikai jellegű összetevők, nem statikai felépítettségek, hanem a kibernetika törvényszerűségeit követő dinamikai-energetikai rendszer egészén belül egy-egy energia-kiterjedés-mezőt, egyben meghatározott speciális feladatok feldolgozását és megoldását előkészítő részfunkcionális egységet reprezentálnak. Hogy az aktuális személyiségben adott ingerre keletkező izgalom a feldolgozást, a válaszadást előkészítő folyamat közben a teljes oldódás előtt a struktúrán belül valamelyik részelembe, túlzottan koncentrálódik-e, esetleg túlzottan rögzül-e, és ekként ez az elem a válaszadásban is domináns lesz-e, vagy ellenkezőleg, a válaszadás irányultsága és a feldolgozás-oldás mechanikájának belső mozgásiránya az egész személyiség egyensúlyának megfelelő lesz-e, függ a személyiséget alkotó elemek kölcsönös egymásra hatásából adódó tartós vagy aktuális dinamizmustól, mondhatnók a személyiség energetikai sztereotípiájától. Azt jelenti ez, hogy az adott ingerre bekövetkező válasz milyensége, vagyis mind az ingerre aktuálisan kialakult közvetlen testi-szervezeti folyamat, mind a pszichés folyamat következtében közvetetten bekövetkezett testi-szervezeti anyagmozgások, szervi funkcionális változások csakúgy, mint a magatartás, viselkedés, tevékenység egyaránt függvénye a személyiség-struktúra részelemei között levő dinamikai-energetikai *összefüggéseknek*, a már korábban kialakult sztereotípiának. Vagyis *az egyén aktuális megnyilvánulásai, magatartásai, tevékenységei nem mások, mint a személyiség-struktúrát adó részfunkció-egységek erőtényezőinek eredőjét reprezentáló jelenségek.* Az következik ebből, hogy az embernek mindennapi testi-szervezeti folyamatait, ugyanígy pszichikumát reprezentáló megnyilvánulásait, magatartását, viselkedését, cselekedeteit meghatározó belső mozgások, a struktúrán belüli energia áthelyeződések a személyiség egészén belül folyamatosan kettős irányúak: az energia áthelyeződések eredményét, a választ meghatározó belső mozgások iránya egyszer szomatiko-pszichés dominanciájú, máskor pszicho-szomatikus túlsúlyú.

A terjedelem kímélése céljából nem hozok fel az emberi klinikumból részletes példákat elsődlegesen *a szomatikumból kiinduló* ingerekre beálló pszichés történésekre, sem ennek fordítottjára: az elsődlegesen pszichés hatásra kiváltódott szomatikus jelenségekre. Utalok azokra a közleményekre, melyekben magunk által embereken észlelt jelenségeket ismertettünk. Nem kísérletek voltak ezek, hanem éveken, évtizedeken át folytatott és kórrajzok-

ban rögzített pontos orvosi megfigyelések eredményei. Olyan klinikai megfigyelések eredményei, melyek valóságát a gyógyítás sikerei, illetve kudarcai bizonyították. Azt mutatja a klinikum, hogy nemcsak a legsúlyosabb, esetleg halállal végződő testi-szervezeti morfológiai-funkcionális „betegségek" váltanak ki a személyiségben pszichés változásokat, hanem minél fiatalabb az egyén, annál inkább az aránylag enyhébb testi-szervezeti funkciós zavarok (kiszáradás, megsavanyodás, bizonyos anyagok túlzott visszatartása a testnedvekben) is megváltoztatják átmenetileg vagy tartósabban a pszichikumot. Hasonlóan ismertettük az irodalomban azokat az emberen tett megfigyeléseket, hogy úgyszólván minden testi-szervezeti rendszerben, szervben ki tud alakulni elsődlegesen pszichés tartós hatásra másodlagosan kezdetben csupán fiziológiai jellegű szervi funkciózavar és panasz, majd a funkcionális zavar huzamos fennállása esetén harmadlagosan morfológiai jellegű elváltozás is.

Nemcsak a klinikai patológia területéről említett ezen példák bizonyítják, hogy a személyiségen belül folyamatosan hatnak egymásra a szomatikus és a pszichés tényezők, hanem a mindennapi életélés közben lezajló folyamatok is. Emlékeztetek a száj—gyomor—bél-rendszer működésének a pszichikumra kifejtett hatására: egy kellemes és az egyén által kedvelt ételekből összeállított vacsora még alkohol fogyasztása nélkül is eufóriás, felfokozott lelki állapotot tud előidézni. És fordítva, ha csupán rágondolunk az általunk kedvelt ételféleségre, megindul a szájban a nyálelválasztás. Hasonló példák hozhatók a szexuális élet területéről is. A természet-ciklicitást követő bizonyos hormonelválasztás-fokozódásra a pszichikum irányultsága a párkeresésre aktivizálódik, és fordítva, ha az ember csupán rágondol a számára kívánatos másik nembeli lényre, tehát csupán elsődleges pszichés inger hat és érvényesül, ugyanolyan hormonális és mozgási folyamat indul a testi szervekben, mintha az egyén valóságosan találkozott volna az illetővel, tehát természeti inger érte volna. Említhetünk olyan példát is, amikor bonyolultabb a szomatiko-pszichés és pszicho-szomatikus mozgásirányú inger—ingerület—izgalom—oldás, tehát a kölcsönös egymásra hatás folyamata. Ha pl. valamilyen okból erre hajlamos egyén túlzottan megvacsorázik, a gyomra túltelített lesz, ettől a rekeszizma a szokásosnál magasabbra tolódik, ami azt eredményezi, hogy a szív is a rendes helyzetéből felfelé és balra diszlokálódik, ez a rendellenes szívhelyzet adott esetben megváltoztatja a szív koszorús érrendszerének keringését és ez a lényegében testi-szervezeti folyamat angina pectoris enyhe tüneteit okozza. Ha az ilyen egyén *tudatában, tehát pszichikuma egyik elemében* amúgy is van a korábban megismertek miatt félelem a szívhaláltól, a szív részéről jelentkezett említett tünet érzékelését a tudat felfokozza és ez felfokozott halálfélelelemmel jár, ami az érzelmi szférában szorongást vált ki. Ez a szorongás mint pszichés stressz megindít egy olyan disz-stressz-folyamatot, melynek eredményeként tovább fokozódik a szív koszorús érrendszerében a zavar és esetleg ez már másodlagosan komoly pszichogén angina pectorist eredményez, és ez a circulus

vitiosus megfelelő beavatkozás hiányában komoly, már nemcsak funkcionális, hanem morfológiai szívzavart is eredményezhet.

Említhetem a pszicho-szomatikus mozgásirányú folyamat példájául, hogy hirtelen harag vagy félelem, vagy öröm a vérkeringés, az izzadtságmirigyek működésének, a légzés ritmusának, mélységének változására, vizelési—székelési inger keletkezésére vezethetnek.

Meg kellene még válaszolnunk, hogy *a személyiségen belül* **milyen mechanizmus szerint** *fejtik ki egymásra a hatásukat a szomatikum és a pszichikum.*

Figyelembe kell venni, hogy az egyedi emberéletben az életfolyamatok humanizálódása, a mai emberre vonatkoztatva talán azt is mondhatjuk: az életfolyamatok szocializált humanizálódása vezet a személyiség kialakulásához. Ehhez a humanizálódáshoz az szükséges, hogy az egyedi élet folyamán a személyiségben megvalósuljon a biológiai és a társadalmi ember-formációk egysége.

Az emberi életfolyamatok lényegében közvetlen és közvetett reakciók. Az élő organizmusokat ui. az jellemzi, hogy ha az organizmust az általános és aktuális ingerlékenység küszöbét meghaladó inger éri, akkor az organizmusban ingerület—izgalom keletkezik. Ez az ingerület—izgalom-állapot tartósan nem maradhat fenn, az ingerületet-izgalmat oldani kell, mert az organizmusnak újra az őt jellemző belső egyensúlyba (homeostasisba) kell jutnia. Az ingerület-izgalom oldása lényegében nem más, mint a hatásos ingerekre adott, belsőleg feldolgozódó válasz. *Az életfolyamatban tehát egybeszövődve tükröződik, reflektálódik mind az inger—ingerület—izgalom, mind az oldásig tartó feldolgozás folyamat (beleértve utóbbiba a „feldolgozó rendszer" milyenségét is), mind az oldás (cselekvés).*

Az emberi életet természetszerűleg sem mennyiségileg, sem minőségileg nem egyetlen inger és nem egyetlen ingerre-válasz, reagálás-folyamat jelenti, hanem az ingerhatásoknak, a reagálásoknak, a válaszfolyamatoknak sokasága, néha nagyon bonyolultan felépülő, áttételeken érvényesülő, egymással összeszövődő csoportja.

Az emberben ingerületet—izgalmat—oldást kiváltó ingerek eredetüket tekintve lehetnek a személyiségen belül indulók, és lehetnek a külvilág felől indulók, érkezők. Röviden kifejezve, az emberi hatásos ingerforrások lehetnek belsők és külsők. Mind a belső, mind a külső ingerforrások és az ezekből eredő ingerek lehetnek szűken értelmezett *természet jellegűek*, „tárgyszerűségek", és lehetnek ember által létrehozott jelszerűségek, *absztrakt jellegűek.*

A természet jellegű és „tárgyszerű" ingerek hatásosságával, ha azok az ingerlékenységi küszöböt intenzitásban meghaladják, nem kell részleteiben foglalkozni, hiszen ezek hatásosságát mindenki magától értetődőnek tartja. *Az absztrakt jellegű ingerek hatásossága* kapcsán viszont utalni kell arra, hogy az embernek igen lényeges jellegzője az, hogy bizonyos egyedi fejlődés elérése után lényegében különbözik más élőlényektől. *Az ember ui.* — amint már em-

lítettük — *absztrakt jelt teremtő, az ember által teremtett és „megtanult" jeleket jelzésre használó és absztrakt jelt „megértő", „felfogó" lény.* Ekként az absztrakt jelnek mint ingernek a hatásossága az emberben egyenlő lehet azon természet jellegű, tárgyszerű inger hatásosságával, amelynek jelzéseként e jelt az ember (nemcsak az egyed ember, hanem az ember általában) egykor létrehozta, absztrahálta.

A belső természet jellegű *ingereket* (szükségletek) az interoceptorok közbejöttével fogja fel a személyiség. Ezek aktuális fiziológiai vagy patofiziológiai folyamatok eredményei, ill. részei. *A belső* **absztrakt jellegű** *ingerek* pedig a gondolkodás, az értékelés, a fantáziálás, az illúzionálás, az emlékezésben érzelem-indulat felbukkanás ingerforrásokból, vagyis a szélesen értelmezett emlékvilágból erednek.

A külső ingereket az egyén az exteroceptorokkal fogja fel. Ezek a természet, ill. a társadalom felől hatnak. Míg a közvetlen természet jellegű ingerek csak a konkrét természeti környezetből erednek, a társadalom eredetű ingerek közül hatók lehetnek egyrészt az aktuális társadalomból közvetlenül, másrészt az emberiség történelméből a civilizációs és kulturális társadalmi „örökségekből" közvetetten ható ingerek. Mind e társadalmi hatásokat vagy az embertársak közvetlenül személyükkel vagy közvetve tárgyszerűségekkel (írás-olvasás) juttatják mint ingerforrások a személyiséghez, vagy az egyén bizonyos ismeretek megszerzése után önmaga „keresi fel", „keresi meg" őket mint ingerforrásokat.

Utalunk arra, hogy az ingerek különbözőségének megfelelően az emberi élet nem egyetlen válaszfolyamatban nyilvánul meg, hanem lényegében mindig nyíltan vagy rejtetten egybefonódó testi-szervezeti és pszichés reakciók bonyolult láncában, gyűrűjében, legtöbbször komplexumaiban.

Miként történik az életfolyamatok szocializált humanizálódása?

E kérdés megválaszolásához szükséges röviden visszatérni arra, hogy miként is értelmezzük *a reflexfolyamatot.* Említettük, hogy a reflex kifejezést nem a klasszikus *Descartes*-i felfogás szerint használjuk, hanem *Anohin* kutatási eredményeit tesszük magunkévá és ezeket próbáljuk tovább fejleszteni.

A reflexek hatásos ingerek által működésbe hozott történések. Az emberben a felnőttség felé fejlődve fokozatosan reflexívek, reflexláncok, reflexgyűrűk, bonyolult reflexrendszerek működése bontakozik ki. Ezek egymással szomatiko-pszichés és pszicho-szomatikus belső mozgásirányokon át szorosan összefonódnak, egymáshoz kötődnek. Lényegüket tekintve didaktikai szempontból két nagy csoportba oszthatók: a) fiziológiai jellegű reflexformák és b) pszichológiai jellegű reflexformák.

A fiziológiai *jellegű reflexformák* lehetnek a) örökletesen veleszületett feltétlen reflexek, b) „szerzett", klasszikusan pavlovi időleges feltételes reflexek és c) „szerzett", az egyén életéhez mérten végleges feltételes reflexek.

A pszichológiai *jellegű reflexformák* között — amint már említettük — felfogásunk szerint nincsenek örökletesen veleszületett feltétlen reflexek.

A pszichológiai jellegű reflexformák mindegyike az egyedi élet folyamán „szerzett" (kialakult, kialakított) feltételes reflexforma. Mint ilyenek három csoportba oszthatók: a) „szerzett" klasszikus pavlovi időleges feltételes reflexek, b) „szerzett", az egyén életéhez mérten végleges feltételes reflexek, c) az ember által korábban ki nem fejezett új „válasz" megnevezésére, megformálására alkalmas, általam *„alkotó válaszadás"* névvel jelölt komplex bonyolult reflexformák.

E reflexformák azok a belső történésfolyamatok (részfunkciók, részfunkció-rendszerek), amelyek mint eszközök és módszerek nemcsak a személyiségfunkció folyamatos mechanizmusát jelentik, hanem egyben a szocializált humanizálódásnak a mechanizmusát is.

A személyiség mint egység működésén belül ezen reflexformák közül az egyénben az életkor és az egyedi fejlettségi szint szerint egyik vagy másik forma működése van túlsúlyban. Az újszülöttkornak a mai ismereteink szerint első 10 napján belül csak örökletesen veleszületett feltétlen *fiziológiai* jellegű reflexek működnek. Az első 10 napban kezdenek ezekbe a feltétlen reflex-folyamatokba beépülni, ezekre ráépülni elsősorban a táplálás—táplálkozás, de a testi gondozás történéseivel is a klasszikus pavlovi vegetatív-szomatikus fiziológiai jellegű (vegetatív, visceralis, motoros, érzékelés) feltételes reflexek. Majd általában a 6—8. élethét után kezdenek megnyilvánulni a már korábban kialakultakra ráépült — mindenekelőtt az anyával vagy az anyahelyettessel való együttélés hatásainak közbejöttével megerősített — *érzelmi*, vagyis már primitív pszichés jellegű feltételes reflex-működések. Majd az előrehaladottabb csecsemőkorban (6. élethónap után) fokozatosan az idősödő gyermek-, ifjúkorban, kedvezőtlen körülmények között esetleg csak a felnőttkorban folyamatosan beépülnek a személyiség összfunkcióba a szerzett, az egyén életéhez mérten végleges formájú különböző szintű pszichés jellegű feltételes reflexek és még inkább az „alkotó válaszadás" mint a legdifferenciálódottabb pszichés jellegű részfunkció-forma.

A magasabb szintű pszichés jellegű reflexformák működésének kialakulásában kiemelkedően nagy a jelentősége a felnőttek közbejöttével elsajátított *beszédnek:* a szó, a beszéd megértésének és a szóval, a beszéléssel jelzés megtanulásának. Majd későbbi gyermekkorban az írásjelek megismerésének, az írás-olvasás, a számolás „megtanulásának", jel-felvételre, jelzés leadásra — használatuk elsajátításának. E már magas szintű pszichés funkciók kialakulásának az alapját ugyancsak a felnőttek közbejöttével a hangzásnak mint primitív jelzésnek a „megértése", a fény tagolódás (nappal világos, éjjel sötét) jelentésének a „megértése", a kézzel megfogás, a tárgyaknak „eszközzé" alakulása, az állás, a járás megtanulása, ezekkel párhuzamosan a cselekvés jelentésének „megértése" szolgáltatják.

E magasabb szintű pszichés jellegű reflexműködések kialakításával a környezet felnőttjei befolyásolják (beprogramozzák) azt a belső feldolgozási

folyamatot, melyek eredményeinek egésze vezet az eredetileg csupán biológiai jellegű életfolyamatok szocializált humanizálódásához. A társadalom *felnőttjei* ui. a kialakuló pszichikummal rendelkező fiatal, rendkívül fogékony egyedeknek a szóval-írással-jelzés révén adják át, építik be, programozzák be a személyiség működési rendszerébe az életjelenségek társadalmi *jelentését*, értékelését. A beprogramozódottság akkor válik véglegessé, mikor a környezet felnőttjeinek e hatásait a mindennapi természetes tapasztalatai alapján az egyén elfogadva magáévá teszi és mintegy megnyilvánulásait kényszerítően irányító sztereotípiaként beépíti értelmező, értékelő rendszerébe.

Ezekkel a tanító nevelő — tanuló nevelődő folyamatokkal *az absztrakt jelvilág egyenértékű ingerforrás lesz* magával a természetes életjelenségekkel, illetve a külső tárgyak világával. Ekként az absztrakt jelek utóbbiakkal ekvivalensen ki tudnak váltani ingerületet, izgalmat, amit ugyancsak oldani kell.

A kinetikus jellegű válaszadást megelőző, mintegy előkészítő belső inger—ingerület—izgalom—oldás folyamat ismerete segít a szomatikum és pszichikum egymásra hatása és végeredményben a szocializált humanizálódás mechanizmusának megértésében. Gondolom, egy egyszerű példával lehet a legjobban rámutatni a már kialakult összefüggések lényegére. Vegyünk példának egy fiatal leányt, aki társaságban van. Ha a helyiség hőmérséklete túlzottan emelkedik, a magasabb környezeti hőmérséklet mint természetes inger a leány testi-szervezetében feltétlen inger—ingerület—izgalom folyamatot indít és más jelenségek mellett fokozódik az izzadtságmirigyek működése. Különösen a hónaljárkokban válik erőteljessé az izzadás. E testi-szervezeti folyamatnak nem lenne további következménye, ha egyedül otthonában lenne a leány, de a példának hozott helyzetben ő idegenben más emberekkel, idegen fiúkkal leányokkal van, akik között sikerre vágyik. Ha a példának hozott leány tudja magáról, hogy izzadtságának szaga túlzottan intenzív, ez a tudat ebben a helyzetben a pszichikumában feltételes reflexfolyamatot indít meg. Arra gondol, hogy társai is megérzik a kellemetlen izzadtság szagot. Ezt a kudarctól való félelem-gondolatot tehát alapjában elsődleges testi-szervezeti tényezők váltották ki. A pszichikumában a feltételes reflexlánc azután folytatódik. A gondolat az érzelmi szférában szorongást vált ki. Attól szorong, hogy az izzadtságszag miatt szégyenben marad, kinevetik, kudarc, csalódás éri. Ez a szorongás azután mint pszichogén disz-stressz visszahat a testi-szervezetre, és ahelyett, hogy az elsődleges testi-szervezeti folyamat megszűnne vagy enyhülne, ellenkezőleg az izzadtságmirigyek váladékelválasztása még fokozódik. Ebben a példában tehát egy elsődleges testi-szervezeti feltétlen reflexfolyamat volt a ható inger a pszichés folyamatok megindulására és formálódására.

Fordítva is lejátszódhat az egymásra hatás mozgásiránya. Vegyünk példának egy tornaversenyen szereplő fiatal fiút. A versenyben a pszichikumban úgynevezett versenyláz van. Ez azt jelenti, hogy az egyén szorong, vajon

sikeres lesz-e a versenyzése. Ez a szorongás mint elsődleges pszichogén disz-stressz fokozza a bőr izzadtságmirigyeinek működését. Emiatt nyirkosak lesznek a versenyző tenyerei is. Ezt a feltételes reflexfolyamatot további láncreakció követi. A versenyző *tudja*, hogy a nyirkos tenyér miatt tornaverseny közben a szeren megcsúszhat a keze és hibát követhet el a bemutatásra kerülő gyakorlaton és veszélyezteti a verseny sikerét, kudarc, csalódás érheti. Ez a pszichés tényező viszont további inger (disz-stressz hatás) a testi-szervezetre és tovább fokozódik a bőr izzadtságmirigyeinek működése.

E két rendkívül egyszerű példa meggyőzően mutatja a testi-szervezeti és a pszichés tényezők a már kiépített sztereotípia miatti egymásra hatásának és egymástól függésének a sémáját. Nehézség nélkül adaptálhatók e példák más, a felhozott példáknál sokkal bonyolultabb szomatiko-pszichés, illetve pszicho-szomatikus mozgásirányú folyamatok megértéséhez. Arra kell csupán gondolnunk, hogy az ember mindennapi élete nem hasonlítható a kísérleti állatok életéhez. Az emberek sem személyiségük folyamatos kialakulása közben, sem a már kész felnőttségükben nem teljesen hang- és fényszigetelt, kondicionált levegőjű laboratóriumi kísérleti kamrákban élnek, hanem nyílt társadalmi és természeti környezetben, és minden ingert, ami életük élése közben éri őket (beleértve a felnőttek tanítását, nevelését mint ingert), sajátos egyéni személyiségükben dolgoznak fel a már addigra kialakult sajátos értékelő rendszerükkel saját maguk számára. Ebben az értékelő rendszerben a természeti jellegű ingerek és a pszichés jellegű (absztrakt) ingerek mint ingerület — izgalom-kiváltó hatások — amint említettük —, akként válnak ekvivalenssé, vagyis a természetes életjelenségek akként humanizálódnak, ahogyan az ember ontogenezise folyamán a környezet felnőttjei: a beszéd és az írás megtanításával párhuzamosan fokozatosan megtanítják, „elfogadtatják" és beépítik (beprogramozzák) az egyén korábban csak biológiai jellegű *jelentések* rendszerébe a társadalmi emberek által konvencionálisan kialakított társadalmi jellegű *értékeléseket*, mint az emberre általában érvényes jelentések (jó–rossz, szép–csúnya, értékes — értéktelen, büntetendő — jutalmazandó) rendszerét. Ez a társadalmi jelentések rendszerének elfogadottsága mint a cselekedeteket meghatározó funkcionalitás képviseli a szocializált humanizálódást.

Az, hogy adott egyén felnőttkorában az említett reflexformák, ingerre (szükséglet, igény) válaszadási formák közül a személyiség összműködésében melyik a domináns, tehát az ingerek túlnyomó részére az egyén melyik mechanizmus szerint válaszol, hogy az életfolyamatok közül melyek és milyen intenzitással szocializáltan humanizálódtak, az az egyén sajátos élettörténetét kialakított tényezőktől függ. Az biztos, hogy az egyedi életben végig mind a négy reflexforma, válaszadási mechanizmus forma működésbe lépésének lehetősége megmarad, és adott szituációkban az ősibbek veszélyeztetik a „fiatatalabb"-ak hatásosságát. Hogy az életjelenségek értelmezésében és a jelentések rendszerében mennyire hatásosan érvényesül a társadalmi hatásként kiépült

szocializált humanizálódás, a „fiatalabb" feldolgozási, válaszadási működési forma az egyén megnyilvánulásai aktuális irányításában, ez nagyon bonyolult aktuális belső folyamatoktól is függ. Tudni kell, hogy az aktuális személyiségfunkcionálás a kinetikus jellegű válaszadás előtt a belső feldolgozó folyamatban, az analizáló történések közben *az inger jelentésének* megállapításához a pszichikum bizonyos kódolási szisztémát vesz igénybe. A jelentés-megállapítási kódszisztéma kulcsa: „a nekem jó" és „a nekem rossz".

„A nekem jó" és „a nekem rossz" lehet testi-szervezeti és lehet pszichológiai jellegű. Vagyis az ingereknek a kódkulccsal történő megoldással *jelentése* lehet testi fájdalmat vagy testi jóérzést, kedvező vagy kedvezőtlen testi állapotot jelentő, vagy lehet pszichés jellegű: érzelmi örömet, érzelmi kínt, bánatot, szomorúságot vagy értelmi jellegű tárgyi, etikai, esztétikai értéket jelentő. Leglényegesebb milyenségben az ekkénti kódkulccsal megoldott jelentés lehet a teljes testi szervezet létét veszélyeztető vagy védő, vagy lehet csupán a pszichikum szempontjából egzisztenciális megsemmisülést vagy ellenkezőleg ilyen segítést, támogatást jelentő.

A legdifferenciáltabb, legérettebb, legbonyolultabb emberi személyiség is lényegében a legősibb élő organizmusok alaptörvényszerűségeit követi, mikor bármilyen inger—ingerület—izgalom belső feldolgozásakor személyiség megnyilvánulásban, állásfoglalásban, cselekvésben, tevékenységben, viselkedésben, magatartásban, az ingerre választ ad. Ez az ősi törvény: *„a nekem rossz" elől el kell menekülni*, *„a nekem jó" felé kell közeledni*, „a nekem rossz"-at támadni kell, meg kell semmisíteni, „a nekem jó"-t meg kell tartani, meg kell védeni.

A rendkívül bonyolult emberi személyiségben és ezen belül a pszichikumban ez „a nekem rossz"-tól menekülés és „a nekem jó"-hoz közeledés realizálása a mindennapi életben és a cselekvésben, a tevékenységben, a mozgásban, a viselkedésben, a magatartásban megnyilvánuló álláspont kialakítása persze nem olyan egyszerűen történik, mint pl. az egysejtű amőbának „a nekem rossz"-at reprezentáló száraz megnyilvánulástól el, „a nekem jó"-t jelentő nedves megnyilvánulás felé oda mozgása, vagyis csupán kémiai és fizikai jellegű hatásokra válasz. Az ingerre az emberi válaszadás mint személyiség megnyilvánulás, mint állásfoglalás, cselekvés, tevékenység, viselkedés, magatartás nagyon bonyolult áttételeken át jut el a realizálódásig. Van pl. olyan személyiségű ember, aki elviseli a legveszélyesebb testi-szervezeti „nekem rossz" állapotot, a legnagyobb fokú testi fájdalmat, kínt, esetleg még a halált is, mert az inger—ingerület—izgalom feldolgozásaként realizálódott cselekedet, tevékenység, viselkedés a személyiségében olyan pszichikai jellegű „nekem jó"-t vált ki, amit az adott fejlettségű ember a legfőbb emberi „nekem jó"-nak él, aminek elérését az élet értelmének, a legfőbb életcélnak tartja. Fordított is lehet a bonyolult áttétel. Van olyan személyiségű ember, aki a testi-szervezeti „nekem jó" elérése kedvéért elviseli a más ember számára elviselhetetlen pszichikai „nekem

rossz" állapotokat, esetleg a pszichikai jellegű egzisztenciális megsemmisülést.

Azt kell mondanom, hogy az eddigi klinikai tapasztalatok alapján úgy látszik, hogy általában minél fiatalabb életkorú, minél kevésbé szocializáltan humanizálódott személyiségű az egyén, a megnyilvánulásait, az állásfoglalásait, cselekvéseit, tevékenységeit, viselkedését, magatartását indító meghatározók annál inkább a testi-szervezeti „nekem jó" elérése irányába tolják. Minél érettebb, differenciáltabb, bonyolultabb lett viszont egyéni fejlődése folyamán az egyed személyisége, annál inkább lépnek jelentőségben előtérbe a pszichikai jellegű „nekem jó" állapotok elérésére való törekvések, mint megnyilvánulásra, állásfoglalás kialakítására, cselekvésre, ténykedésre, viselkedésre, magatartásra indítók.

Általában nem csupán az életkor számszerű előrehaladásával párhuzamosan alakul ki ez az utóbbi élet-élési forma. A személyiség fejlődésének azon szintjén bontakozik ez ki, mikor a személyiség-dinámia (funkció-rendszer) központjában már nem *az én* fontossága áll, hanem *az én* fontossága elhelyezkedik *a te*, *az ő*, *az ők* fontosságát is magában foglaló központi elhelyezkedésű *mi* fontosságában. E fejlettségi szinten már a személyiség-dinámia (funkcionális rendszer) központjában *a mi* foglalja el a legjelentősebb helyet, és a „nekem jó" helyett „*a nekünk jó*", „a nekem rossz" helyett „*a nekünk rossz*" az inger—ingerület—izgalom jelentését megoldó kódolási kulcs. Ez *a mi* a fejlődés alacsonyabb szintjén csupán *az én és a te*, az én és az anya kettősének egységét jelenti. Csak későbbi életszakban szervülnek ehhez hozzá a többi családtagok, majd a család egésze, és még sokkal később a kisebb és nagyobb közösségekhez, a munkahelyhez, a hazához tartozó emberek közösségének egésze, majd az egész emberiség („mindenki"), majd a nem tárgyias mivoltú eszmék, ideák.

IV. A gyakorlat számára levonható következtetések

Amint az eddigiekben utaltunk rá, a személyiséget alkotó két nagy szisztéma közül *a testi-szervezet (vegetatív szomatikum)* a veleszületett, genetikailag beprogramozódottak megvalósulásaként egészséges körülmények között a biológiai érés folyamán mindenként jellegzetes általános emberi morfológiai és élettani funkcionalitási formában kialakul, *a pszichikum* kialakulása ezzel szemben szigorúan függvénye a megszületés utáni egyéni életet körülvevő környezethatásoknak. A pszichikum az ontogenezisben a környezet (társadalmi + természeti) embereivel való együttélésben, együtt cselekvésben, együtt tevékenykedve a folyamatosan aktuális ráhatások által megindított folyamatok: inger—ingerület—izgalom—oldás (érzelmi, gondolati, cselekvési történések) belső egyéni feldolgozása fejlődési folyamatában „szerzetten" és kifejezetten egyéni tartalommal jön létre. A kialakult forma és tartalom tehát

kifejezetten a környezethatások eredménye. A külső hatások közül kiemelkedően fontosak az egyénhez érzelmileg közelállóknak az egyénre, cselekedeteire vonatkozó értékelései. Ezen ismeretekből mind az orvosi, mind a pedagógiai gyakorlat számára az a fontos következtetés vonható le, hogy a testi-szervezetre vonatkozó és a filogenezisben kialakult beprogramozódottságok egészséges körülmények között akaratilag nem változtathatók meg. Annyit tudunk tenni, hogy a kívánatos testi-szervezeti tulajdonságokat erősítjük, a nemkívánatosakat gyengíteni igyekszünk. A pszichikumban viszont — és ez lényeges — az ontogenezis folyamán kialakult beprogramozódottságok a visszacsatolás folyamata felhasználásával átalakíthatók vagy a nemkívánatosak kialakulása megelőzhető. Hogy ez a mindennapi gyakorlatban megtörténhessen, *a tennivalók módszerét* illetően figyelembe kell venni, hogy közvetlenül a megszületés után az egyed még tisztán biológiai jellegű lény és a meginduló extrauterin érési folyamat biológiai törvényszerűségeket követ. Ebben a korai életszakban az egyed életére alapvetők a szomatikus tényezők. Ezeket felhasználva kell tehát a környezeti hatásokat kifejteni. Ennek megfelelően ezen életkorban a „nevelés" módszerei: a gondozás, a táplálás mindennapi tennivalói végrehajtási miként jében vannak elrejtve. Mivel azonban a mai civilizált társadalmakban az új egyed élete már az extrauterin életnek kezdet kezdetétől társadalmi keretek között indul, majd zajlik tovább, a „nevelési" módszerek további megválasztásakor tudomásul kell venni azt is, hogy az anyán és a többi felnőttön át közvetett és a különböző intézmények közbejöttével közvetlen társadalmi pszichés jellegű hatások is már a megszületés után azonnal elkezdik kialakítani, formálni azt a funkcionális rendszert, amit azután később a maga teljességében pszichikumnak nevezünk. Amint az újszülöttkortól kezdve az egyén élete halad előre a csecsemő-, a kisgyermek-, az óvodás-, az iskolás gyermekkoron át az ifjúkor, majd a felnőttség felé, az ekként fokozatosan mindinkább kialakuló pszichés rendszer szerepe a személyiségen belül mind kifejezettebb és kifejezettebb lesz. Hogy a személyiség fejlődése az egyén és a társadalom szempontjából egyaránt a kívánatosnak megfelelően haladjon, ahhoz a felnőttség felé haladó életszakaszokon az élettani jellegű gondozó, tápláló tevékenységi hatások mellett mind inkább és inkább előtérbe kell kerüljenek mint „nevelően" környezethatások a pszichikus jellegű tényezők. Ugyanis az érés a fejlődés szerint egymást követő életszakaszokban az egyed életfolyamatait *dominánsan irányító* belső erők is változáson mennek át. Míg meghatározott fiatal életszakban a személyiség egészén belül az érzelmi személyiség-elem a vezérlő és csak a továbbfejlődéssel fokozatosan veszi át a rendszer vezérlését az értelmi személyiség-elem. Egészséges körülmények között a jól fejlett felnőtt személyiségű emberben a szomatikum és a pszichikum kölcsönhatásában a dominancia a pszichikus hatás értelmi jellegű dominanciája felé tolódik el. Anélkül természetesen, hogy a többi részelem hatása teljesen kialudna. E fejlődési formának megfelelően az életkor haladásával párhuza-

mosan csupán a teherbírásnak megfelelően fokozva az absztrakcióval járó terhelést a „nevelő" módszereknek mind több és több pszichés elemet (verbális jellegű tanítás, oktatás) kell tartalmazniok. Sőt a mai társadalom elvárásait és szükségleteit tekintve mind az egyén, mind a társadalom egésze szempontjából azt kellene elérni a „nevelés"-sel, hogy a pszichikum elemei közül a tudatos elemek legyenek a kölcsönhatások között a személyiségben a vezérlők. Ennek eléréséhez azonban a „nevelődés-nevelésben" mind az egyénnek, a „neveltnek", mind a társadalom egészének, a környezetnek, a „nevelőknek" egymás szempontjait messzemenően figyelembe véve nagy erőfeszítéseket kell tenniök.

A RETINOBLASTOMA HISTOGENESISE*

RADNÓT MAGDA, akadémikus

Közlésre érkezett: 1977. VI. 1.

Semmelweis Orvostudományi Egyetem I. sz. Szemészeti klinika, Budapest

A retinoblastoma több mint 100 év óta ismeretes. Rudolf *Virchow* írta le 1864-ben és gliomának tartotta.

Legújabb dán, finn, francia és kanadai statisztikák szerint 16—18 000 szülésre esik egy eset. Holland adatok *(Schappert—Kimmijser* 1971) szerint 1934-ben 1 : 34 000, 1958-ban 1 : 14 000 volt az előfordulás. Meglepőek *Albert* és munkatársainak (1974) adatai, akik Haitiban végeztek kutatásokat és megállapították, hogy 1000 szülésre esik 1 retinoblastoma. Nigériában is feltűnően magas a retinoblastoma előfordulása. *Tarkkanen* és *Tuovinen* (1971) közlése szerint 1935—39 között 1 : 33 000, 1950—64 között 1 : 16 000 volt az előfordulás Finnországban. A retinoblastoma előfordulása tehát állandóan emelkedik. A melanoblastoma után a szem leggyakoribb daganata. Csecsemő, illetve gyermekkorban lép fel, a két szem és a két nem egyformán érintett, minden negyedik esetben a daganat kétoldali.

A gyermekkori vakság okai között a retinoblastoma 6%-kal szerepel *(Lindstedt* 1969 és *Pearce* 1975). *Zimmermann* (1958) anyagában 1000 enucleált gyermekszem közül közel 200 volt retinoblastomás.

Arra a kérdésre, hogy mi az oka a daganat állandó szaporodásának, egyelőre csak feltevésekkel lehet felelni. Az egyik a diagnosztika és therapia fejlődése. Korábban állítják fel a diagnózist, több retinoblastomás marad életben és így többnek lesz utódja. Kétségtelen, hogy vannak öröklődő esetek, éspedig ez az esetek 25%-ában mutatható ki. Kétoldali esetekben az öröklődés autosomalis dominans inkomplet penetranciával. Az utódok 45%-ában várható a daganat, 80%-os penetránciával.

Két család ismeretes az irodalomban, amelyekben négy generatión mutatható ki a daganat *(Migdal* 1976). Az esetek többségében harmadik generatio nincs. A második generatióban többnyire kétoldali a daganat. Vannak esetek, amikor a két szem retinoblastomáján kívül harmadik daganat is fellép a gyerekben és olyan családok is vannak, amikor az egyes családtagokon retinoblastomán kívül többnyire rosszindulatú daganat lép fel. *Aherne* (1974) retinoblastomás gyerekeken osteosarcomát észlelt.

* 1977. január 26-án elhangzott akadémiai székfoglaló előadás.

Egyes esetekben azonban mutatiókat kell feltételezni. Vannak esetek, amikor a retinoblastoma más fejlődési zavarokkal együtt lép fel. Így előfordul microphthalmus, colobomák, microcephalia, mentalis retardatio, kryptorchismus, hypospadiasis, micrognathia. Ezek a retinoblastomák morphologiailag nem különböznek azoktól, amelyekben más, mint retinoblastoma nem található.

Hogy mi a jelentősége a D chromosoma csoportban található deletiónak, arra ma még nehéz felelni. *Antillón* és *Aranda* (1974) a G-csoportban észleltek deletiót. Ez az elváltozás elsősorban olyan esetekben észlelhető, mikor más fejlődési zavar is van. Trisomiás esetekben fellépő retinoblastomák esetén nagy százalékban észlelhető deletio.

A szövettani kép alapján differentiált és differentiálatlan daganatokat különböztetnek meg. A megkülönböztetés alapja a rosetták. Ezeket *Flexner* (1891) és *Wintersteiner* (1897) írták le, és e rosetták alapján a daganatot neuroectodermális eredetűnek tartották és ezért a retinoblastoma elnevezést kapta. Az amerikaiak szerint ez az elnevezés *Jacksontól* (1926) származik, a francia irodalom szerint pedig *Mawas*-tól (1924). Ez utóbbi a helytálló, mert erre vonatkozó cikke két évvel Jacksoné előtt, 1924-ben jelent meg.

Állatban retinoblastoma nem fordul elő. Az irodalomban szereplő esetek újravizsgálata nem igazolta a diagnózist. Kísérletesen vírusokkal morphologiailag hasonló daganatokat idéztek elő nemcsak rágcsálókra és macskafélékre pathogén vírusokkal, de a humán pathogén adenovírus 12-vel is, de ezek a daganatok morphologiailag is csak hasonlítanak retinoblastomákra *(Mukai* és *Kobayashi* 1972*)*.

A daganat felismerése az esetek nagyobb részében nem okoz gondot, mert az ún. amaurotikus macskaszem formájában jelenik meg. Igaz, ilyenkor a daganat a szem nagyobb részét tölti ki. Nem ritkán az első tünet kancsalság. Iridocyclitis pseudohypopion vagy hyphaema, az iris rubeosisa vagy haemorrhagiás, glaukoma képét utánozhatja, de csak késői szakban. Ilyenkor a gyulladás a daganatban fellépő necrosis következménye.

A daganat pathológiájában is nyitott kérdések vannak. A szemészeti pathológiának nemcsak Amerikában, de Európában is több országban külön intézete és professzora van, hogy csak Dániára utaljak. A szemészeti vonatkozású szövettani feldolgozást mindenütt szemészeti klinikákon végzik. Az európai és nemzetközi szemészeti pathologiai társaság működése és problémái is sok példát szolgáltatnak arra, hogy csak jól képzett és a szakma fejlődését állandóan figyelemmel kísérő szemészpathológusok képesek valóban eredményesen dolgozni ezen a területen. Arra is szeretném felhívni a figyelmet, az utóbbi években igen sokat változott a helyzet a tekintetben is, hogy a helyes diagnózis felállításához ma már bizonyos esetekben nem a szövettani, hanem az elektronmikroszkopos vizsgálat hoz eredményt. Pl. a thesaurismosisok egyes esetei. Az épnek látszó kötőhártya fibroblastjaiban előforduló jellegzetes zárványok

vezetnek leghamarább helyes diagnózishoz, amint azt *Danis* (1977) nagy anyagon bizonyította.

Újabb időben a rosetták neuroectodermális eredetét kétségbe vonták. *Reese* (1963), *Parkhil* és *Benedikt* (1941) azt állítják, hogy a daganatok glia eredetűek. *Ellsworth* (1969) szerint azonban lehetséges, hogy egy része a retinoblastomáknak neuroectodermális eredetű.

Elektronmikroszkopos vizsgálatok — úgy gondoltuk — e kérdésben döntő jelentőségűek lehetnek.

A következőkben tárgyalandó kérdéseinkhez 31 retinoblastomát dolgoztunk fel transmissiós elektronmikroszkopos és scanning-elektronmikroszkopos vizsgálatokban. Ez az anyag világviszonylatban is nagy. *Allen* és munkatársai (1962) írták le retinoblastomák első elektronmikroszkopos vizsgálatait 1962-ben. Az azóta közölt vizsgálatok általában kis számú, 1—2 esetleg 3—4 retinoblastomára vonatkoznak. Ennek valószínűleg az az oka, hogy egyhangúnak „monotonnak", — amint *Vérin* és munkatársai (1975) írják — találták a retinoblastoma ultrastructuráját. Nagyobb anyaga csupán az amerikai *Albert* és munkatársainak (1974) van. *Ts'o* és munkatársai (1970), *Ohkuma* (1974) és saját megfigyeléseink *(Radnót* 1975, 1976, 1977) azt mutatják, hogy kellő számú daganat és a daganat nagy területeinek vizsgálata esetén olyan elemek találhatók, amelyek a histogenesis szempontjából igen jelentősek.

Albert és munkatársai (1970) retinoblastomákban microtubulusokat észleltek, amelyeknek méretei megfelelnek neurotubulusoknak. Ezek a retinában a photorezeptor egyes részeiben találhatók. Eseteinkben nem ritkán találtunk neurotubulusokat a retinoblastomasejtek nyúlványaiban, de kisebb számban a cytoplasmában is (1., 2. ábra). *Choux* és munkatársai (1972) neurotubulusokon kívül synapticus vesiculumokat is megfigyeltek. Saját anyagunkban synapticus vesiculumok az esetek kb. 1/3-ában találhatók (1., 2., 3. ábra). Ezek azonban megfigyeléseink szerint legtöbbször synaptikus lamellákat vesznek körül *(Radnót* (1975). A synapticus lamellák felfedezése a daganatokban a histogenesis szempontjából azért jelentős, mert a synapticus lamellák a retinának csak idegelemeiben az első és második neuron synapsisaiban fordulnak elő, a glia elemekben pedig nem. A synapticus lamellák méretei, elhelyezkedésük, számuk igen különböző. Előfordulnak a cytoplasmában és nyúlványokban, a sejtmembránnal párhuzamosan és arra merőlegesen, közvetlenül a sejtmembrán alatt és mindkét egymás melletti sejtben vagy csak az egyikben. A sejt közötti résben nincs vagy máskor van sejt közötti elektrodens anyag. Egyes esetekben a sejtmembrán megvastagodása figyelhető meg, más esetekben nem. A lamellák száma: 1—10 fordul elő, csoportos formák egy sejten belül több is. Az első lamellákat a 27. esetben figyeltük meg. Ezután újra megvizsgáltuk eseteinket és 8 esetben találtunk lamellákat, tehát az esetek egy harmadában. Azóta sokkal gondosabban keressük ezeket a structurákat és ha nem is feltűnő nagyobb lamellákat, de kisebb elektrodens vesiculumokkal körülvett lemezkéket, amelyeket csaknem minden retino-

blastomában fellelhetők. A synapticus vesiculumok nagysága — ellentétben a retinában észlelhetőkkel — változó (1., 2. ábra). Synapticus lamellákat *Ohkuma* és *Amemiya* (1974) találtak, újabban pedig *Dickson* és munkatársai (1976) egy esetben.

Ts'o és munkatársai (1970) írták le a „fleurettes"-nek elnevezett sejtcsoportokat. Ezek olyan sejtcsoportok, amelyekben a sejteknek nyúlványa van és ezek mintegy virágcsokrot utánoznak. Ezeknek a nyúlványoknak a szerkezete jellemző, ugyanis nagyjából párhuzamosan elrendezett mitochondriumokat, neurotubulusokat tartalmaznak, felszínükről 9 + 0 tubulust tartalmazó cilium nyúlik ki. A nyúlvány szerkezete, a photorezeptornyúlvány belső tagjának felel meg. Úgy is fogalmazhatnánk, hogy a retina peripheriáján található csonka receptornyúlványnak felelnek meg. *Sevel* és munkatársai (1974) egy eset kapcsán megerősíti ezeket a megfigyeléseket. Saját anyagunkban nemcsak „fleurettes" előfordulását észleltük, hanem elszórtan a fenti leírásnak megfelelő sejteket, amelyeket „fleurettes"-sejteknek nevezhetünk (4., 5. ábra). Ezek a sejtek nem alkotnak csokrot, hanem elszórtan egy-egy ilyen sejt beékelve található a többi sejt közé, tehát egy olyan sejt, amelynek nyúlványa a photorezeptor nyúlvány belső tagjának szerkezetét mutatja *(Radnót* 1976).

Ennél differenciáltabb sejteket is megfigyelhettünk, éspedig a photorezeptornyúlvány külső tagjának megfelelő structurát, ezt a jól ismert erősítőberendezés szerkezetére emlékeztető lamelláris szerkezetű nyúlványt *(Radnót* 1977). Ez megfigyeléseink szerint elhelyezkedhet a „fleurettes"-sejt folytatásában, de előfordulhat a belső tag nélkül (6., 7., 8. ábra). Egyes helyeken a lamellák a cytomembrán folytatásaként követhetők ugyanúgy, mint a csapokban. Ezek a struktúrák már nyilvánvaló bizonyítékai annak, hogy a retinoblastomák — legalábbis, egy részük — olyan sejtekből származnak, amelyekből a photorezeptor keletkezik. Ezek a megfigyelések tehát kétségtelen bizonyítékai annak, hogy a retinoblastomák nem gliából származnak.

Nézzük általában milyen a retinoblastoma-sejtek alakja és milyen egymáshoz való viszonyuk. Alakjuk scanning elektronmikroszkopos képeken ítélhető meg jobban. A retinoblastoma sejtjei többségükben kerek sejtek, de hosszúkás nyúlványos sejtek is előfordulnak. Ezek alkotják az ún. rosettákat (9., 10. ábra).

A sejtek többsége kerek, (11., 12., 13. ábra) viszonylag kevés cytoplasma veszi körül a kerek vagy ovalis magot, amelyben kevés mitochondrium, ribosomák találhatók (10. ábra). Gyorsan növő daganatokban lamellae annulatae (14. ábra) és lipid szemcsék, glykogén, valamint quadrilamelláris membránok fordulnak elő (15. ábra). Ezek az elváltozások gyorsan növő, rosszindulatú daganatokban gyakran észlelhetők. Gyakran láthatók necrotikus sejtek. A magmembránon sajátos kettőződés gyakori (16., 17. ábra). Sejtoszlások gyakoriak (9., 10. ábra) és megfigyelhető, hogy az oszlás alatt, helyesebben végén a leánysejtekben újra keletkező magmembrán idő előtti szabálytalan újraképződése

az oka a sajátos magmembrán szabálytalanságoknak (18. ábra). A magmembrán kettőződésével *Popoff* és *Ellsworth* (1969) foglalkozott behatóan. A magvacskák szerkezete igen változatos. Leggyakoribb a reticuláris typusú magvacska, megfigyelhető segregatio (19. ábra) és viszonylag gyakran észlelhető filamentáris typusú magvacska (20. ábra). Tulajdonképpen a más daganatokban észlelt magvacska-typusok mind fellelhetők. A retinoblastómás gyerekek egyik esetünkben sem kaptak cytostatikumokat, tehát nem antimetabolitok hatására keletkeztek a magvacska szerkezetek.

A rosettákat alkotó sejtekben a mag a sejt alapján helyezkedik el, tehát excentrikusan és a lumen felé eső részben helyezkednek el az organellumok. Ezeknek a sejteknek körkörös elrendeződése útján keletkeznek a rosetták. A sejtekből egyes esetekben a lumen felé cilium nyúlik ki. A nyúlvány magasságában a sejtek között desmosomaszerű kapcsolatok vannak, így a rosetta szerkezete emlékeztet a photorezeptorokra már azért is, mert a sejt közötti kapcsolatok az ún. külső határhártyára emlékeztetnek (10. ábra), bár itt a sejtek között Müller f. sejtek nem találhatók. A rosettát alkotó sejtek között is sok az oszlás. A retinoblastoma sejtek girlandokat is szeretnek képezni (12., 13. ábra). Ez különösen a scanning elektronmikroszkopos képeken figyelhető meg, de *Albert* és munkatársai (1974) szövettenyészetekben is ezt figyelték meg. A sejtek nagysága a daganatban megfigyelhető egy-egy vörösvérsejt vagy lymphocyta alapján is könnyen megbecsülhető. Általában valamivel nagyobbak, mint a lymphocyták.

A retinoblastomák erei vékonyfalúak, endothelsejtréteget és basalmembránt figyelhetünk meg. Az endothelsejtekben éppúgy, mint a retina ereinek endothelsejtjeiben a más kórképekben leírt tubuloreticuláris struktúra fordul elő, amely összefügg az endoplasmás reticulummal *(Antal* és *Németh* 1976*)*.

A retinoblastomák évtizedek óta és a legutóbbi vizsgálatokig vitatott histogenesise elektronmikroszkopos vizsgálatok alapján eldöntöttnek tekinthető. Retinoblastomákban a photorezeptor különböző részeinek megfelelő struktúrák fellelhetők, tehát ugyanazon sejtekből származnak, mint a retina első neuronja. Ilyen elemek gliasejtekben nem találhatók.

A retinoblastomák szerkezete szépen igazolja *Bernhard* (1966) megállapításait, hogy a daganatsejtben olyan elemek találhatók, mint a normális sejtekben, csupán a daganatsejt mintegy karikatúrája a normális, helyesebben embryonális sejtnek.

Összefoglalás

A retinoblastoma, a gyermekkor rendkívül rosszindulatú daganata, amelynek az utolsó évtizedekben a gyakorisága kétszeresére emelkedett, klinikai és tudományos szempontból is az érdeklődés előterében áll. A daganat histogenesise a legutóbbi időkig vitatott.

31 retinoblastoma elektronmikroszkopos vizsgálata és irodalmi adatok alapján tárgyalja a daganatnak azokat az elemeit, melyek alapján a histogenesise tisztázható. A daganatban talált synapticus lamellák és vesiculumok, a „fleurettes"-sejtek és lamelláris szerkezetű nyúlványok bizonyítják, hogy a retinoblastomák neurális elemekből egy részük bizonyosan olyan sejtekből származik, mint a photorezeptorok.

IRODALOM

Aherne, G.: Trans, Ophthal. Soc. U. K. **94,** 938 (1974).
Albert, D. M., Dalton, A. J., és *Rabson,* A. S.: Amer. J. Ophthal. **69,** 296 (1970).
Albert, D. M., Lohav, M., Lesser, R., és *Graft,* J.: Trans. ophthal. Soc. U. K. **94,** 909 (1974).
Allen, R. A., Latta, H. és *Straatsma,* B, R.: Invest. Ophthalm. **1,** 728 (1962).
Antal, M. és *Németh,* B.: Klin. Mbl. f. Augenheilk. **169,** 496 (1976).
Antillon, F. és *Aranda,* C.: Anales de la Soc. Mexicana Oft. **48,** 163 (1974).
Bernhard, W.: Symposium. At the frontiers of medicine. Bull. Acad. de Medicine de Belgique. VIIe Série. Tome. 6. Suppl. (1966).
Choux, R., Tripier, M. F., Berard, M., Hassoun, J. és *Toga, M.*: Bull. du Cancer **59,** 301 (1972).
Danis, P.: OSZI kiadvány *I.* 27 (1977).
Dickson, D. H., Ramsey, M. S. és *Tonus,* J. G.: Brit. J. Ophthalm. **60,** 371 (1976).
Ellsworth, R. M.: Trans. Amer. Ophthal. Soc. **67,** 462 (1969).
Flexner, S.: Bull. Johns Hopkins Hosp. **2,** 115 (1891).
Jackson, E.: Trans. Amer. Ophthal. Soc. **24,** 39 (1926).
Lindstedt, E.: Acta Ophthalm. Suppl. **104,** (1969).
Mawas, I.: Bull. Mém. S. F. O. **37,** 512 (1924).
Migdal, C.: Brit. J. Ophthalm. **60,** 151 (1976).
Mukai, N., és *Kobayashi,* S.: Am. J. Pathol. **69,** 331 (1972).
Ohkuma, M., Amemiya Tsugio, és *Koyama* Shin-ichi: Acta Soc. Ophthalm. Jap. **78,** 1932 (1974).
Parkhill, M. és *Benedict,* W. L.: Amer. J. Ophthalm. **24,** 1354 (1941).
Pearce, W. G.: Canad. J. Ophthal. **10,** 469 (1975).
Popoff, N., és *Ellsworth,* R. M.: J. Ultrastructural Res. **29,** 535 (1969).
Radnót, Magdolna: Journ. Paediatr. Ophth. **12,** 259 (1975).
Radnót, M.: Amer. J. Ophthal. **79,** 393 (1975).
Radnót, M., és *Németh,* B.: Szemészet **112,** 19 (1975).
Radnót, M.: Magyar Onkológia **20,** 250 (1976).
Radnót, M.: Albrecht v. Graefes Arch. klin. exp. Ophthal. **202,** 63 (1977).
Reese, A. B.: Tumors of the Eye. New York, Hoeber. (1963).
Schappert—Kimmijser, J.: Ophthalmologica **163,** 12 (1971).
Sevel, D., Rohm, G. F. és *Sealy, R.*: Brit. J. Ophth. **57,** 687 (1974).
Tarkkanen, A. és *Tuovinen,* E.: Acta Ophthalm. **49,** 293 (1971).
Ts'o, M. O. M., Fine, B. S. és *Zimmerman,* L. E.: Am. J. Ophthalm. **69,** 350 (1970).
Vérin, Ph., Gendre, Ph., Meunier, N.—M., Berjon, J.—J. és *Vildy.* A.: Ann. d'Oculist. **208.** 794 (1975).
Virchov, R.: Die krankhaften Geschwülste Bd. II. p. 151. Hirschwald, Berlin (1864).
Wintersteiner, H.: Das Neuroepithelioma Retinae 14. Deuticke, Leipzig, (1897).
Zimmerman, L. E.: Amer. Acad. Ophth. Otolaryng. **62,** 697. (1958).

A „PARALYTIKUS" ILEUS SYMPATHICUS IDEGRENDSZERI VONATKOZÁSAI

Szegedi Orvostudományi Egyetemi Kísérletes Sebészeti Intézet és I. sz. Sebészeti Klinika

PETRI GÁBOR,* az MTA levelező tagja.

Közlésre érkezett: 1977 VI. 10

A paralytikus ileus ókortól fogva ismert kórképének legjellemzőbb vonása a bél motoros tevékenységének megszűnése. A köznyelv — az orvosit is beleértve — a mozgásra való képesség elvesztését hűdésnek mondja: innen a „paralytikus" elnevezés. A mechanikus, obstructios ileusra jellemző fokozott motilitástól való megkülönböztetésül, az atoniás, kitágult, mozdulatlan béllel jellemzett kórképet „adynamiás" ileusnak is szokás nevezni. Valójában nem genuin betegségről van szó, hanem valamilyen primér, heveny megbetegedéshez csatlakozó tünetcsoportról, mely utóbbinak középpontjában a motilitási zavar áll. Minthogy régebben az általános hashártyagyulladás során észlelték leggyakrabban, létrejöttét valamilyen toxikus okkal magyarázták; ezen az alapon a hasi műtéteket kísérő enyhébb formáját „peritonizmus"-nak is nevezték, míg a vese- és epekőgörcsöt gyakran követő, hirtelen fellépő formáját „reflektorikus"-nak minősítették. Egy német nőgyógyász, Wagner már 1919-ben leírta, hogy a paralytikus ileus gyakran megszűnik gerincvelői érzéstelenítés után. Azóta is szaporodtak azok a megfigyelések, melyek szerint a paralytikus ileus keletkezésében az idegrendszernek — nyilván a vegetatívnak — van valami szerepe és így került be az irodalomba a „gátlásos" ileus elnevezés is anélkül, hogy a feltételezett gátlás mechanizmusát közelebbről vizsgálták volna. Hogy nem a bél simaizomzatának elégtelenségéről van szó, azt először 1909-ben Hotz igazolta avval, hogy a peritonitises betegből kimetszett izomdarabot in vitro összehúzódásra tudta ingerelni. A hűdés fogalma mégis oly mélyen meggyökerezett az orvosi köztudatban, hogy a „paralytikus" ileus gyógyszeres befolyásolására a legutóbbi időkig simaizom-összehúzó szereket (hypophysis hátsó lebeny kivonatokat), vagy a jobbik esetben cholinesteráz bénítókat használtak, ami körülbelül olyan, mintha a kifáradt lovat ütlegeléssel akarják rábírni, hogy tovább húzza a nehéz terhet. Amiképpen ettől a kifáradt ló nem lesz erősebb, ezekkel a szerekkel lehet ugyan néhány görcsös kontrakciót provokálni, de az ileus attól nem szűnik meg. Igaza volt Garrott Allennek, aki azt írta, hogy a

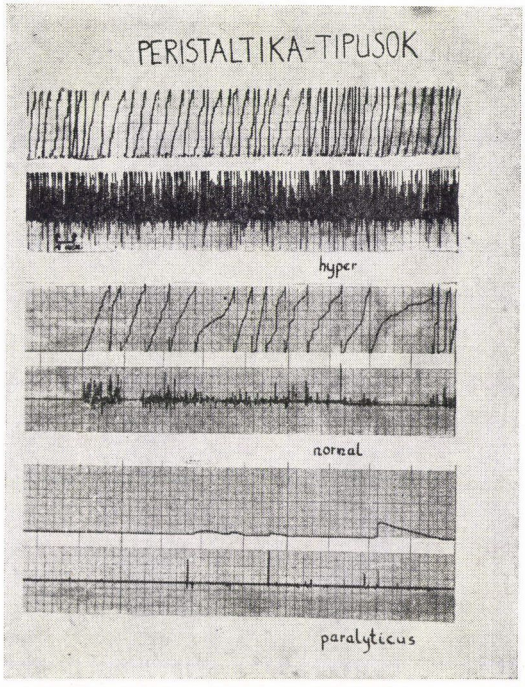
* 1977. febr. 17-én elhangzott akadémiai székfoglaló előadás

használatos gyógyszerek inkább nyugtatják meg az orvost, semmint a betegen segítenének.

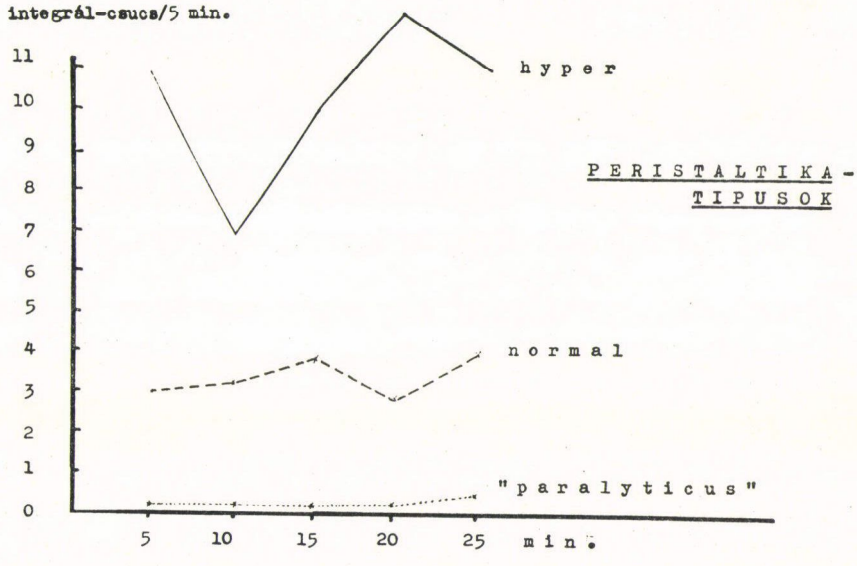
Amikor jó húsz évvel ezelőtt Laborit munkái nyomán elterjedt Európában a chlorpromazint tartalmazó gyógyszerkeverékek használata a shock kezelésében és a műtéti előkészítésben, arra figyeltem fel, hogy az így előkészített betegeken nagyobb hasi műtét után a megszokottnál korábban térnek vissza a bélhangok. Hamarosan kitűnt, hogy a chlorpromazinnak egymagában is megvan ez a hatása és ettől fogva rendszeresen alkalmaztuk ezt a gyógyszert a hagyományos cholinesteráz bénítók helyett a műtét utáni bélmotilitási zavarok kezelésére. A hatás értelmezése igazán könnyűnek látszott: a bél gátló idege a klasszikus élettani ismeretek szerint a sympathicus; a chlorpromazint Laborit mint sympatholyticumot ajánlotta az adrenergiás eredetű vasoconstrictio megszüntetésére. A műtét mint számos más heveny ártalom, sympathoadrenerg mobilizációval jár: ennek a bélmozgásokat gátló hatását ellensúlyozzák a sympatholytikumok.

Mindez olyan természetesnek tűnt, hogy még közlésre sem tartottam érdemesnek, csak 1964-ben egyik berlini sebészkongresszus ileus-vitájában említettem meg ilyen irányú klinikai tapasztalatunkat. Amikor 1966-ban Catchpole rövid előzetes közleményében beszámolt hasonló jellegű vizsgálatairól, akkor kezdtem komolyabban foglalkozni a kérdéssel (1965, 1967, 1968, 1971). Szerencsére ebben az időben lépett be Intézetembe feleségével, Gibiszer Katalinnal együtt Pórszász János, aki pár évvel később a Pécsi Egyetemen a gyógyszertan professzora lett és mindnyájunk szomorúságára és a magyar farmakológiai tudomány nagy veszteségére fiatalon elhunyt. A vizsgálatok, melyekben az említetteken kívül Tárnoky Klára vegyészdoktor és Szenohradszky János anaesthesiológus munkatársam vett részt kezdettől fogva, két feladatot tűztek ki: egyik a sympatholysis szerepének tüzetes elemzése a bélmotilitás befolyásolásában, a másik egy egyszerű, a betegágynál is alkalmazható módszer kidolgozása a bélhangok objektív regisztrálására. Ez utóbbi téren Tutsek László elektromérnök munkatársam volt nagy segítségünkre. A hasfalon át mikrofonnal felvett hangjelenségeket mágneses szalagon rögzítettük, majd átjátszottuk egy Beckman Dynográfra, mely a sűrű apró kitéréseket integrálta és így könnyen megszámlálhatóvá tette. Egyszerű grafikus ábrázolást tesz lehetővé az öt percre eső integrál csúcsok feltüntetése a megfigyelés időtartama folyamán. (1., 2. ábra)

Első megfigyelésem, amint említettem, a chlorpromazinra vonatkozott, amely alpha-receptorgátló ún. major tranquillánsként ismeretes a gyógyászatban. A vizsgálatok zömét azután egy a chlorpromazinhoz hasonló, de valamivel erélyesebb tranquilláns hatású ugyancsak alpha-receptorgátló butyrophenonszármazékkal, a trifluperidollal (Trisedyl, Kőbányai) végeztük. A vizsgálatok későbbi szakaszában ennek a hatását hasonlítottuk össze béta-receptorgátló gyógyszerekével, Inderallal (ICI), Viskennek (EGyT) és főleg a $béta_1$-gátló Practololla1 (EGyT).


PERISTALTIKA-TIPUSOK
hyper
normal
paralyticus

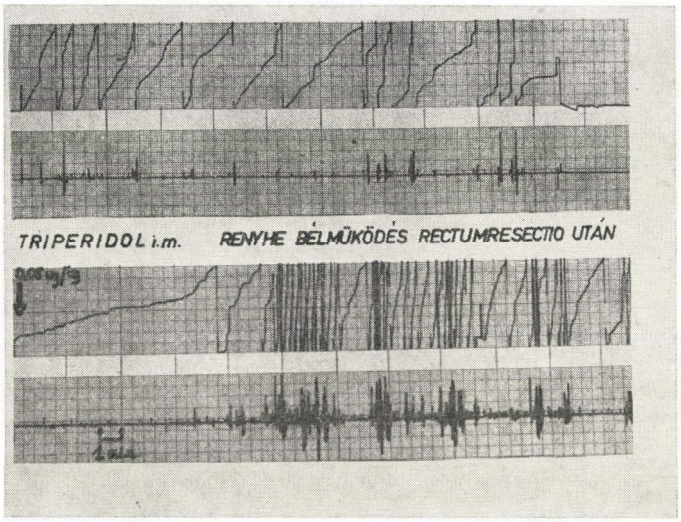
1. ábra


integrál-csucs/5 min.
11
10
9
8
7
6
5
4
3
2
1
0
5
10
15
20
25
min.
hyper
normal
"paralyticus"
PERISTALTIKA-TIPUSOK

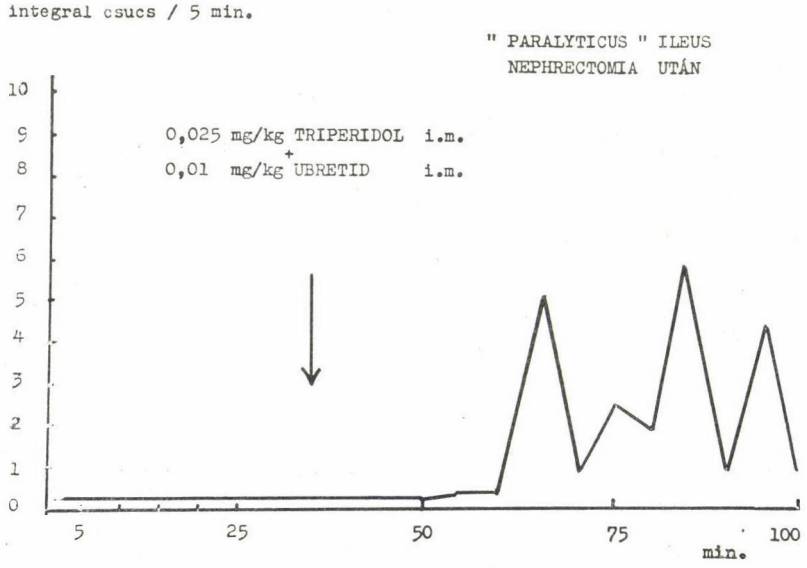
2. ábra

Bemutatok néhány jellegzetes klinikai példát. (3., 4., 5. ábra)

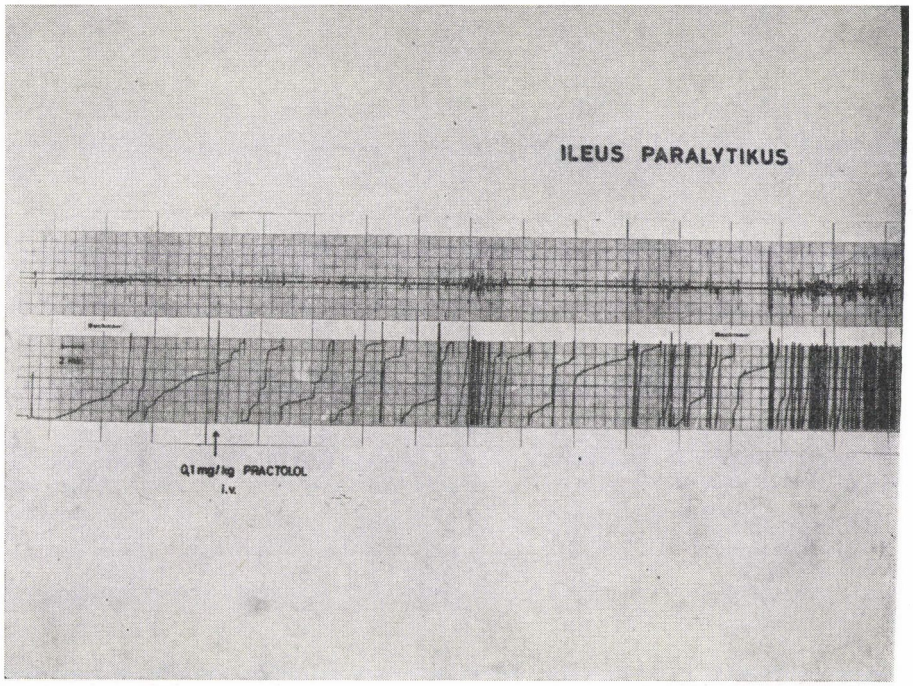
A bevezetésként vetített rövid filmen jól demonstrálható az említett szereknek a bélmozgásokat fokozó hatása a szokatlanul nagy lágyéksérvet borító elvékonyodott bőrön áttűnő bélkacsokra, valamint a röntgenkinematográfiával ábrázolt, kontraszpéppel feltelődött vékonybélre.



3. ábra



4. ábra



5. ábra

A következőkben röviden ismertetném a kiindulásul szolgáló kísérletes farmakológiai vizsgálatok legfontosabb megállapításait:

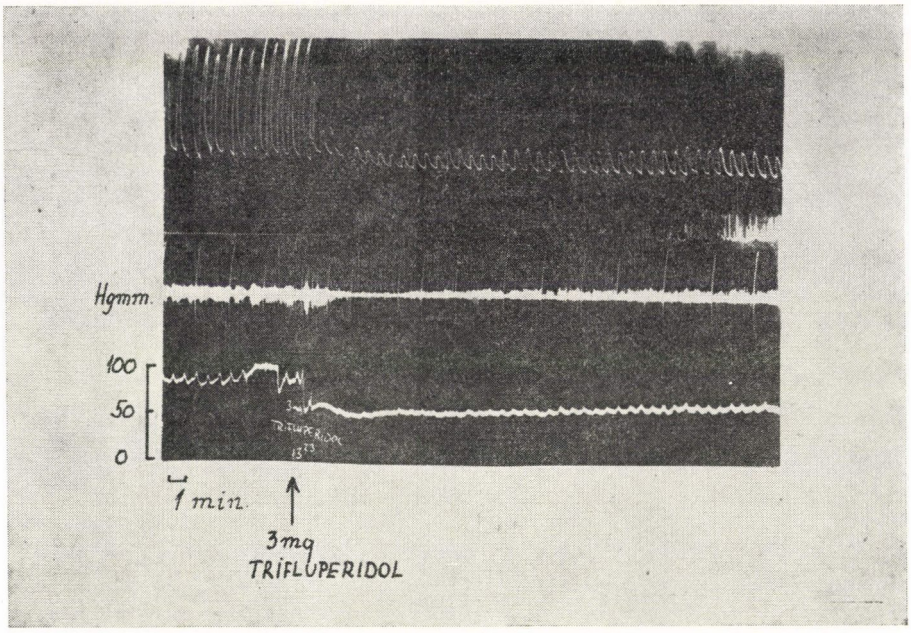
A macskára kidolgozott „paralytikus" ileus-modellen azt találtuk, hogy a sympathicus idegvezetés merőben különböző támadási pontokon ható gyógyszeres gátlása nyomán helyreállnak az addig szünetelő bélmozgások. Érvényes ez a klinikumban bevált chlorpromazinra, Trisedylre, de éppígy a ganglionbénító (TEAB), adrenerg neuronbénító (N-1024) és a nem tranquilláns hatású alpha-receptorbénító szerekre is (phentolamin). (6., 7., 8. ábra)

Érdekes módon a béta-receptorgátló szerek macskán hatástalannak bizonyultak — eltérően az *emberről* készített filmen demonstrált feltűnő hatékonyságuktól. Erre az ellentmondásra később még visszatérek.

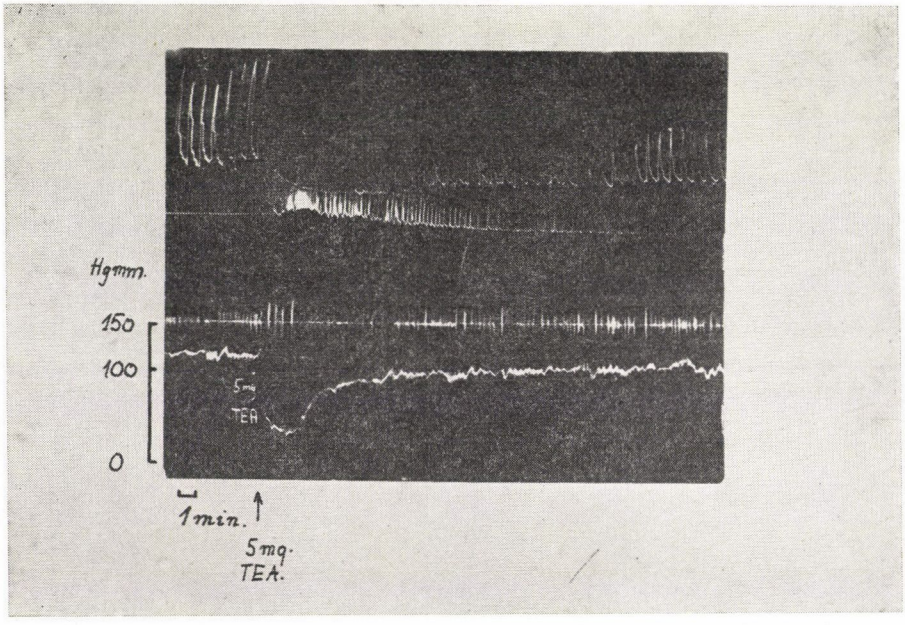
Megállapítást nyert továbbá, hogy a Trisedyl és a cholinesteráz-bénító szerek között igen aktív potentialó synergizmus áll fenn.

Az ileusos gátlást oldó alpha-receptorbénító Trisedyl támadási pontját is sikerült lényegében tisztázni:

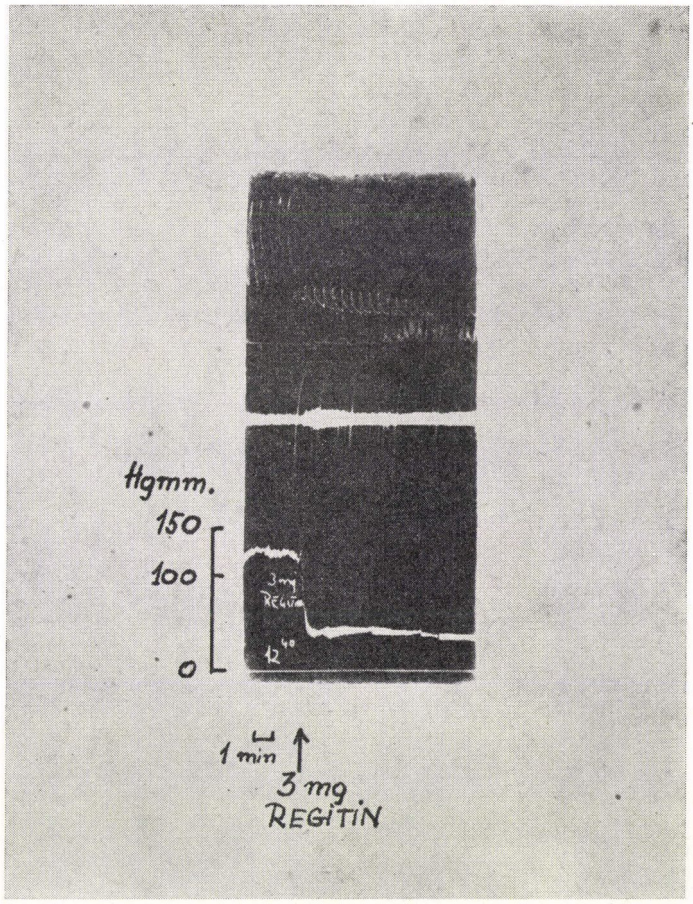
a) Az a tény, hogy a biztosan nem ganglionbénító Trisedyl és éppígy a chlorpromazin által megindított és folyamatosan működő bélen a postganglio-



6. ábra Macskán a has megnyitása és ballonnak a bélbe való behelyezése után megszűnik a peristaltica. A görbék felülről lefelé: 1. sor: a pislogó hártya contractiói praeganglionaris sympathicus ingerlés hatására, 2. sor: bélmozgások, 3. sor: légzés, alsó sor: vérnyomás. A Trifluperidol beadása után a pislogó hártya contractiói csökkennek, míg az addig szünetelő bélmozgások megindulnak



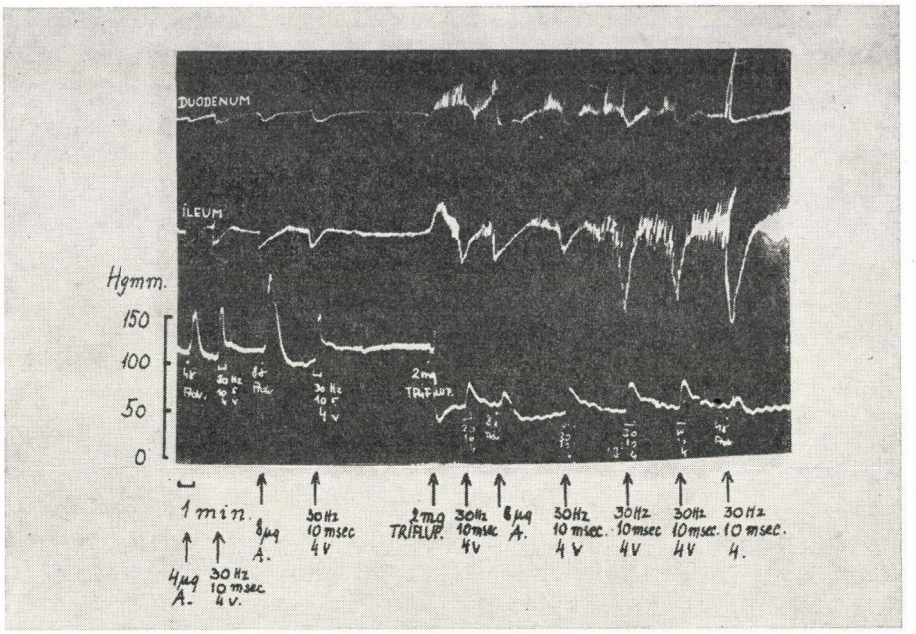
7. *ábra.* Ugyanaz, mint a 6. sz. ábrán, ezúttal TEAB adagolása után



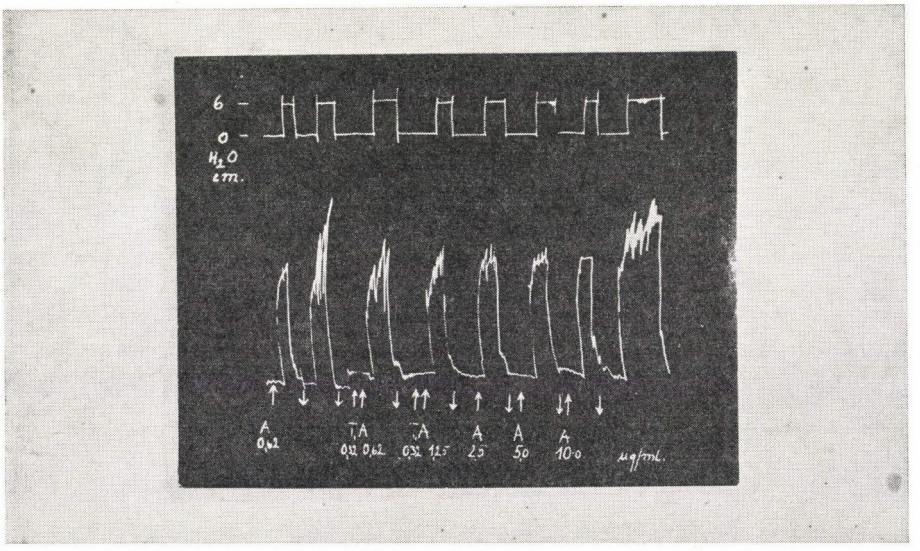
8. ábra. Ugyanaz, mint a 6. sz. ábrán, ezúttal phentolamin (Regitin) adagolása után

naris rost elektromos ingerlése és a befecskendezett adrenalin egyaránt kifejti gátló hatását, arra utal, hogy a Trisedyl nem a noradrenalin (NA) felszabadulását gátolja, tehát nincs adrenerg neuronbénító hatása és nem is a simaizomsejtek alpha-receptorain hat. (9. ábra)

b) Ennek a megállapításnak az értelmezése sok fejtörést okozott. A megfejtést McDougal és West 1954-ben közölt adatai szolgáltatták. Az ő vizsgálataik szerint a selektív alpha-receptorbénító dibenamin igen kis koncentrációban antagonizálta az adrenalin gátló hatását a peristaltikus reflexre. Feltehető volt tehát, hogy a dibenaminhoz hasonlóan a Trisedyl és a chlorpromazin is a peristaltikus reflexre hat, amelynek kiváltási helye a bél izomrétegei közt elhelyezkedő Auerbach plexus. Ezt a feltevést izolált bélkísérletben egyértelműen sikerült bizonyítanunk. (10. ábra)



9. ábra. Váltogatott postganglionaris elektromos ingerlésre, illetve adrenalin befecskendezésre csökken a peristaltica és a bél tónusa. Triperidol beadása után a peristaltica helyreáll, de a közben alkalmazott elektromos ingerlésre, illetve adrenalin-befecskendezésre csökken a bél tónusa



10. ábra. A két végén bekötött izolált bélen intraluminaris nyomásfokozással kiváltott peristalticus reflex adrenalinnal gátolható. Triperidol az adrenalinnal együtt juttatva a vízfürdőbe a nyolcszoros adrenalin-koncentráció gátló hatását is kivédi

Azt is tisztáztuk, hogy a szer bélmozgató hatása nem cholinergiás ingerlő tulajdonságán alapul, amennyiben vizsgálataink szerint a Trisedyl az ACh-nak kis adagban competitiv, nagy adagban irreversibilis antagonistája.

Az a megállapítás, mely szerint a peristaltikus reflex az alpha-receptorgátló szerek támadási pontja, a későbbiekben alapvetőnek bizonyult és összhangban van több, ma fenntartás nélkül elfogadott irodalmi adattal (Norberg, 1964; Vizi, 1968; Paton és Vizi, 1969; Knoll és Vizi, 1970, 1971).

Eddig jutottunk a Pórszász házaspárral való együttműködés éveiben. Pécsi távozásuk után tértünk át a szorosabban vett klinikai farmakológiai vizsgálatokra, melyeket — ahol erre szükség volt — állatkísérletekkel egészítettünk ki. A munkálatok zömét Tárnoky doktornő és Szenohradszky dr. végezte, de sok segítséget kaptunk Knoll professzortól és munkatársaitól, Vizi Szilvesztertől és Kerecsen Lászlótól, az uptake-vizsgálatokban Wollemann Máriától, a legutóbbi időben ismét Pórszász Jánosnétól és új munkatársamtól, Rabloczky dr.-tól. Mindannyiuknak őszinte köszönetemet fejezem ki ez alkalommal.

Minthogy az ún. paralytikus ileus adrenerg természete az imént vázolt kísérletekben beigazolódott, szükségképpen fel kellett tenni azt a kérdést, hogy a leírt farmako-fiziológiai jelenségek hogyan reflektálódnak a sympathicus ingerek közvetítőjének, a NA-nak és a másik természetes monoaminnak, a mellékvesében termelt adrenalinnak (A) az anyagcseréjében.

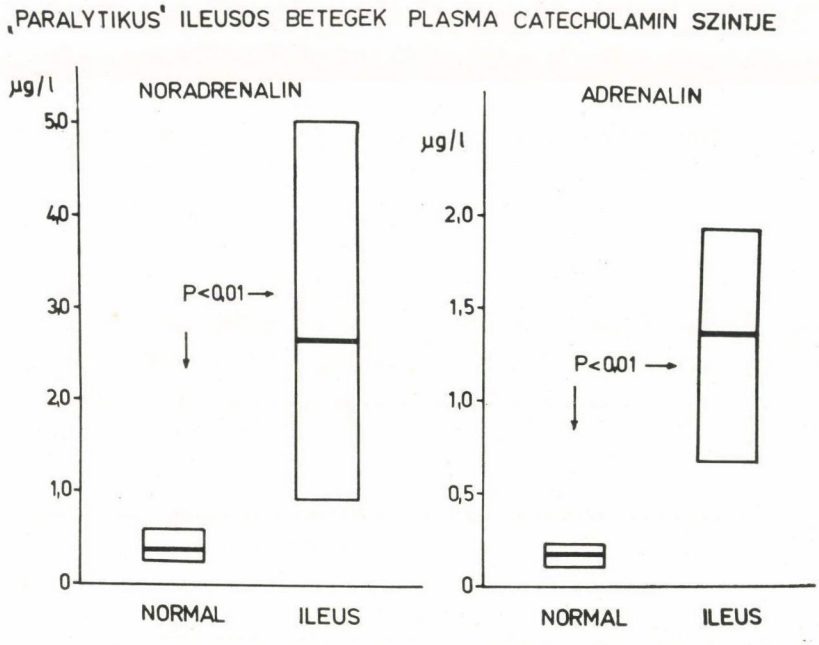
Kimutattuk, hogy ileusos betegek systemás vénás vérében a NA-koncentráció a rendes érték 7-szeresére, az A pedig 8,5-szeresére emelkedik. Ez egyértelműen igazolta azt a feltevést, hogy paralytikus ileusban fokozott adrenerg mobilizációval van dolgunk. (11. ábra)

Logikusnak látszott az a feltevés, hogy az ileusos állapotot megszüntető gyógyszerek hatására az ileusban magasnak talált plasma koncentráció ismét lecsökken a normális szintre. E feltevés ellenőrzésére végzett vizsgálataink szerint a béta-lytikus Inderal a noradrenalin koncentrációját szignifikánsan csökkentette, de az adrenalinét nem! (12. ábra)

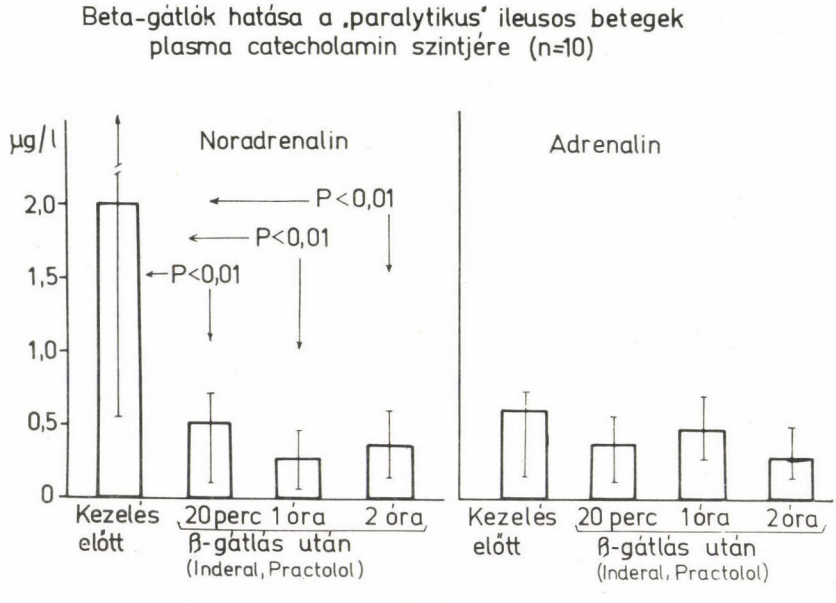
Meglepő volt, hogy a Trisedyl hatására a noradrenalin-szint *eleinte* semmit sem, később is csupán nem-szignifikáns mértékben csökkent. Feltűnően nagy volt a szórás, azonban nem mérési hiba következtében. Ettől eltérően az adrenalin-szint gyorsan és tartósan csökkent — végig szignifikáns mértékben. (13. ábra)

Az utóbbi jelenséget könnyű volt megmagyarázni azokkal a régebben ismert adatokkal, melyek szerint a mellékvesevelő adrenalin-termelése hypothalamikus ellenőrzés alatt áll (Vogt, 1959): az adrenalin-szint csökkenése a Trisedyl centrális, tranquilláns hatása alapján jól értelmezhető volt.

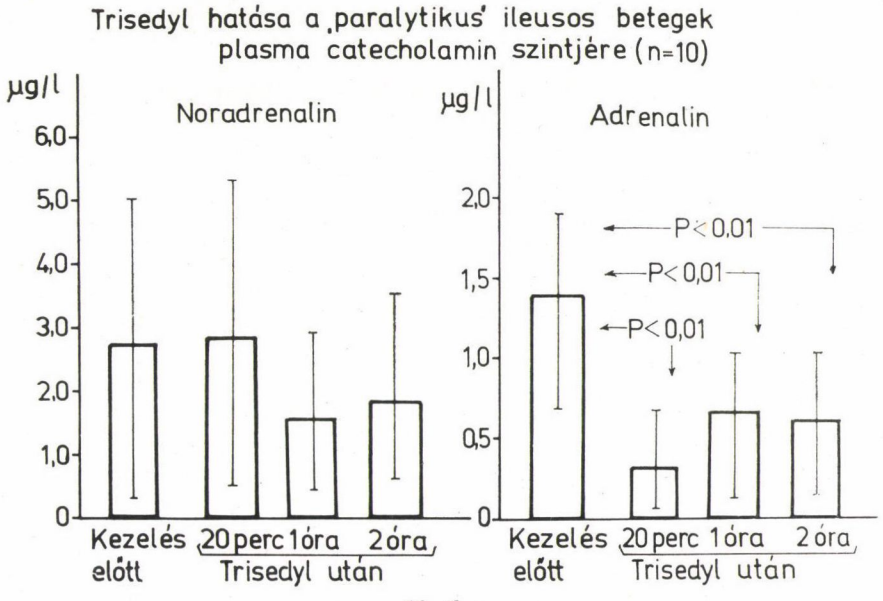
E magyarázat ellenőrzésére más okból végzett szívkathéterezés alkalmával megkanüláltuk az egyik mellékvesevénát és megvizsgáltuk a monoaminkoncentrációk viselkedését Trisedyl, Inderal, valamint a biztosan nem adrenerg hatású diazepam (Seduxen) adagolása nyomán. Az eredmény összhangban volt



11. ábra

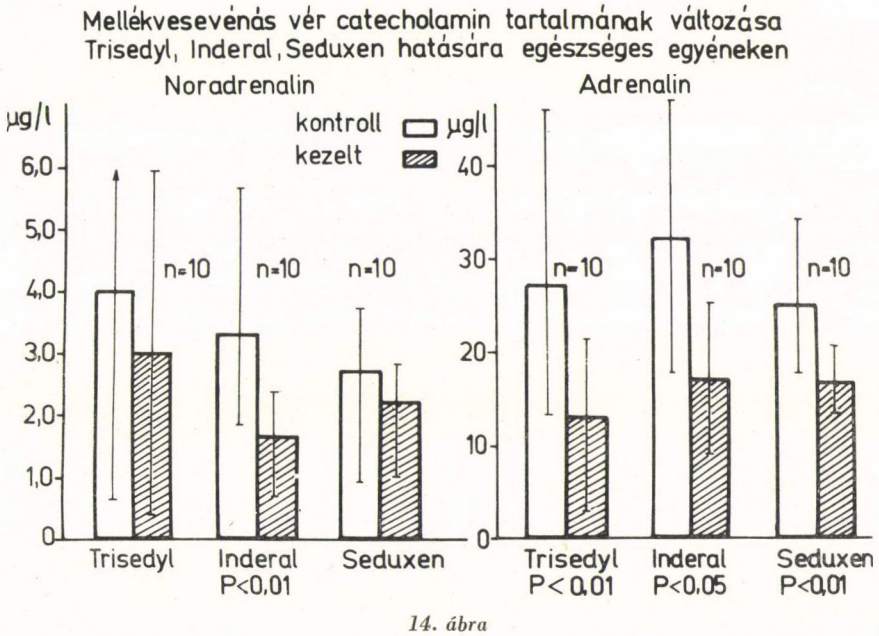


12. ábra



13. ábra

az eddigiekkel: a Trisedyl az adrenalin, az Inderal a noradrenalin koncentrációját csökkentette erősen szignifikánsan és ami ebben a vizsgálatban a főkérdés volt: a nem adrenerg hatású diazepam éppúgy szignifikánsan csökkentette az adrenalin-koncentrációt — igazolván az adrenalin-termelés központi idegrendszeri befolyásolhatóságát. (14. ábra)



14. ábra

Az eddigi adatok birtokában logikusnak tűnt, hogy az ileusban mért catecholamin koncentrációk mesterséges létrehozásával, tehát NA, illetve A vénás befecskendezése nyomán csökkennie kellene a bélmozgásoknak. Ez a próbálkozás kiábrándító eredménnyel végződött — eltekintve attól, hogy a gyógyszeradagok megszabása érthető óvatosságra késztetett. A várt gátló hatás elmaradását egy kis számvetés érthetővé teszi: az infusióval elérhető tolerált koncentráció több nagyságrenddel kisebb, mint a Folkow és munkatársai (1967) által megállapított helyi NA-koncentráció. Adrenalinra vonatkozóan a különbség jóval kisebb.

A gyógyszeresen elért és a helyileg hatékony koncentráció összehasonlítása

I. v. NA-infusio koncentrációja	0,002290	μg/ml
Normál egyén plasma-NA koncentrációja	0,000367	μg/ml
Ileusos beteg plasma-NA koncentrációja	0,002633	μg/ml
Hatásos helyi koncentráció (Folkow et al., 1967)	0,5—1,0	μg/ml
A subcutan beadott adrenalin koncentrációja 30 perccel az injectio után (a plasmában)	0,023	μg/ml
A peristaltikus reflex kioltására in vitro hatásos koncentráció	0,63	μg/ml

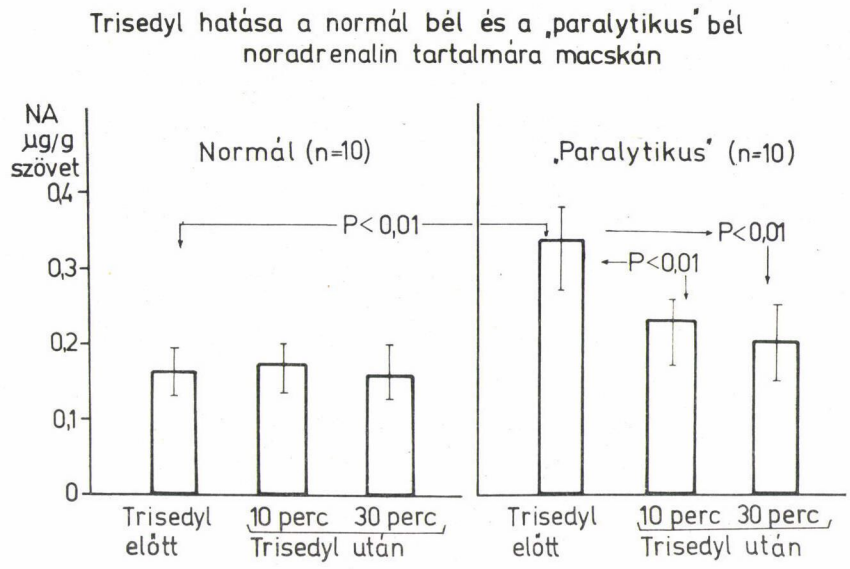
Ez a vizsgálat mégis hasznosnak bizonyult, amennyiben felhívta rá a figyelmünket, hogy a vérben mért catecholamin értékek legfeljebb *utalnak* a periferián, tehát a sympathicus által innervált szövetekben zajló folyamatokra és így a *periferia* az, ahol tovább kell vizsgálódnunk.

Ezért visszatérve régi macskaileus-modellünkre, összehasonlítottuk a normális és az ileusos bél catecholamin-tartalmát és ennek viselkedését gyógyszereink hatására. Itt természetesen csak a NA vizsgálata volt indokolt, hiszen A nem termelődik a bélfalban.

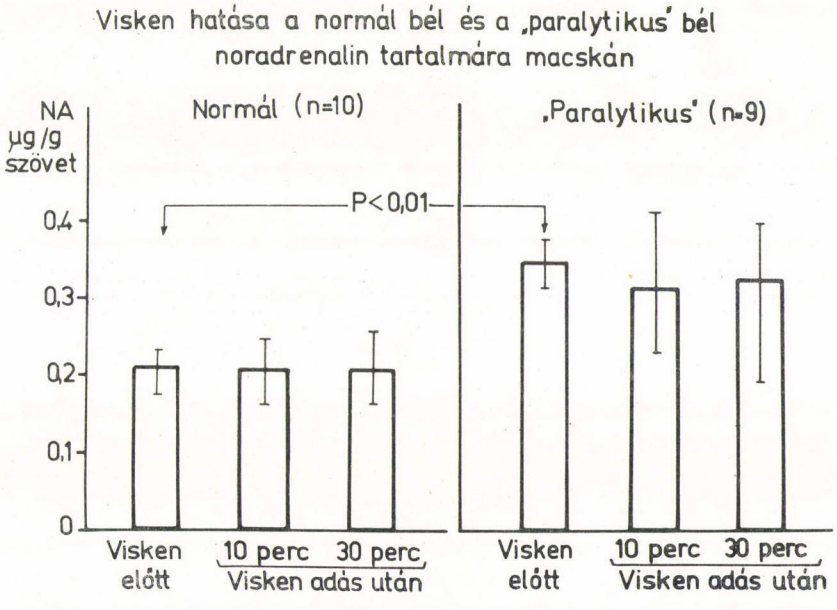
Az ileusos macskabél NA tartalma szignifikánsan nagyobbnak bizonyult, mint a normálisé és ezt a magasabb NA-tartalmat a Trisedyl szignifikánsan leszállította, míg a béta-lytikus Visken egyáltalában nem befolyásolta. Emlékeztetek rá, hogy in vivo kísérletben sem találtuk hatásosnak macskán a béta-gátlókat. (15., 16. ábra)

Megvizsgáltuk a macska mellékveséjének velőállományában is a catecholaminok viselkedését. Itt a NA-tartalmat az alpha- és a béta-receptorgátló szer egyaránt szignifikánsan csökkentette, míg az A-tartalmat csak az alpha-gátló Trisedyl csökkentette, a béta-gátló Practolol nem!

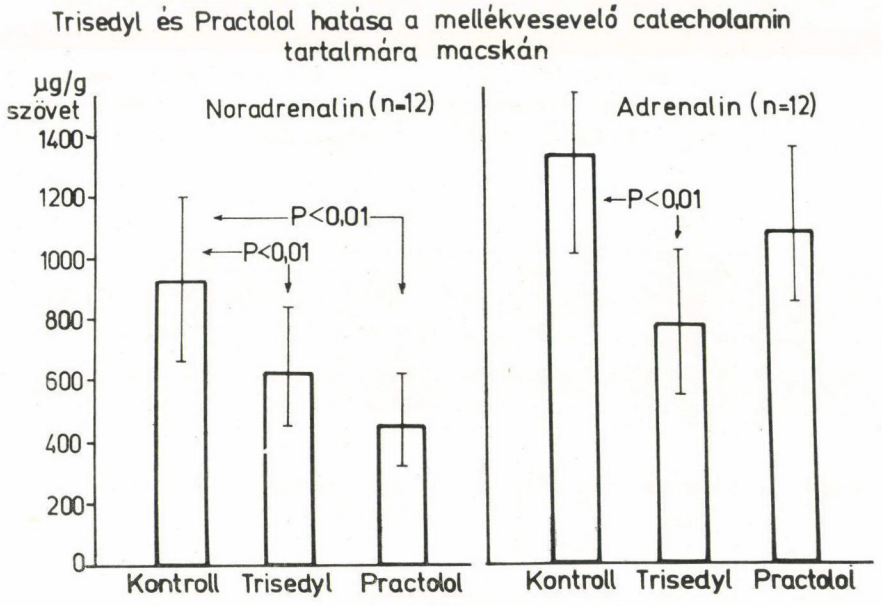
Az ismertetett szöveti catecholamin vizsgálatok is alátámasztották a szóban forgó gyógyszerek klinikai hatását és annak értelmezését, de csak pillanatfelvételt, mintegy keresztmetszetet nyújtottak, és így nem adhattak felvilágosítást a neurofiziológiai vonatkozású cellularis és subcellularis finomabb folyamatokról. Erre irányultak a továbbiakban ismertetendő, az utóbbi időben végzett vizsgálataink.



15. ábra



16. ábra



17. ábra

A bélmotilitás sympatho-adrenerg gátlásának pharmakodynamikai ellensúlyozására elvileg a következő neuro-fiziológiai eshetőségek mérlegelhetők:

1. A catecholamin synthesis gátlása,
2. A neuron elektromos aktivitásának gátlása,
3. Az ingerátvivő anyag idegrostba való visszaszívódásának gátlása és következményes enzymatikus lebomlása, illetve eliminatiója a keringésbe,
4. A transmitter felszabadulásának gátlása az idegvégződésen,
5. A sympathicus receptorok gátlása az effector sejten,
6. A sympathicus receptorok praesynaptikus gátlása.

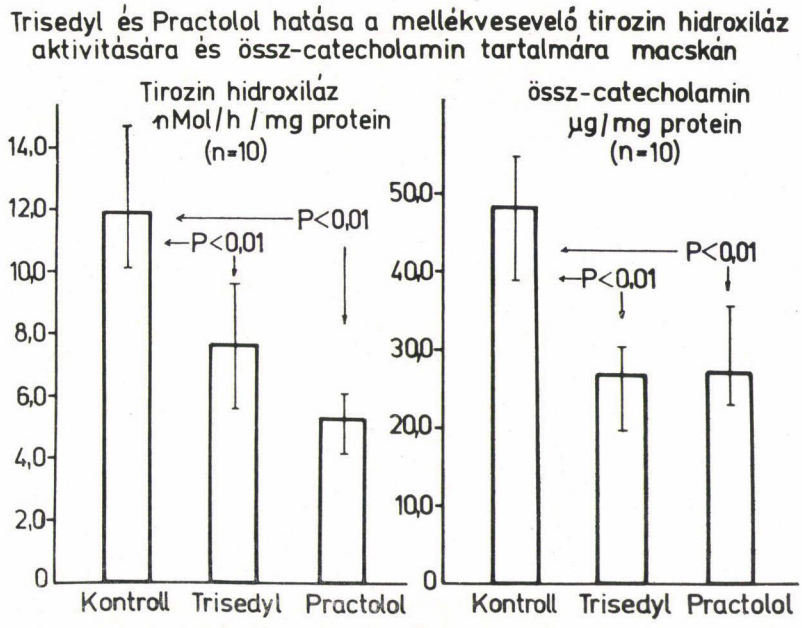
Saját vizsgálataink alapján a therápiásan bevált alpha-receptorgátló Trisedyl, illetve a beta-receptorgátló Practolol izolált szervekben, illetve szöveteken végzett kísérletekben a felsorolt elvi lehetőségek közül a következőket valósítja meg:

ad 1. Mindkét szer gátolja a catecholamin synthesis első lépését, a Tyrosinnak DOPA-vá való átalakulását. (18., ábra)

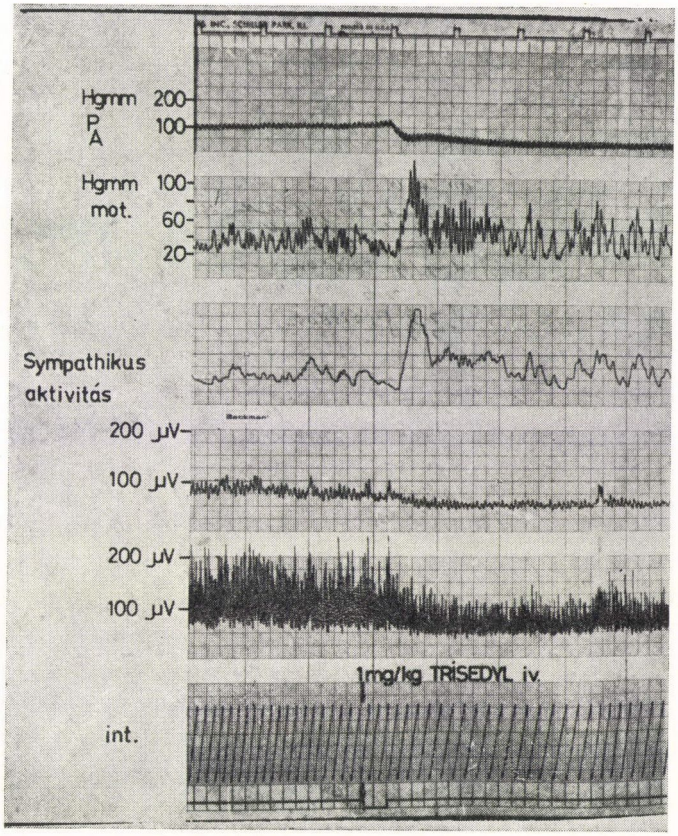
ad 2. Mindkét szer az alkalmazott dózistól függően csökkenti a postganglionaris splanchnicus rostok spontán elektromos aktivitását. (19., 20. ábra)

ad 3. A Trisedyl gátolja a felszabadult NA visszaszívódását a végkészülékbe, míg a Practolol nem gátolja. (21. ábra)

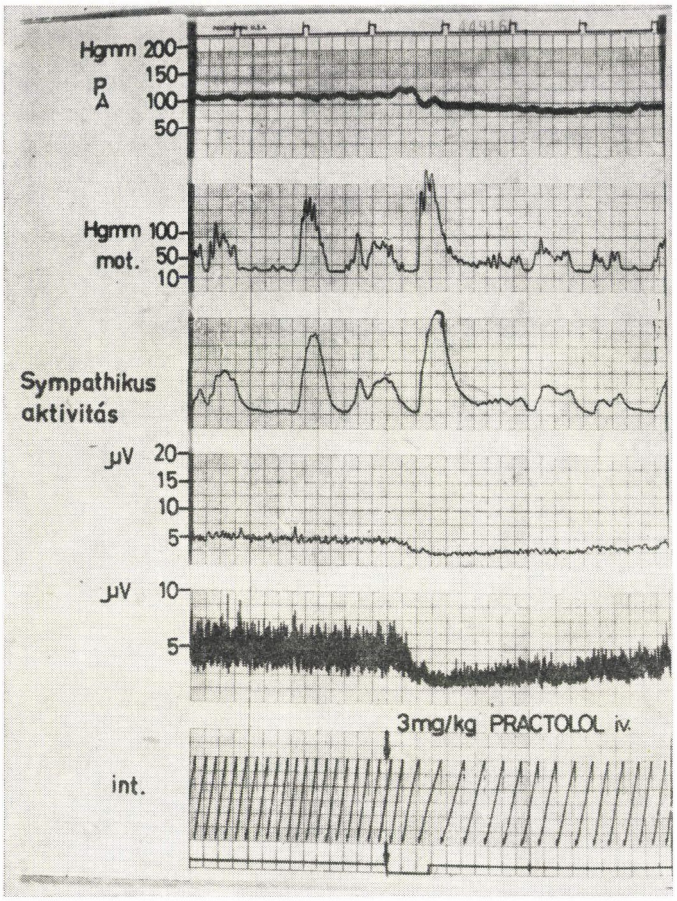
ad 4. A Trisedyl nem antagonizálja a direkt elektromos idegingerléssel kiváltott sympathicus gátlást a téringerléssel működtetett izolált



18. ábra



19. ábra. Ballonos bélkísérlet macskán. Felülről lefelé: 1. sor: artériás vérnyomás, 2. sor: bélmozgások, 3. sor: a postganglionáris sympathicus spontán aktivitás szűrt görbéje, 4—5. sor: spontán aktivitás különböző erősítéssel, 6. sor: a spontán aktivitás integrált görbéje. Trisedyl hatására a spontán aktivitás csökken, míg a bélmotilitás fokozódik (vö. a 6. és 2. sort)



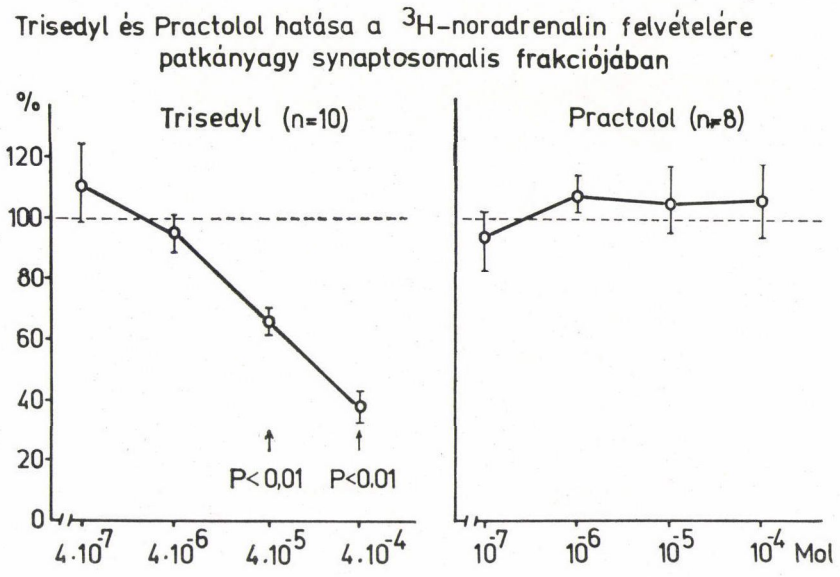
20. ábra. Ballonos bélkísérlet macskán. Felülről lefelé: 1. sor: artériás vérnyomás, 2. sor: bélmozgások, 3. sor: a postganglionáris sympathicus spontán aktivitás szűrt görbéje, 4—5. sor: spontán aktivitás különböző erősítéssel, 6. sor: a spontán aktivitás integrált görbéje. Practolol hatására csökken a symp. spontán aktivitás és lassul a bélműködés

tengeri malac ileumon, tehát nem gátolja a NA felszabadulását. (22. ábra)

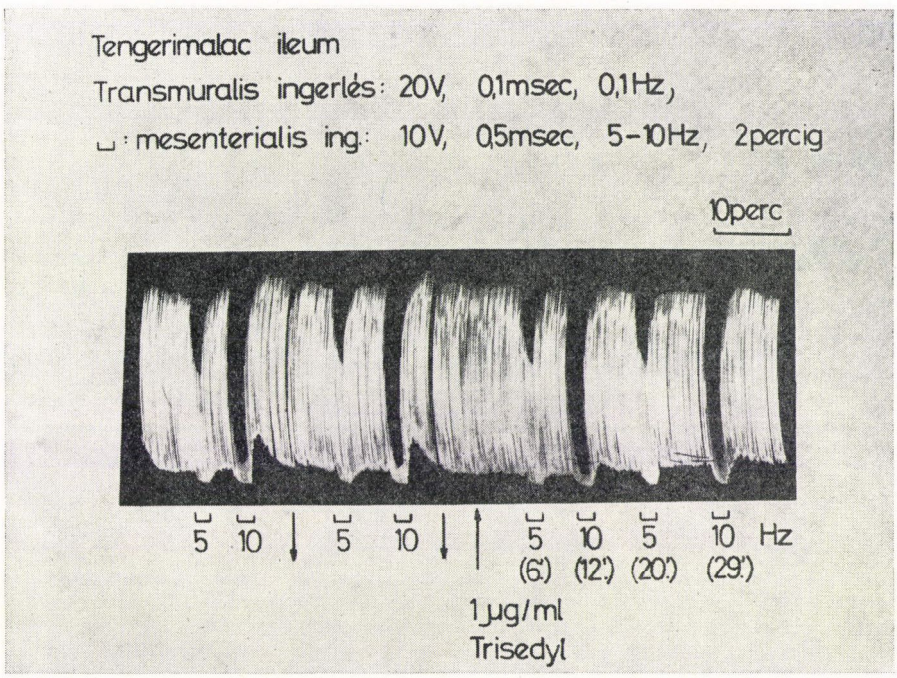
A Practolol idege felől ingerelt nyúljejunumon (Finkleman-preparátum) gátolja a NA praesynaptikus felszabadulását, tehát e tekintetben adrenerg neuronbénítóként hat. (23. ábra)

ad 5. A Practolol nem antagonizálja az exogén NA-gátló hatását a Finkleman-készítményen, tehát nem a sima izomsejt béta-receptoraira hat (1. a 23. ábra jobb oldalát).

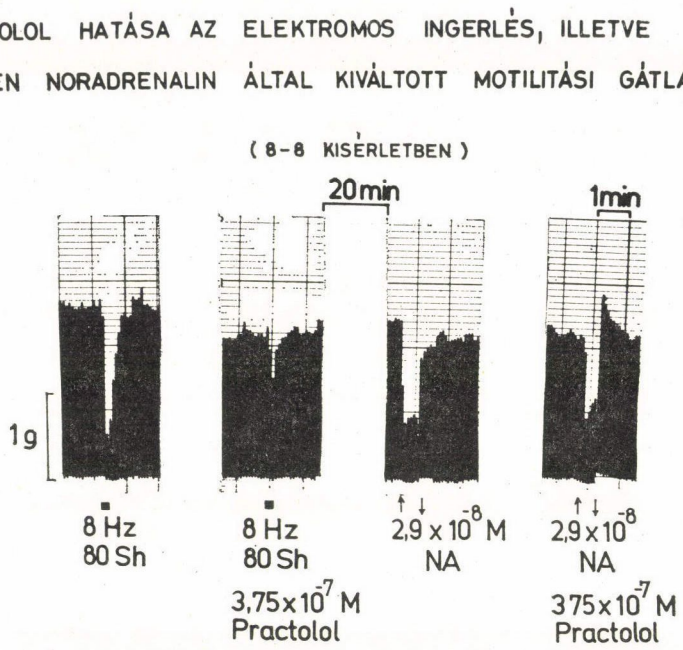
A Trisedyl, bár megindítja és működésben tartja a belet, nem antagonizálja az i. v. adott adrenalin gátló hatását, tehát nem a sima izomsejten levő alpha-receptorokra hat (1. a 9. sz. ábrát).



21. ábra



22. ábra. A tengerimalac ileumának folyamatos transmuralis és szakaszos a mesenterialis ideg felőli elektromos ingerlése. A transmuralis ingerlés cholinerg mechanizmus útján hozza létre az összehúzódást, míg a mesenterialis sympathicus ideg ingerlése a NA útján gátolja az összehúzódást. A Trisedyl ezt nem antagonizálja, azaz nem gátolja a NA felszabadulását



23. ábra. Finkleman-készítmény: splanchnicus idege felől ingerelt nyúljejunum. A Practolol gátolja az elektromos ingerlés hatását, azaz a NA-felszabadulást, de nem gátolja az exogen NA hatását, tehát a Practolol a praesynapticus beta-receptorokra hat, nem pedig az effectorsejtek receptoraira

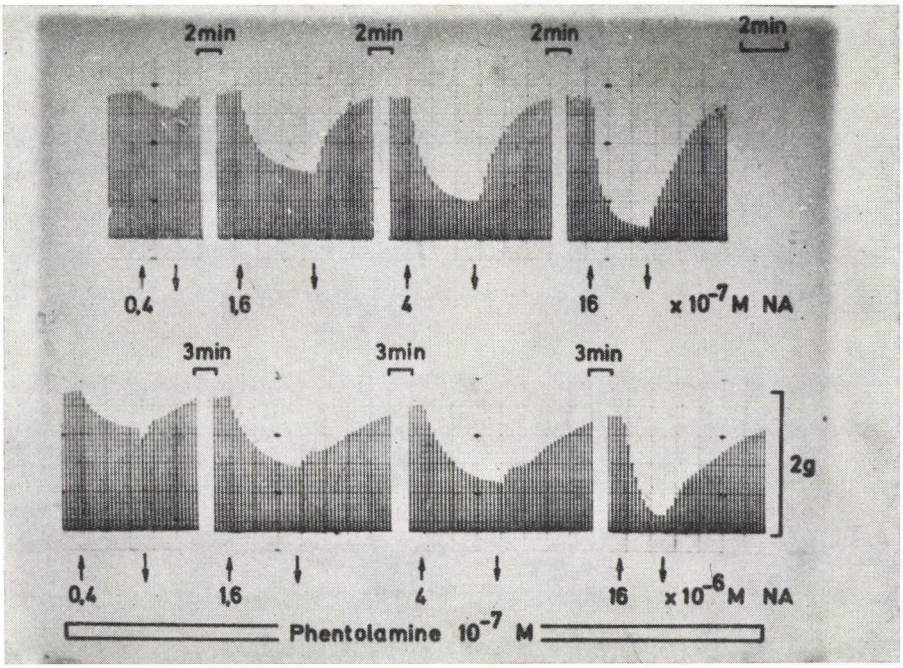
ad 6. A Trisedyllel megegyezően alpha-receptor gátló phentolamin (Regitin) antagonizálja a NA-nak az acetylcholin felszabadulást gátló hatását a cholinerg Auerbach-plexust tartalmazó hosszanti simaizom készítményen alkalmazott tér-ingerlés során. (A szóban forgó alpha-receptorok ezek szerint a cholinerg végkészüléken vannak.) A „paralytikus" ileus főoka a cholinerg Auerbach-plexusban kiváltódó peristaltikus reflex gátlása a NA által. Ezt függesztik fel az alpha-receptorokat gátló szerek. (24. ábra)

A Practolol antagonizálja az elektromos ingerléssel kiváltott contractiogátlást a Finkleman-készítményen, tehát feltehetőleg a sympathicus végkészüléken elhelyezkedő béta-receptorokon hat. (L. a 23. sz. ábrát.)

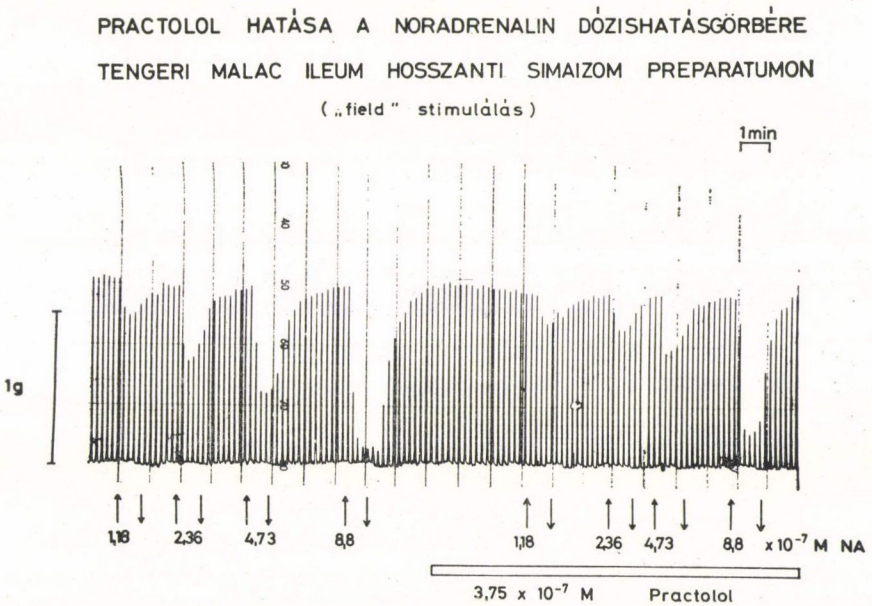
A Practolol nem antagonizálja a NA gátló hatását a téringerlésnek kitett hosszanti tengeri malac simaizomkészítményen, tehát nem a cholinerg rendszer útján hat. (A szóbajöhető beta-receptorok ezek szerint a sympathicus végkészüléken helyezkednek el.) (25. ábra)

Ezt jelzi az a megfigyelés is, hogy az acetylcholin által kiváltott contractiókat a Practolol nem serkenti, inkább gátolja. (26. ábra)

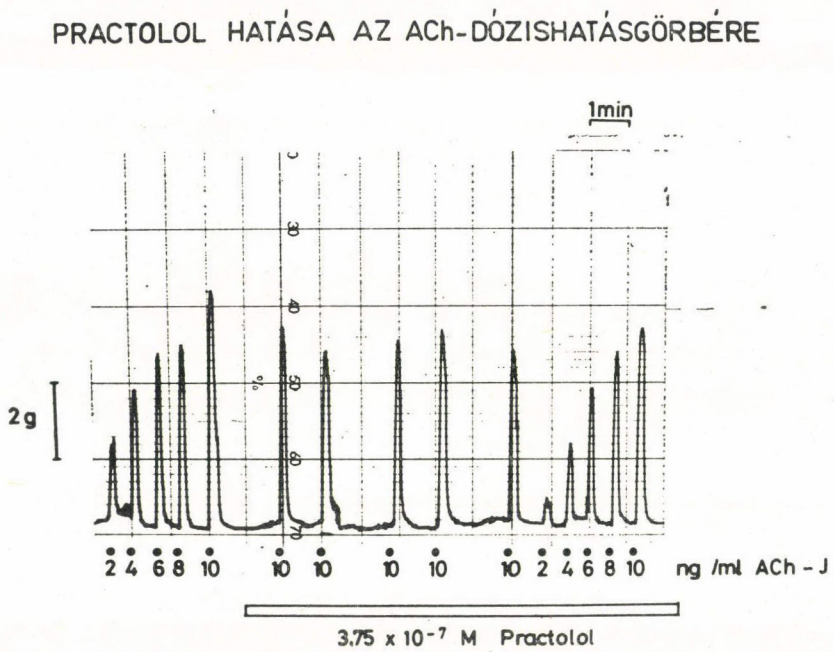
A Practololllal végzett vizsgálatok egyik érdekes adata a macska és a kutya belének az emberétől lényegesen eltérő viselkedése. Említettem az elő-



24. ábra. Noradrenalin dózis-hatásgörbe hosszanti tengerimalac sima izom készítményen. Az alkalmazott téringerlés hatására az Auerbach-plexusban acetylcholin szabadul fel és ez váltja ki a contractiókat. Ezt gátolja a NA. Az alsó sorban phentolamin jelenlétében tízszeres NA-concentratio szükséges ugyanilyen mérvű gátló hatás eléréséhez, tehát a phentolamin praesynapticusan (az Auerbach-plexusban) antagonizálja a NA gátló hatását



25. ábra. NA dózis-hatásgörbe. A Practolol nem befolyásolja a téringerlésre bekövetkező contractiók NA általi gátlását. Ez jelzi, hogy a NA a cholinerg rendszert gátolja, míg a Practolol nem erre hat (A cholinerg transmissio NA általi gátlása a „paralytikus" ileus lényege)



26. ábra. A Practolol nem fokozza (talán inkább kissé gátolja) az ACh által kiváltott contractiókat

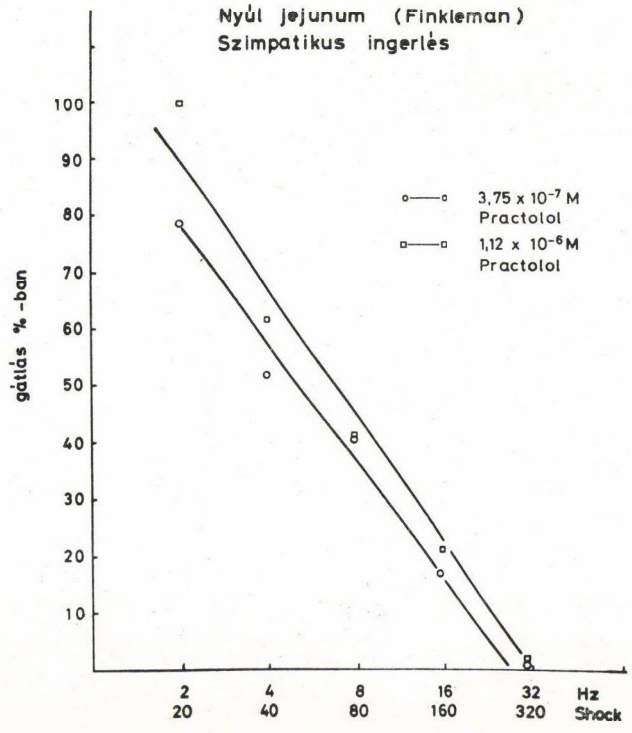
zőkben, hogy a macskabél működését a Practolol nem fokozta, míg az emberről készült film szerint nagyon is élénken serkentette a bélmozgásokat. Bemutattam azt is, hogy a Practolol nem csökkentette a macskabél NA-tartalmát. Erre is megvan az elfogadható magyarázat: Adler—Graschinsky és Langer (1975), Stjärne és Brundig (1975) kimutatta, hogy a béta-receptorok csakis alacsony NA-koncentrációra reagálnak. Magunk is megfigyeltük, hogy a béta-gátló Practolol csak alacsony frequentia és shockszám esetén gátolja a NA hatását. (27. ábra)

Ez lényegében az idézett megállapítással egyezik. Az ileusos macskabél NA koncentrációja magas: ezért nem hat rá a Practolol.

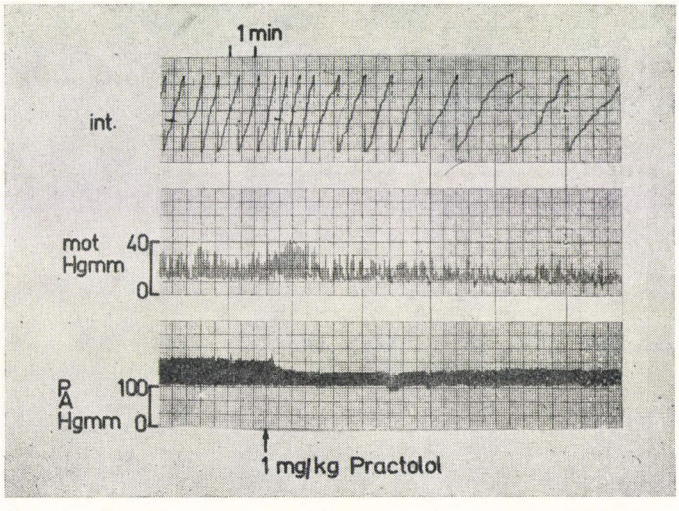
Ha azonban az alpha-gátló phentolaminnal (Regitin) lecsökkentjük a NA-koncentrációt, akkor működésbe lépnek a béta-receptorok és ezután a rájuk ható Practolol már gátolja a NA felszabadulását és evvel facilitálja a bélmozgásokat. (28., 29. ábra)

A szóban forgó gyógyszerek hatásmódjának lényegét az alábbi vázlat szemlélteti: (30. ábra)

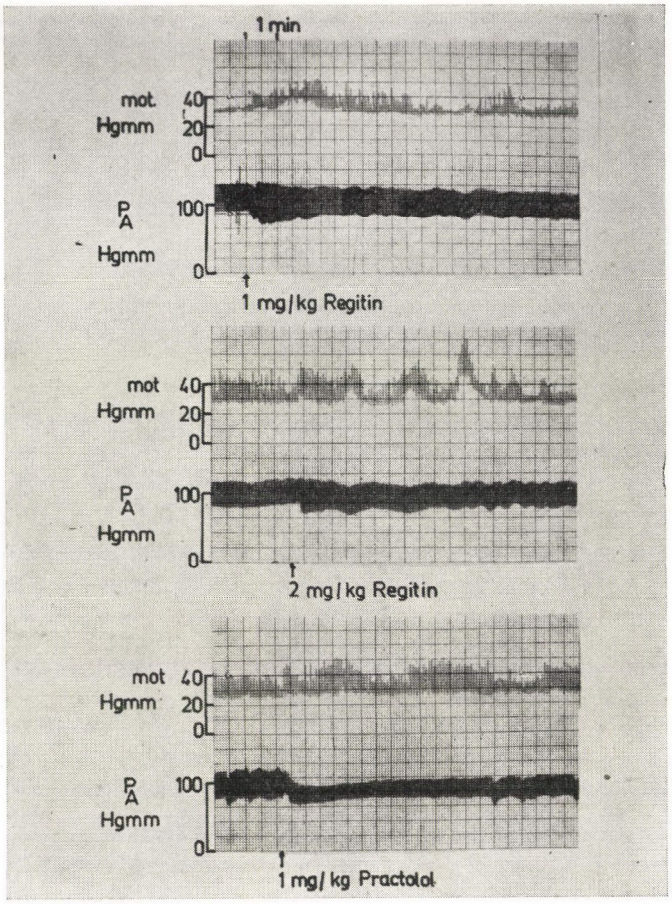
Az ismertetett vizsgálatok túlnyomólag az adrenerg ingerátvivő anyag, a NA viselkedésére vonatkoznak. A gyakorlatban ennek hatását lényegesen támogatja a mellékvese velőállományából eredő, általunk bizonyítottan az ileusos beteg vérében a normálisnak 8,5-szeresét kitevő, adrenalin koncentráció. Az adrenalin éppúgy gátolja a sympathicus receptorok útján a bélmotilitást, mint a



27. ábra. Alacsonyabb frequentia és shock-szám esetén nagyobb mérvű a Practolol gátló hatása a NA-felszabadulásra (Finkleman-preparátum: nyúljejunum idege felőli ingerlése)



28. ábra. Kutyán végzett ballonos bélkísérlet. Nyomásregisztrálás elektromanométerrel. Felülről lefelé: 1. sor: a bélmozgások integrált görbéje, 2. sor: bélmotilitás, 3. sor: vérnyomás. A Practolol inkább ritkítja a contractiókat

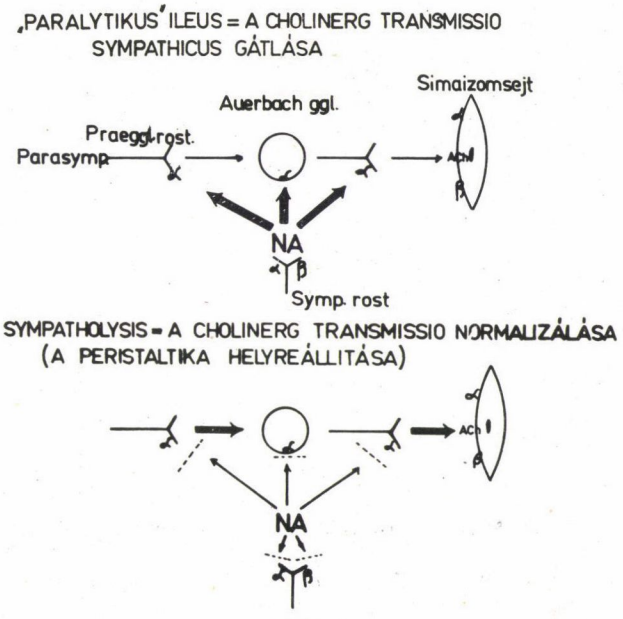


29. ábra. Regitin előkezelés után a Practolol is fokozza a peristalticát

noradrenalin. Amint az előzőkben bemutattam, az alkalmazott gyógyszerek eltérő mértékben és más helyen ugyan, de antagonizálják az adrenalin hatását is.

Végső soron tehát az általunk alkalmazott két receptorgátló együttesen kimeríti az elvileg lehetségesnek vélt antiadrenerg mechanizmusok valamenynyiének lehetőségét a simaizomsejtek felszínén elhelyezkedő receptorok gátlásának kivételével. Leegyszerűsítve a dolgokat, azt mondhatjuk, hogy a sympathicus aktivitás ileusban kimutatott fokozódása gátolja a bélmozgásokat, de az általunk alkalmazott gyógyszerek specifikusan antagonizálják a bélmozgások sympathicus gátlását. A gátlás gátlása egyértelmű a serkentéssel, azaz a bélmozgások megindításával. Tulajdonképpen ennek a sok vizsgálatnak ez az essenciája.

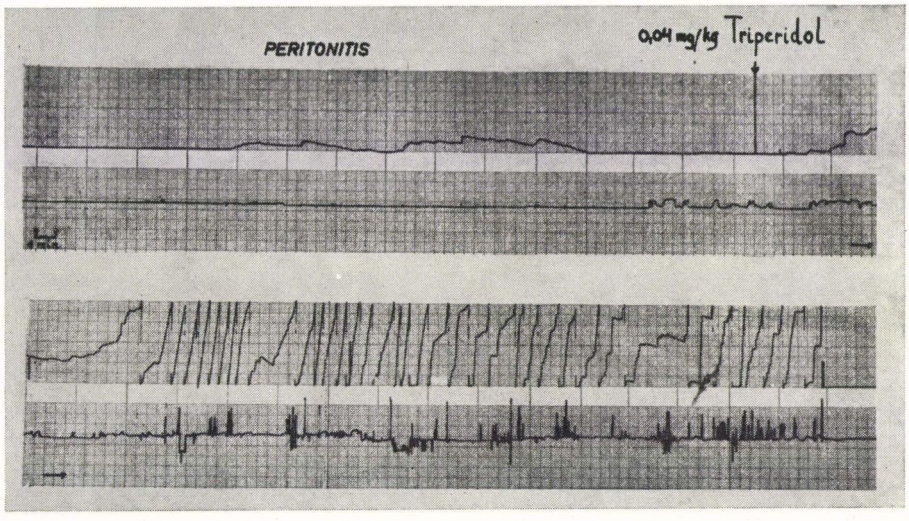
Bár a klinikai gyakorlatban a Trisedyl egymaga is sokszor elég a bélmozgás megindításához, a sympathicus gátlás teljes leküzdését jobban biztó-



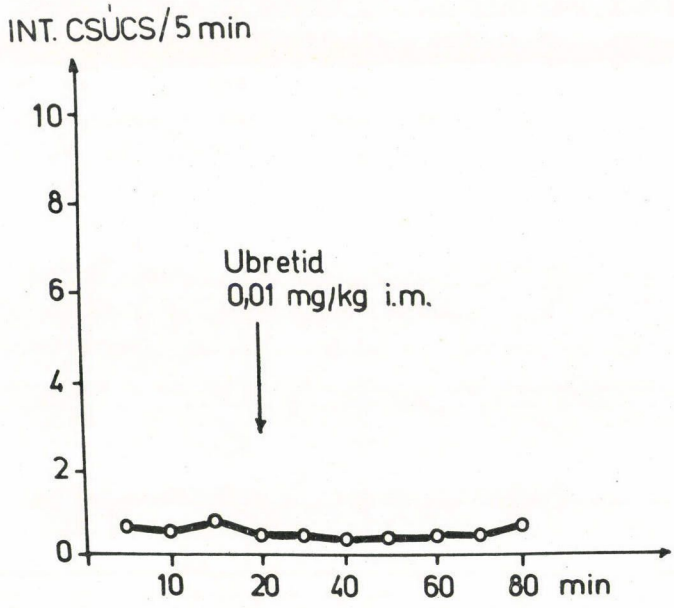
30. ábra

sítja az alpha- és a béta-receptorgátlók együttes alkalmazása. Hogy még a hashártyagyulladásra közismerten jellemző „paralytikus" ileus is a sympathicus túlsúly következménye és így megszüntethető sympatholysissel, azt a következő klinikai példa mutatja. (31. ábra)

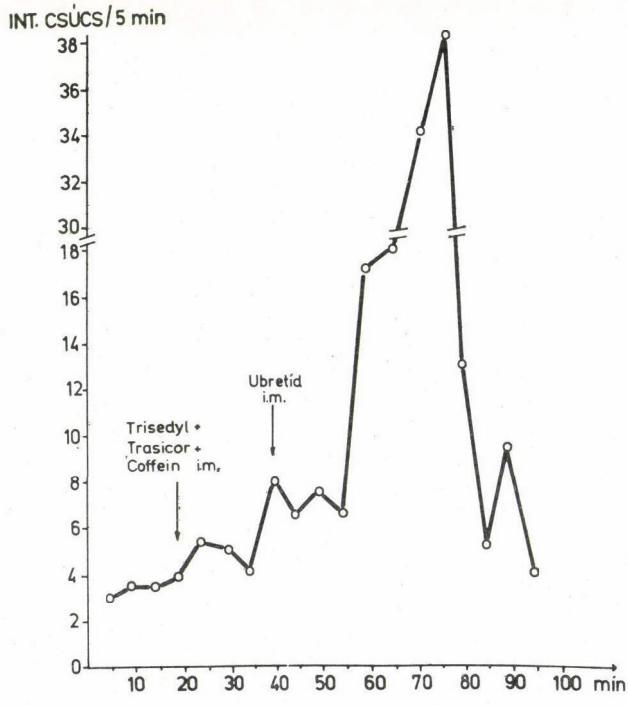
Az előzőkben megemlítettem, hogy az alpha-receptorgátló Trisedyl és a cholinesteráz-bénítók közt potentiáló synergista viszony van. A gyógyászatban ez igen jól kihasználható. Ezt is bemutatom egy klinikai példán. (32., 33. ábra)



31. ábra

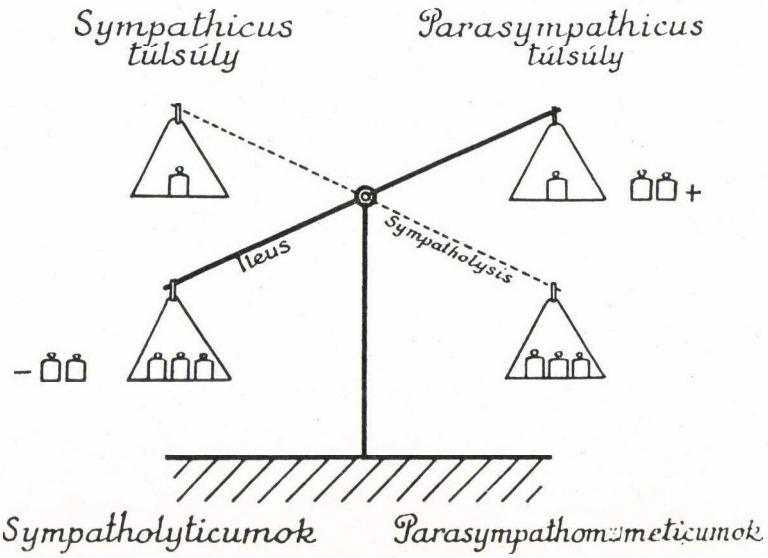


32. ábra. Ileusos betegen az Ubretid (erélyes cholinesteráz-gátló) nem bizonyult hatásosnak



33. ábra. A potentiális synergizmus útján élénk béltevékenység indul meg

A sympathico-lyticumoknak nem közvetlen serkentő, hanem csak facilitáló hatása van és így visszatérve a hagyományos kezelésről mondott hasonlatra, azt lehet mondani, hogy itt már nem a fáradt ló hajszolásáról van szó, hanem arról, hogy leveszik a terhet róla. Az általunk kidolgozott gyógyszeres therápia lényegét egy egyszerű mérleg-hasonlattal lehet ábrázolni. (34. ábra)



34. ábra

Bár a bemutatott kép meglehetősen kereknek tűnik, bőven maradnak megválaszolandó részletkérdések. A valóság jóval bonyolultabb, mint amennyit ismerünk és különösen annál, amennyit a bemutatott vizsgálatok feltártak belőle. Ismeretes pl. a bélben egy nem adrenergiás gátló rendszer is („purinerg"), melyről elég keveset tudunk. Vannak a cholinerg végkészüléken prostaglandin-receptorok is. A Ca^{++} ion szerepe más az alpha- és a béta-receptorokon stb. Tulajdonképpen elgondolkoztató, hogy a kutatásnak általában mekkora erőfeszítésébe kerül, hogy érthetővé tegye előttünk azt, ami a valóságban percről percre, évről évre szünet nélkül, természetes módon folyik. Abba, amit ismer az ember, mégis be tud avatkozni a mindenkori célnak megfelelően. A sympatholytikus kezelés is példa erre.

Tulajdonképpen feltehetné valaki azt a kérdést, hogy napjainkban is olyan horderejű kérdés-e a paralytikusnak nevezett ileus, mint hajdanában? Kétségtelen ugyanis, hogy az ileus régente leggyakoribb oka, a peritonitis, az antibioticumok bevezetése óta sokkal ritkábban fordul elő, vagy legalábbis mitigált alakban jelenik meg.

Az előadás elején rámutattam, hogy nem genuin betegségről van szó, hanem valamely más heveny kórképhez *társuló tünetcsoportról*. Ez azt jelenti egyfelől, hogy az alapbaj megszüntetésével vagy okszerű kezelésével az ileusos állapot is megszűnik. Ez fenntartás nélkül érvényes pl. a gyomor vagy a féregnyúlvány átfúródásából eredő peritonitisre. Ezért indokolatlan ma már a betegek és hozzátartozók aggodalmas kérdése és várakozása, vajon megindul-e műtét után a bélműködés. Általában megindul.

Ugyanakkor azonban, éppen a műtétet és az altatást — korábbi vizsgálataink szerint — szabályszerűen követő sympatho-adrenerg mobilizáció, ha nem is minden egyénen egyforma súllyal, gátolja a bélműködést, és így a beteg korától, egyébkénti általános állapotától függően többé-kevésbé súlyosbítja helyzetét. Éppen ebben a tekintetben domborodik ki az ileus *tünetcsoport jellege*, amennyiben a hányás, a víz- és sóveszteség az extracellularis teret szűkíti be, a haemoconcentratio a keringés romlásával thrombo-embóliás szövődményekre hajlamosít — főleg kövér vagy idős betegeken. A hányás, a bélpangás, sőt egymaga a stressz-állapot is K-veszteséget okoz, mely a simaizom contractilitását valóban károsítja. A puffadás, a rekesz feltolódása, a légzőfelszín beszűkülése, a váladékpangás a légutakban *hypoxiát* okoz, amely a ma egyre gyakrabban operált idős betegeken a kiszámíthatatlan és sokszor *egészen súlyos* szövődmények forrása.

Minthogy a hézagosan felsorolt szövődmények középpontjában vagy kiindulópontjában a bél motilitási zavara áll, nyilvánvaló, hogy ennek megelőzésével vagy korai és céltudatos kezelésével sok következménynek elébe lehet vágni.

Ebben a vonatkozásban a haláloki megjelölések és az ezeken alapuló statisztikai adatok megtévesztőek, mert rendszerint csak a *közvetlen* halálokot jelölik meg. Ha azonban a kórfolyamat már elfelejtett *kezdetére* nyúlnak vissza, akkor az ún. paralytikus ileust manapság is veszélyes és gyakori kórállapotnak lehet minősíteni. Vannak olyan klinikai statisztikák is, melyek ezt nem tévesztik szem elől (Hartl, Petersohn. 1960).

Az előadásban a bélre hivatkoztam, mint modellre, de az évek során végzett klinikai vizsgálatok (kinematográfia) során beigazolódott, hogy a receptorgátló szerek nemcsak a bél, hanem a *gyomor* motilitását is ugyanolyan intenzíven fokozzák, sőt gastroskopos vizsgálatokkal sikerült igazolni, hogy az alpha-gátló szerek megnyitják a pylorust, miközben egyidejűleg fokozzák a gyomor munkaizomzatának aktivitását. Azt is sikerült bizonyítani, hogy nemcsak a pylorus-sphincter, hanem az ileo-coecalis sphincter is ellazul az alpha-receptorgátlók hatására, ami teljes összhangban van avval a klasszikus élettani megállapítással, mely szerint a munkaizomzat és a záróizomzat invers módon, ellentétes értelemben válaszol ugyanarra az adequat ingerre (beleértve a drogokat is). Ilyenformán a bélmotilitás korai helyreállítása a kóros gátlás gyógyszeres ellensúlyozásával alkalmas rá, hogy az ileus számos, kiszámíthatatlan következménnyel járó szövődményét megelőzze.

Mindez természetesen nem teszi fölöslegessé a *kialakult* ileus rész-következményeinek *kezelését*, mely végső soron tüneti jellegű, míg a sympatholytikus *megelőzés* és kezelés a *pathogenezisbe* nyúl be és így *oki therápiának* tekinthető.

Két táblázaton szeretném végezetül bemutatni az eddigi therápiás eredményeket. (35., 36. ábra)

A "PARALYTIKUS" ILEUS ESETEK AETIOLÓGIAI MEGOSZLÁSA

"REFLEKTORIKUS" ILEUS	36	URETEROLITHIASIS	16
		RETROPERITONEALIS FOLYAMATOK	13
		EPEKŐ	3
		CSEPLESZTORZIO	1
		PANCREATITIS ACUTA	1
		ÁGYÉKI LŐTT SÉRÜLÉS	1
		PANCREAS TÁLYOG	1
"POSTOPERATIV" ILEUS /HASI MŰTÉT UTÁN/	285		
ÁLTALÁNOS HASHÁRTYA-GYULLADÁS	37		
KÖRÜLIRT HASHÁRTYA-GYULLADÁS	20		
EXTRAABDOMINALIS OKOK MIATTI "PARALYTIKUS" ILEUS	42	BORDA- ÉS MEDENCETÖRÉS	12
		SZÉKREKEDÉS	6
		TÜDŐMŰTÉT	6
		SZIVMŰTÉT	4
		URAEMIA	2
		SZIVINFARCTUS	1
		SZEMÉSZETI MŰTÉT	1
		CSONTAMPUTATIO	1
		HEPATO-SPLENOMEGALIA	1
		GYÓGYSZERMÉRGEZÉS	1
		SHOCK	1
		TETANUSZ	2
		TERHESSÉG	1
		PYONEPHROSIS	1
		ISMERETLEN OK	2
ÖSSZESEN	420		

35. ábra

A GYÓGYSZEREK KLINIKAI HATÉKONYSÁGA

A GYÓGYSZER NEVE	ESET-SZÁM	HATÁS-INTENZITÁS			
		∅	+	++	+++
ALPHA-LYTICUM					
A/ HIBERNAL	102	18	31	30	23
B/ TRISEDYL	118	4	27	40	47
BETA-LYTICUM	31	-	9	14	8
ALPHA + BETA-LYTICUM	8	-	-	3	5
ALPHA-LYTICUM + PARASYMPATHOMIMETICUM	106	2	11	36	57
BETA-LYTICUM + PARASYMPATHOMIMETICUM	4	-	-	-	4
ALPHA-LYTICUM + BETA-LYTICUM + PARASYMPATHOMIMETICUM	51	-	-	6	45
ÖSSZESEN:	420	24	78	129	189

←75,7%→

←94 %→

GYÓGYSZERADAGOK

TRISEDYL: 0,03 - 0,05 mg/kg i.m.
UBRETID: 0,005 - 0,015 mg/kg i.m.
INDERAL: 0,014 mg/kg i.v.
TRASICOR: 0,014 mg/kg i.v.
VISKEN: 0,014 mg/kg i.v.
PRACTOLOL: 0,1 mg/kg i.v.

\+ = A BÉLHANGOK ERŐSÖDÉSE
++ = SZELEK TÁVOZÁSA
+++ = SZÉKÜRITÉS

36. ábra

A paralytikus ileus therápiája az elmondottak szerint számos műtéti szövődmény praeventióját jelenti. Ezért látszott érdemesnek foglalkozni evvel a látszólag régi kérdéssel.

Talán nem tévedés azt gondolni, hogy a „paralytikus" ileus gyógyszeres therápiájában nem is ez az utolsó szó. A subcellularis, még inkább a molekuláris viszonyok alaposabb ismerete bizonyára újabb lehetőségeket nyit majd egyes részfolyamatok célszerű, specifikus befolyásolására és a gyógyeredmények további javítására.

IRODALOM

Adler—Graschinsky, E. és *Langer, S. Z.:* Brit. J. Pharmacol. **53,** 43 (1975).
Catchpole, B. N.: Brit. J. Surg. **53,** 859 (1966).
Folkow, B., Häggendal, J. és *Lysander, B.:* Acta physiol. scand. **73,** Suppl. 307 (1967).
Garrott Allen, J.: Surgery, Pitman, London (1961).
Hartl, H.: Ther. d. Gegenw. **94,** 49 (1960).
Hotz, G.: Mitt. a. d. Grenzgeb. d. Med. u. Chir. **20,** 257 (1909).
Jacobovitz, D.: J. Pharmacol. exp. Ther. **149,** 358 (1965).
Knoll, J. és *Vizi, E. S.:* Brit. J. Pharmacol. **40,** 554 (1970).
Knoll, J. és *Vizi, E. S.:* Brit. J. Pharmacol. **42,** 263 (1971).
Laborit, H.: Presse méd. **58,** 138 (1950).
McDougal, M. D. és *West, G. B.:* Brit. J. Pharmacol. **9,** 131 (1954).
Neely, J. és *Catchpole, B. N.:* Brit. J. Surg. **58,** 21 (1971).
Norberg, K. A.: Int. J. Neuropharmacol. **3,** 379 (1964).
Norberg, K. A. és *Sjőquist, F.:* Pharmacol. Rev. **18,** 743 (1966).
Paton, W. D. M. és *Vizi, E. S.:* Brit. J. Pharmacol. **35,** 10 (1969).
Petersohn, K. L.: Zbl. Gyn. **82,** 17 (1960).
Petri, G.: Zbl. Chir. **90,** 1595 (1965).
Petri, G. és *Pórszász, J.:* Lancet **2,** 1420 (1967).
Petri, G., Pórszász, J. és *Szenohradszky, J.:* Langenbeck's Arch. klin. Chir. **322,** 441 (1968).
Petri, G., Pórszász, J. és *Pórszász-Gibiszer, K.:* Acta chir. Acad. Sci. hung. **12,** 391 (1971).
Stjärne, L. és *Brundig, J.:* Acta physiol. scand. **95,** 89 (1975).
Vizi, E. S.: Naunyn—Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmak. **259,** 199 (1968).
Vizi, E. S.: in Physiology of Smooth Muscle, ed. by Bülbring, E. and Shuba, F. Raven Press, New York (1976).
Vogt, M.: Pharmacol. Rev. **11,** 483 (1959).
Wagner, G. A.: Berl. klin. Wschr. **56,** 1221 (1919).

Debreceni Orvostudományi Egyetem, Kórélettani Intézet

A NYÚL-IgG FRAGMENTUMAINAK BIOLÓGIAI JELENTŐSÉGE*

KESZTYŰS LÓRÁND akadémikus

Közlésre érkezett: 1977. VI. 17.

A II. világháború óta új szemlélet irányítja a kutatásokat az immunológiában, mely eredményei alapján a mikrobiológia, a közegészségtan segédtudományából önállóvá fejlődött, és az általános érdeklődés következtében ma a biológia egyik gyújtópontjába került. Jelenleg az immunológiai megismerések a lehető legszorosabban kapcsolódnak a biokémia, a genetika, a pathologia, a pharmakologia, a humán és az állatorvostudomány alapvető kérdéseihez és a mindezek szintézisére törekvő molekuláris biológiához *(Kesztyűs* 1977*)*.

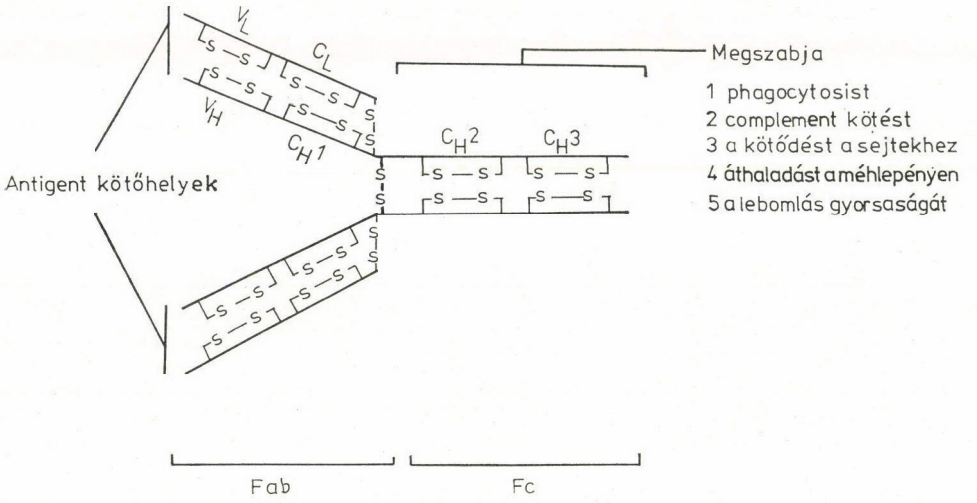
Ez a közlemény keresztmetszetet ad azokról a kutatásokról, melyek a Debreceni Orvostudományi Egyetem Kórélettani Intézetében eddig a Magyar Tudományos Akadémia támogatásával a modern immunokémia eredményeinek biológiai jelentőségét új oldalról világították meg.**

I.

Még nincs két évtizede annak az immunokémiai felismerésnek *(Porter* 1959; *Edelman* 1971), hogy a Gerincesek ellenanyagai, immunoglobulinjai közös szerkezeti elvet mutatnak: az alapmolekulák négy polypeptid-láncot tartalmaznak, melyeket —S—S— hidak kapcsolnak össze. A négy lánc közül kettő egyenként 200-nál valamivel több aminósav-maradékból áll, molekulasúlyuk kb. 25 000 dalton. Az összes eddig ismert immunoglobulinokban egymás mellett csak kétféle *könnyű lánc* fordul elő, melyeket $\varkappa$-val, ill. λ-val jelölünk. Mind a $\varkappa$-, mind a λ-láncnak van egy-egy állandó (constans) aminósav-sequentiát tartalmazó része a C-terminális felől, ezt C_L-területnek nevezzük, és egy-egy változó (variabilis) összetételű, V_L-symbolummal jelölt része az N-terminális felől *(1. ábra)*.

* Székfoglaló előadás a Magyar Tudományos Akadémia V. Osztályának 1977. február 23.-i ülésén.

** Ezekben a vizsgálatokban az első kísérletektől kezdve részt vett *Dr. Csaba Béla* egyetemi tanár és *Dr. Rédai Imréné* egyetemi docens, hozzájuk — mint állandó munkatársakhoz — az egyes részletek kidolgozásában kezdetben *Dr. Kávai* Mária egyetemi adjunktus, később pedig *Dr. Deseő György* egyetemi tanársegéd csatlakozott *(Csaba* és mtsai 1971, 1973 a, b, 1976; *Kesztyűs* és mtsai 1972). Odaadó munkájukért mindnyájuknak és a további technikai segítőknek e helyen is őszinte köszönetemet fejezem ki.



1. ábra. Az IgG molekula 4 polypeptid-láncból álló alapszerkezetének vázlata. Az egyes területek biológiai aktivitásai

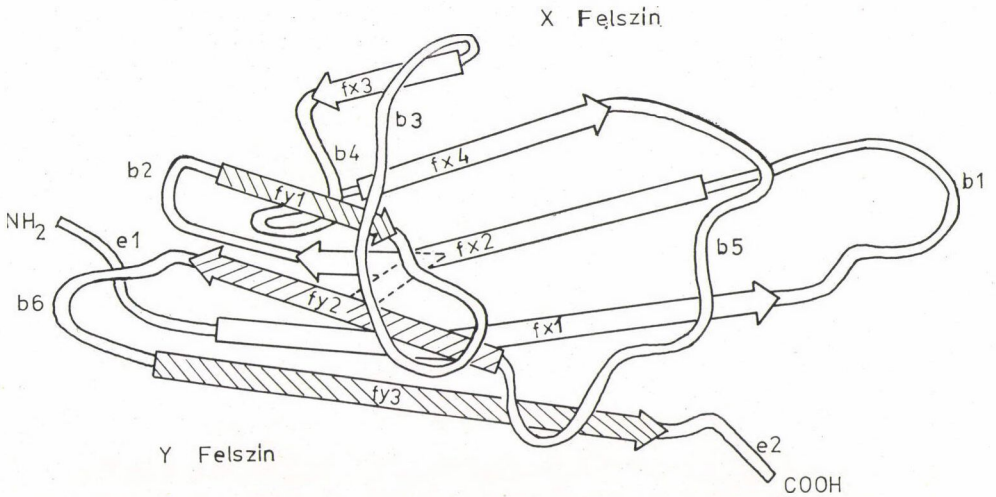
A két *nehéz lánc* mindegyike 460—580 aminósav-maradékból áll, molekulasúlyuk egyenként 50 000—70 000 dalton. A nehéz láncok típusa alapján a WHO ajánlására (1964) az emberi immunoglobulinokat öt osztályba soroljuk, megkülönböztetjük a γ nehéz lánc-párt tartalmazó IgG-t, a μ-láncokat tartalmazó IgM-t, az α lánc-párból álló IgA-t, a δ lánc-párt hordozó IgD-t és az ε-polypeptid szerkezetű IgE-t. A nehéz láncokban is van N-terminálisan variabilis szakasz, ezt a V_H-symbolum jelöli, és constans szakasz: az ún. C_H-rész, melyet a belső —S—S—hidaknak megfelelően C_H1, C_H2 és C_H3 területekre oszthatunk. Az IgG molekuláiban a γ nehéz láncok N-terminális variabilis része kb. 115 aminósav-maradékot, a C-terminális constans szakasza pedig 345—460 aminósav-maradékot tartalmaz. Az IgG molekulának a C_H2 és C_H3 területe (domain-je) szerepel a phagocytosisban, aktiválja a complementet, kötődik a sejtekhez, eldönti az anya és magzata között a placentáris áthatolást, továbbá megszabja a lebomlás gyorsaságát. A nehéz és a könnyű láncok variabilis területei pedig az antigénhez való fajlagos kapcsolódásért felelősek.

Az *1. ábra* áttekinthető, de merev sémát mutat be az IgG molekuláról, a legújabb röntgenkristallográfiás adatok alapján készült, még mindig csak egyszerűsített vázlat *(2. ábra)* a molekula képlékeny bonyolultságát jobban tükrözi *(Beale* és *Feinstein* 1976; *Stewart* 1976).

Egyetlen γ-lánc constans régióját ábrázolja, melyben párhuzamos, ellentétes irányú, nem redőzött, egyenes, f_x- és f_y-symbolummal jelölt részek kapcsolódnak hat *b*-vel jelzett, redőzött, ív alakú polypeptid-maradékhoz. Ezen az alapon újabb területek (domainek) különíthetők el a γ-lánc állandó szakaszát

felépítő szerkezetben, de ezeknek a területeknek a működése és a szerepe egyelőre ismeretlen.

A *3. ábra* bemutatja, hogy cystein jelenlétében papain hatására az IgG egy *Fc-fragmentumra* és két *Fab-fragmentumra* esik szét.

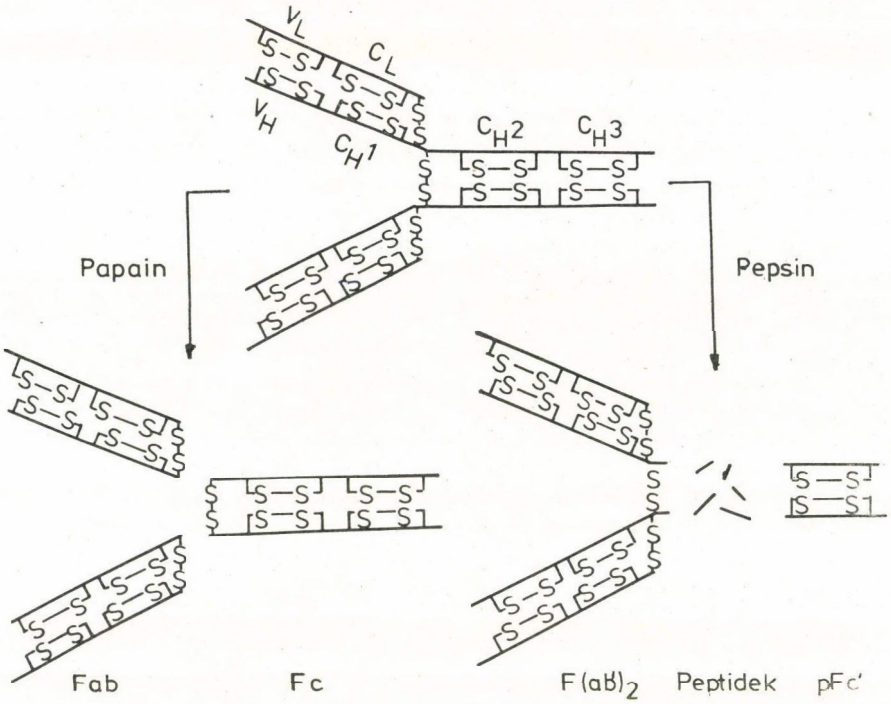


2. ábra. Vázlat *Beale* és *Feinstein* (1976), valamint *Stewart* (1976) röntgenkristallográfiás adatai alapján azIgG molekula egyik γ nehéz láncának constans szakaszáról. Párhuzamos, ellentétes lefutású, egyenes β-segmentumok (fx 1—4; fy 1—3) ízesülnek különböző hosszúságú, ív alakú, redőzött β-részekhez (b 1-6). A láncon belül a disulphid-hidat szaggatott vonal jelzi

A Fab-fragmentum tartalmazza egy teljes könnyű lánc variabilis és constans régióját, melyhez —S—S—híddal a γ nehéz lánc variabilis szakasza és a C_H1-gyel jelölt constans régiója kötődik. Molekulasúlya kb. 40 000 dalton. Kísérleteink kezdetén már ismert volt az irodalomból, hogy specifikusan kapcsolódik a homolog antigén-molekulához, de azzal nem praecipitál és nem agglutinál.

Az Fc-fragmentum a két nehéz lánc C_H2-vel és C_H3-mal jelölt constans régiójából áll, melyeket a láncok között megmaradó —S—S—híd köt össze. Molekulasúlya kb. 50 000 dalton. Vizsgálataink kezdetén már ismert volt, hogy aktiválja a complementet, kötődni képes a makrophagokhoz.

Mint látható, kísérleteink megindításakor — 7—8 évvel ezelőtt — a papainos emésztés útján nyert IgG fragmentumoknak csak az in vitro szerológiai reakciókban kimutatható hatásait dokumentálta az irodalom. Mi vetettük fel először azt a kérdést: képesek-e ezek a fragmentumok in vivo passzive szenzibilizálni az állatokat az IgG teljes molekulájához hasonlóan. Ma joggal feltételezhető, hogy ez az izgalmas kérdés más kutatók között az in vivo kísérletek rendkívül nagy fragmentumigénye miatt nem került vizsgálatra.

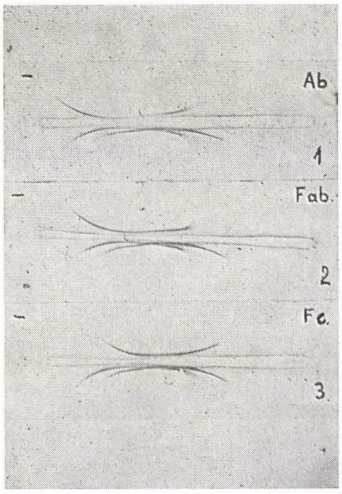


3. ábra. Az IgG molekula papainos, ill. pepsines proteolysise. A képződött fragmentumok

II.

Kísérleteinkhez háromszor átkristályosított ovalbuminnal immunizált nyulak savójából az irodalmi eljárásoknak megfelelően *(Kierszenbaum* és *Dandliker* 1968; *Porath* és *Flodin* 1959; *Kávai* és mtsai 1967) tisztán izoláltuk az antiovalbumin-IgG-t, amit a szokásos módon *(Thorpe* és *Deutsch* 1966) papainnal hidrolizáltunk, és az emésztett termékből a Fab- és az Fc-fragmentumokat kinyertük *(Levy* és *Sober* 1960*)*. Készítményeink homogenitását és tisztaságát immunelektroforézises mikrotechnikával *(Scheidegger* 1955*)* és ultracentrifugálással ellenőriztük *(4. ábra)*.

Mind a három lemez középső vályújába nyúl-IgG-re fajlagos kakas-immunsavó került, a vályú alatt foglalt helyet a papainos nyers emésztési termék, mely Fab és Fc tartalmának megfelelően két praecipitatiós ívet adott. A vályú fölé került a kiindulási intakt nyúl-IgG *(1. lemez)*, a Fab- *(2. lemez)*, ill. az Fc-készítmény *(3. lemez)*, melyek a nyúl-IgG-re specifikus kakas-immunsavóval egy-egy praecipitatiós ívet adtak. Ez és az ultracentrifugás ellenőrzés egyértelműen bizonyította készítményeink homogenitását és tisztaságát.



4. ábra. Immunelektroforézis. Mind a három lemez közepén a vályúban nyúl-antiovalbumin-IgG ellen kakasban termelt immunsavó; alatta a nyúl-antiovalbumin-IgG papainos nyers emésztési termékének praecipitatiós ívei. Az 1. lemezen a vályú felett a tisztított nyúl-antiovalbumin-IgG (Ab) praecipitatiós íve; a 2. lemezen a vályú felett az izolált Fab-fragmentum (Fab) praecipitatiós íve; a 3. lemezen a vályú felett az izolált Fc-fragmentum (Fc) praecipitatiós íve

III.

Először egerek hátbőrén passzív cutan anaphylaxiában *(PCA; Ovary* 1958) vizsgáltuk a fragmentumok szenzibilizáló hatását *(5. ábra)*.

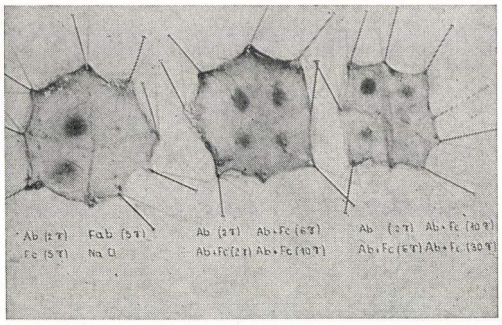
E kísérletek szerint sem a Fab-, sem a friss Fc-fragmentumnak nincs szenzibilizáló képessége. Viszont a frissen praeparált Fc-fragmentum teljesen gátolja a *PCA*-t, ha az intradermalis előkészítéshez 15 : 1 arányban az intakt antiovalbumin-IgG-vel együtt fecskendezzük be.

Ez a gátlás még kifejezettebb, ha az intakt antiovalbumin-IgG-t egyenlő mennyiségű normális nyúl-γ-globulinnal elegyítve alkalmazzuk az intradermalis előkészítéshez. Normális nyulak γ-globulinjainak a jelenlétében már 3 : 1 arányban is gátolta a *PCA*-t az Fc-fragmentum.

A Fab-fragmentumnak ilyen gátló hatása kísérleteinkben nem volt.

Már itt szükséges külön is megjegyezni, hogy jégszekrényben való 3 hónapos tárolás után az Fc-fragmentum önmagában is pozitív bőrreakciót adott. Erre a VI. részben még vissza fogunk térni.

Kísérleteinket tengerimalacokra is kiterjesztettük *(6. ábra)*. A Schultz—Dale-reakció eredményei szerint intracardialisan adva sem a Fab-, sem az Fc-fragmentum nem szenzibilizálja passzive a tengerimalacokat. De ha 15—20-szoros túlsúlyban együttadjuk az Fc-fragmentumot az intakt antiovalbumin-IgG-vel, úgy az izolált bél a homológ ovalbumin-antigen hozzáadására nem kontrahálódik.



5. ábra. PCA gátlása friss Fc-fragmentummal egerek hátbőrén

1. egér intradermalis előkészítése:

Ab(2γ) = 2 μg nyúl-antiovalbumin-IgG Fab(5γ) = 5μg Fab-fragmentum
Fc(5γ) = 5 μg *tárolt* Fc-fragmentum NaCl = 0,1 ml phys. NaCl

2. egér intradermalis előkészítése:

Ab(2γ) = 2 μg nyúl-antiovalbumin-IgG Ab + Fc(6γ) = 2 μg nyúl-antiovalbumin-IgG + 6 μg Fc-fragmentum

Ab + Fc(2γ) = 2 μg nyúl-antiovalbumin-IgG + 2 μg Fc-fragmentum Ab + Fc(10γ) = 2 μg nyúl-antiovalbumin-IgG + 10 μg Fc-fragmentum

3. egér intradermalis előkészítése:

Ab(2γ) = 2 μg nyúl-antiovalbumin-IgG Ab + Fc(10γ) = 2 μg nyúl-antiovalbumin-IgG + 10 μg Fc-fragmentum

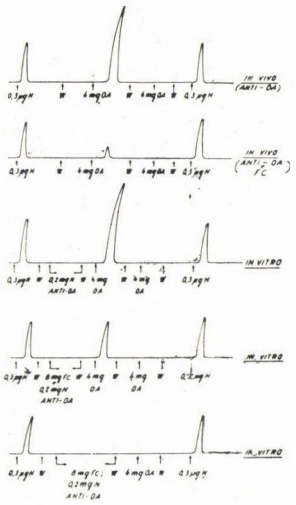
Ab + Fc(6γ) = 2 μg nyúl-antiovalbumin-IgG + 6 μg Fc-fragmentum Ab + Fc(30γ) = 2 μg nyúl-antiovalbumin-IgG + = 30 μg Fc-fragmentum

Előkészítés után a PCA kiváltására intravénásan 1, 2—1,6 mg ovalbumin 1% Evans-kéket tartalmazó phys. NaCl-oldatban.

Hasonló eredményt kapunk, ha kezeletlen tengerimalacok izolált ileumát in vitro inkubáljuk előbb többszörös mennyiségű Fc-fragmentummal, majd utána az intakt antiovalbumin-IgG-vel, a homolog ovalbumin-antigenre anaphylaxiás bélösszehúzódás nincs. Az inkubálás sorrendje fontos, mert hasonló arányokban együttesen inkubálva az izolált belet Fc-fragmentummal és IgG-vel, a homolog ovalbumin-antigen hozzáadására az anaphylaxiás reakció majdnem változatlan erősségű marad.

A Fab-fragmentum kísérleteinkben hasonló antianaphylaxiás hatást nem mutatott.

Az eddigi eredmények tehát abban foglalhatók össze, hogy az IgG papainos fragmentumai passzíve nem képesek szenzibilizálni. A Fab-fragmentumnak értékelhető biológiai hatásait nem észleltük. A friss Fc-fragmentum viszont 15-ször nagyobb mennyiségben adva — az autolog intakt ellenanyag és a homolog antigen egyesülése által kiváltott *PCA*-t egereken és tengerimalacokon a Schultz—Dale-reakciót gátolja. *A friss Fc-fragmentum tehát antianaphylaxiás hatású* — feltehetőleg azért, mert ugyanazokhoz a sejtreceptorokhoz kötődik, amelyekhez a teljes IgG molekula.



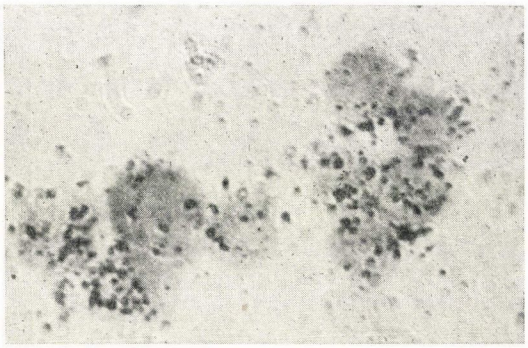
6. ábra. Tengerimalac-ileumon a Schultz—Dale-reakció gátlása friss Fc-fragmentummal
1. sor. Kontrol. Szenzibilizálás 0,48 mg/testsúly-kg nyúl-antiovalbumin-IgG-N-nel intracardialisan. 48 óra múlva az izolált ileumon Schultz—Dale-reakció. Jelzések: 0,3 μg H = 0,3 μg histamin; W = mosás; 4 mg OA = 4 mg ovalbumin
2. sor. Szenzibilizálás 0,48 mg/testsúly-kg nyúl-antiovalbumin-IgG-N-nel + 8 mg Fc-fragmentummal intracardialisan. 48 óra múlva az izolált ileumon Schultz—Dale-reakció. Jelzések, mint előbb
3. sor. Kezeletlen tengerimalac izolált ileumán in vitro szenzibilizálás és Schultz—Dale-reakció. Jelzések: 0,2 mg N ANTI-OA = inkubálás 0,2 mg nyúl-antiovalbumin-IgG-N-nel 30 percig; a többi jelzés mint előbb
4. sor. Kezeletlen tengerimalac izolált ileumán in vitro szenzibilizálás Fc-fragmentum jelenlétében és Schultz—Dale-reakció. Jelzések: 8 mg Fc + 0,2 mg N ANTI-OA = inkubálás 8 mg Fc-fragmentum + 0,2 mg nyúl-antiovalbumin-IgG-N keverékével 30 percig; a többi jelzés mint előbb
5. sor. Kezeletlen tengerimalac izolált ileumán in vitro szenzibilizálás Fc-fragmentummal való előkezelés után. Jelzések: 8 mg Fc; 0,2 mg N ANTI-OA = inkubálás előbb 30 percig 8 mg Fc-fragmentummal, majd azután mosás nélkül 0,2 mg nyúl-antiovalbumin-IgG-N-nel újabb 30 percig; a többi jelzés mint előbb

IV.

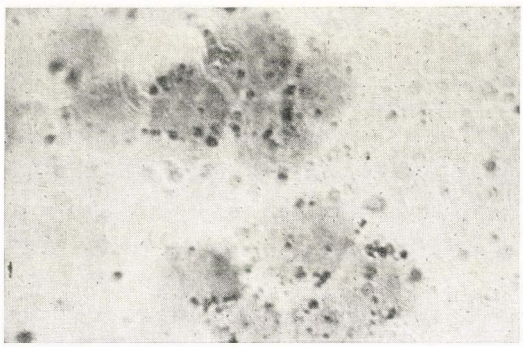
Régebbi kísérleteink *(Kávai* és mtsai 1968) szerint a *nyúl*-antiovalbumin-IgG heterocytophil ellenanyag, mert kezeletlen *tengerimalacok* peritonealis makrophagjaival in vitro inkubálva azokat szenzibilizálja úgy, hogy a homolog ovalbumin-antigen hozzáadására complement nélkül is feloldódnak. Előbbi feltevésünk igazolására ezen a rendszeren autoradiográfiásan vizsgáltuk a friss Fc-fragmentum antianaphylaxiás hatását.

Ezekhez a kísérletekhez a nyúl-antiovalbumin-IgG-t ^{125}J-izotóppal jelöltük *(McConahey* és *Dixon* 1966; *Humphrey* és mtsai 1967). 30 perces inkubálás után a mononuclearisok jól kimutatható fekete szemcsék alakjában veszik fel a radioaktive jelölt készítményt *(7. ábra)*.

Ezt az ellenanyag-felvételt az egyidejűleg adott friss Fc-fragmentum az alkalmazott mennyiség arányában képes csökkenteni *(8. ábra)*. Ha az izotóppal jelzett antiovalbumin-IgG és friss Fc-fragmentumának aránya 1 : 10, úgy jól láthatóan kevesebb fekete szemcse tapad a sejtekhez.



7. ábra. ^{125}J-izotóppal jelölt nyúl-antiovalbumin-IgG radioautográfiás lokalizálása tengerimalac peritonealis makrophagjain 30 perces inkubálás után



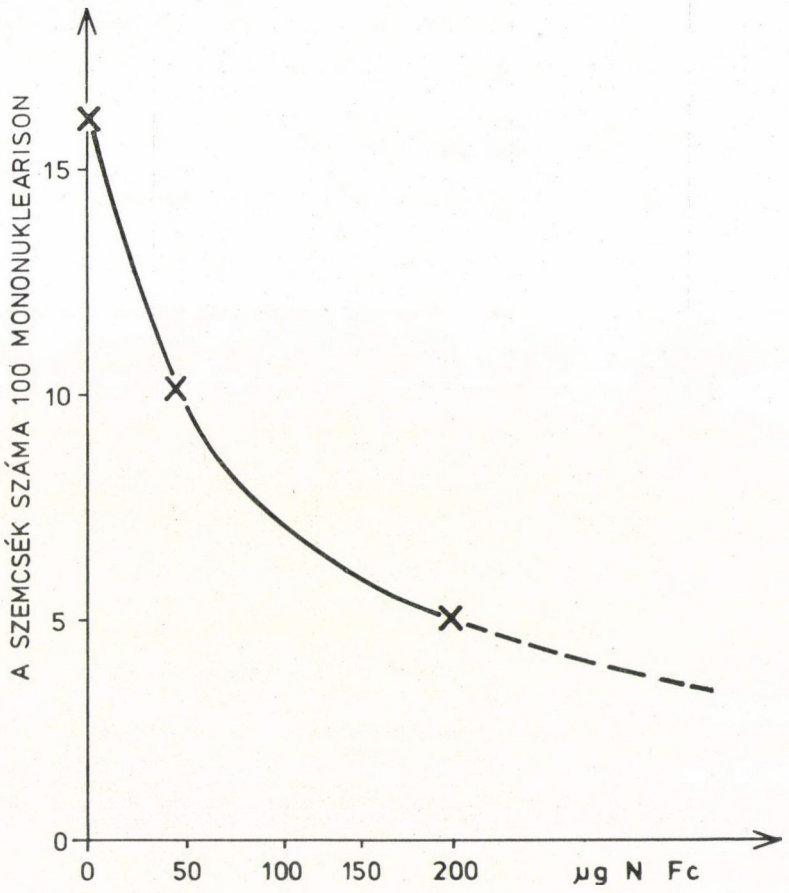
8. ábra. ^{125}J-izotóppal jelölt nyúl-antiovalbumin-IgG radioautográfiás lokalizálása tengerimalac peritonealis makrophagjain 30 perces inkubálás után 100 μg friss Fc-fragmentum jelenlétében

200—200 mononuclearison megszámláltuk az egy-egy sejthez tapadó szemcsék számát, és a *9. ábra* diagramja az Fc-fragmentum mennyiségének függvényében mutatja be a 100 sejtre eső jelzett nyúl-antiovalbumin-IgG szemcsék átlagát. A jellegzetes alakú görbe megerősíti az egerek *PCA*-jában és a tengerimalac-bél Schultz—Dale-reakciójában kapott eredményeket, és arra utal, hogy a friss Fc-fragmentum antianaphylaxiás hatása competitión alapul: *az Fc-fragmentum és az intakt nyúl-antiovalbumin-IgG* — melyből az Fc-fragmentumot papainos emésztéssel előállítottuk — *ugyanazokért a sejt-receptorokért vetélkedik*. A competitiv gátlás csak jelentős Fc-felesleg alkalmazása esetén észlelhető.

V.

A következő kísérletekben megvizsgáltuk, hogy képes-e megakadályozni a friss Fc-fragmentum az általános passzív anaphylaxiát a klasszikus kísérleti objektumon: tengerimalacokon.

Mivel értékelhető eredményeket csak viszonylag nagyobb számú állatcsoportokon végzett kísérletekből remélhettünk, a fajlagos antiovalbumin-IgG-ből frissen előállított Fc-fragmentumból a 15-szörös felesleg biztosítására oly



9. ábra. A friss Fc-fragmentum gátló hatása a tengerimalac peritonealis makrophagjainak ^{125}J-nyúl-antiovalbumin-IgG felvételére

nagy mennyiségek kellettek volna, amit képtelenek voltunk kitermelni. Emiatt ezekben a kísérletekben a tengerimalacok csak 5 : 1 arányban kapták a friss Fc-fragmentumot és az intakt nyúl-antiovalbumin-IgG-t. Eredményeinket az *I. táblázat* foglalja össze.

I. táblázat

Nyúl-antiovalbumin-IgG Fc-fragmentumának hatása tengerimalacok passzív anaphylaxiás shockjára

Állatcsoportok	A kezelés módja			Shocktünetek
	Fc-fragmentum intracardialisan	Intracardialis szenzibilizálás	Intrajugularis shock kiváltás	
I. Kontrol 20 állat	—	0,48 mg nyúl-antiovalbumin-IgG-N/test-súly-kg	48^{h} múlva 4 mg ovalbumin	Valamennyi állat 3—5′ en belül elpusztult
II. Szenzibilizálás *előtt 1^{h}-val* Fc kezelés: 5 állat	5×0,48 = 2,4 mg Fc-fragmentum-N/ testsúly-kg	0,48 mg nyúl-antiovalbumin-IgG-N/test-súly-kg	48^{h} múlva 4 mg ovalbumin	3 állat 3′-en belül elpusztult, 1 állat 18′ múlva pusztult el, 1 állat súlyos shock után 24^{h} múlva pusztult el
III. Szenzibilizálás *előtt 24^{h}-val* Fc kezelés: 12 állat	5×0,48 = 2,4 mg Fc-fragmentum-N/ testsúly-kg	0,48 mg nyúl-antiovalbumin-IgG-N/test-súly-kg	48^{h} múlva 4 mg ovalbumin	7 állat súlyos shock után életben marad, 3 állat súlyos shock után 24—48^{h} múlva pusztult el, 2 állat 3—5′-en belül elpusztult
IV. Szenzibilizálás *után 24^{h} múlva* Fc kezelés: 5 állat	5×0,48 = 2,4 mg Fc-fragmentum-N/ testsúly-kg	0,48 mg nyúl-antiovalbumin-IgG-N/test-súly-kg	48^{h} múlva 4 mg ovalbumin	Valamennyi állat 5′-en belül elpusztult

Az adatokból látható, hogyha az autolog IgG alkalmazása előtt csak 1 órával előbb adtuk be az 5-ször nagyobb mennyiségű friss Fc-fragmentumot, antianaphylaxiás védőhatás nincs. Akkor sem gátolja a friss Fc-fragmentum a shockhalált, ha a passzív szenzibilizálás után 24 órával később alkalmazzuk. De a passzív szenzibilizálás előtt 24 órával adott friss Fc-fragmentum a shockhalállal szemben kifejezetten véd. A védelem nem abszolút, a 12 tengerimalac közül 5 acut shockban pusztult el, viszont 7 állat — súlyos tünetek után ugyan, de — életben maradt. Hangsúlyoznunk kell, hogy már eleve nem reméltünk abszolút védelmet, hiszen az Fc-fragmentum korlátozott mennyisége miatt az előző kísérletekben abszolút védőhatást biztosító Fc feleslegnek csak 30%-át tudtuk alkalmazni.

Elméleti szempontból az eddigi eredmények sem érdektelenek, mert elsőnek igazoltuk autolog rendszerben a fajlagos IgG és a papainos hasítással nyert friss Fc-fragmentuma között fentálló vetélkedést a sejtreceptorokhoz való kapcsolódásukban. De ezt a competitiót a gyakorlatban nemigen lehet kiaknázni, a megfelelő mennyiségű specifikus immunoglobulin izolálása, majd ebből papainnal friss Fc-fragmentum előállítása az eddigi eljárásokkal a kitermelés kis hatásfoka miatt ma még megoldhatatlan nehézségeket jelent.

Ebben a nem nagyon kedvező kilátásokat ígérő helyzetben újra megvizsgáltuk azt az addig nem sokra becsült mellékleletünket, hogy a kezeletlen nyulak normális γ-globulinjainak a jelenlétében a nyúl-antiovalbumin-IgG és Fc-fragmentuma már 1 : 3 arányban alkalmazva sem idéz elő *PCA*-t. Az utánvizsgálatok ezt a megfigyelést kétségtelenné tették.

Ezért a következőkben tengerimalacokon megismételtük a fenti kísérleteket — de úgy, hogy a nyúl-antiovalbumin-IgG helyett kezeletlen nyulak normális IgG-jéből állítottunk elő friss Fc-fragmentumot. Autolog rendszer helyett tehát homolog rendszert alkalmaztunk. Eredményeinket a II. táblázat foglalja össze.

II. táblázat

Normál nyúl-IgG Fc-fragmentumának hatása tengerimalacok passzív anaphylaxiás shockjára

Állat száma	A kezelés módja			Shocktünetek
	Szenzibilizálás előtt 24^h-val intracardialisan Fc-fragmentum-N/testsúly-kg	Intracardialis szenzibilizálás nyúl-antiovalbumin-N/testsúly-kg	Intrajugularis shock kiváltás 48^h múlva	
1.	5×0,48 = 2,4 mg	0,48 mg	4 mg ovalbumin	2′ elpusztult
2.	5×0,48 = 2,4 mg	0,48 mg	4 mg ovalbumin	2′ elpusztult
3.	5×0,48 = 2,4 mg	0,48 mg	4 mg ovalbumin	4′ elpusztult
4.	5×0,48 = 2,4 mg	0,48 mg	4 mg ovalbumin	Súlyos shock után életben maradt
5.	5×0,48 = 2,4 mg	0,48 mg	4 mg ovalbumin	Súlyos shock után életben maradt
6.	5×0,48 = 2,4 mg	0,48 mg	4 mg ovalbumin	Súlyos shock után életben maradt

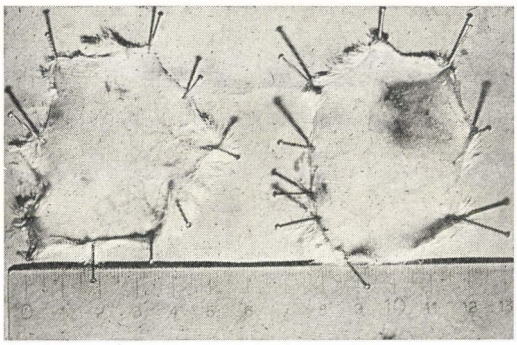
Mint a táblázatból látható, 6 tengerimalac közül 3 állat súlyos shocktünetek után ugyan, de életben maradt, és csak 3 pusztult el acut shockban, ha 24 órával a szenzibilizálás előtt a normális nyúl-IgG friss Fc-fragmentumát kapták 5-szörös feleslegben.

Egereken *PCA*-ban pedig a normális nyúl-IgG-ből praeparált friss Fc-fragmentumot 15-ször nagyobb adagban együttadtuk a nyúl-antiovalbumin-IgG-vel, ugyancsak jelentős gátlást észleltünk, a vizsgált 11 állat közül csak 4 reagált pozitív bőrreakcióval a fajlagos antigen, az ovalbumin befecskendezésére.

Ezek szerint tehát az Fc-fragmentum akkor is képes gátolni az in vivo anaphylaxiás reakciókat, ha nem az autolog fajlagos ellenanyag-IgG-ből állítjuk elő. Más szavakkal: az eddigi eredmények szerint a nyúl-IgG Fc-fragmentumai — eredetüktől függetlenül — ugyanazokhoz a sejtreceptorokhoz fixálódnak mint a specifikus ellenanyag-IgG molekulái. *Az Fc-fragmentum tehát receptor-specifikus.*

A nyúl azonban kisállat, kevés a vére és abban a normális IgG mennyisége, így a gátló hatású Fc-fragmentumok elegendő mennyiségben való előállítására gyakorlatilag még mindig kevéssé alkalmas, bár a fajlagos immunizálást és a velejáró időveszteséget most már megtakarítottuk.

Ezeknek a nehézségeknek a kiiktatására legújabban kezeletlen szarvasmarhák vérsavójából izoláltunk normális IgG-t, melyből papainnal Fc-fragmentumot állítottunk elő. A most is folyó kísérletekben egerek *PCA*-ját úgy kíséreltük meggátolni, hogy először kezeletlen szarvasmarhák normális IgG-jéből frissen praeparált Fc-fragmentumot fecskendeztünk be intradermalisan, majd 30 perc múlva ugyanazon a szúrcsatornán át nyúl-antiovalbumin-IgG-t. Ezt követően ismét félóra múlva az intravenásan adott specifikus antigenre, az ovalbuminra eddig 10 állat közül csupán egy adott pozitív *PCA*-t, a többi teljesen reakciómentes maradt, ha az Fc-fragmentum és az intakt ellenanyag között az arány 15 : 1-nek felelt meg *(10. ábra)*.



10. ábra. Szarvasmarha normális IgG-jéből nyert friss Fc-fragmentum gátló hatása a PCA-ra egerek hátbőrén. Intradermális előkészítés: bal oldalon szarvasmarha-IgG Fc-fragmentumával (30 μg), majd 30 perc múlva 2 μg nyúl-antiovalbumin-IgG-vel; jobb oldalon csak 2 μg nyúl-antiovalbumin-IgG-vel. Kiváltás mindkét egéren intravenásan adott 1,5 mg ovalbuminnal 1% Evans-kéket tartalmazó phys. NaCl-oldatban

Tehát heterológ rendszerben a *szarvasmarha* normális IgG-jéből előállított friss Fc-fragmentum is gátolja a *nyúl*-antiovalbumin-IgG passzív szenzibilizáló hatását, ha megfelelő időben és feleslegben alkalmazzuk. Kezeletlen szarvasmarhák savója könnyen beszerezhető, mennyisége alapján is megfelelő forrást jelenthet elegendő Fc-fragmentum előállítására. Tekintettel arra, hogy a friss Fc-fragmentum a szervezetből 2—3 nap alatt kiürül, önmagában biológiailag inaktív, nem szenzibilizál, anaphylaxiás-allergiás kórfolyamatok befolyásolására kipróbálhatónak látszik.

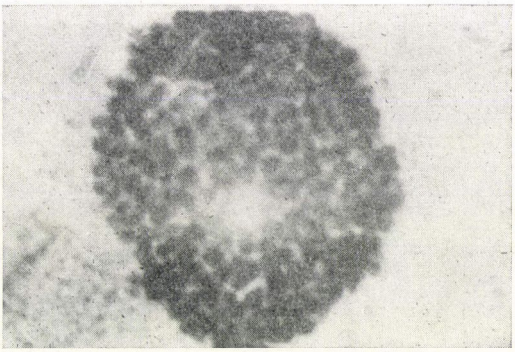
VI.

Ezeket a kedvező kilátásokat azonban ma még nagyon zavarja, hogy éveken keresztül nem sikerült megoldanunk az Fc-készítmények tárolását. Ezért az eddigiek során mindig igyekeztünk hangsúlyozni, hogy frissen praepa-

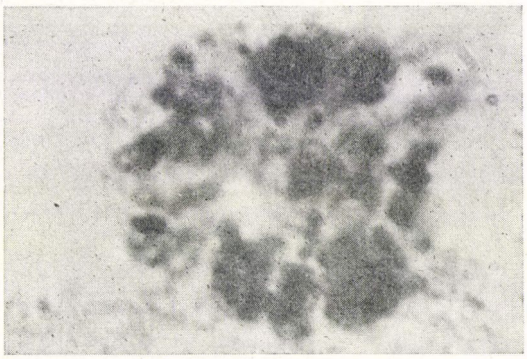
rált, nem tárolt Fc-fragmentumok biológiai hatásairól volt szó. Kísérleteink megkezdése után ugyanis elég hamar kiderült, hogy jégszekrényben való 3 hónapos tárolás után Fc-készítményeink toxikusokká válnak. Az egerek *PCA*-ját összefoglaló *5. ábra* első állatán tárolt Fc-vel készítettük elő a bőrt, az intravenásan adott ovalbuminra jellegzetes reakció következett be. Az alaposabb elemzés kétségtelenül kimutatta, hogy a 3 hónapnál hosszabb ideig jégszekrényben tárolt Fc-fragmentumból 5 μg intradermalisan adva 30—40 perc múlva a fajlagos ovalbumin-antigen intravenás alkalmazása nélkül — önmagában is — pozitív bőrreakciót vált ki.

A tárolt Fc-készítmények önmagukban is károsítják a patkány hízósejtjeit. Ha kezeletlen patkányok hízósejtjeit inkubáljuk patkány-serumfehérjéivel szemben nyúlban termelt immunsavóval, főleg a hízósejt membránja károsodik, eltűnik *(11. ábra)*.

A tárolt Fc-fragmentum viszont inkubálás alatt szinte szétrobbantja a patkány hízósejtjét, a granulumok száma jelentősen csökken *(12. ábra)*. Szemmel látható, hogy a kétféle hízósejt-károsodás eltérő, nem azonos jellegű.



11 ábra. Patkány-serumfehérjékkel szemben termelt nyúl-immunsavó degranulatiós hatása kezeletlen patkány hízósejtjén. 1600-szoros nagyítás



12. ábra. Nyúl-antiovalbumin-IgG tárolt Fc-fragmentumának degranulatiós hatása kezeletlen patkány hízósejtjén. 1600-szoros nagyítás

Ha kezeletlen tengerimalacoknak 1—5 mg tárolt Fc-készítményt fecskendezünk be intracardialisan, 5—10 perc múlva erős remegés és kifejezett dyspnoe észlelhető. 7 mg tárolt Fc után a tünetek még súlyosabbak, a leölt állat boncolásakor a mellékvesékben kiterjedt, az ovariumokban, a tüdőben és a vékonybélben pontszerű vérzések láthatók. 10 mg tárolt Fc-készítmény pedig a kezeletlen tengerimalacokon már 2 perc múlva igen súlyos tüneteket okoz, az állatok fele kb. 30—60 percen belül el is pusztul. A 3 hónapig vagy hosszabb időn át tárolt Fc-praeparatumok félhalálos adagja (LD_{50} = *dosis semiletalis)* tehát tengerimalacokon 10 mg. A tárolási idő további megnyújtásával a toxicitás nem fokozódik.

Boncoláskor a has felnyitása után kiterjedt *haemorrhagia* látható az egész bélrendszerben és szinte az összes zsigerekben *(13. ábra)*. A típusos tengerimalac-anaphylaxia bonclelete egészen más; ott a tüdő — mint az közismert — vértelen, fehér, levegővel telt, lószőr-párna tapintatú *(14. ábra)*. A tárolt Fc által tengerimalacokon előidézett halálos mérgezés inkább a patkányok anaphylaxiás shockhalálához vagy a proteasék által okozott shockhoz hasonlít.



13. ábra. 10 mg tárolt Fc-fragmentum intracardialis alkalmazása után 2 perc múlva elpusztult tengerimalac bonclelete. A bélben és a zsigerekben kiterjedt haemorrhagia, a tüdő collabált

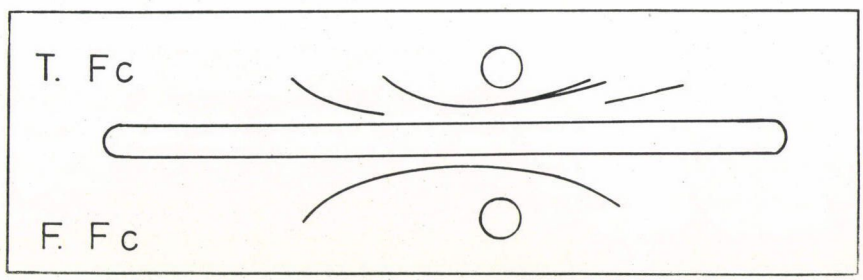


14. ábra. Típusos anaphylaxiás shockban (ovalbumin szenzibilizálás után 21 nap múlva ovalbumin reinjiciálása) elpusztult tengerimalac bonclelete. Bronchus-zár okozta tüdő-emphysema

Elképzelhető módon nagyon zavarta a kísérletek tervszerű menetét az Fc-fragmentum tárolás közben létrejött megváltozása. Amikor volt friss készítmény, feszített ütemben kellett halmoznunk a kísérleteket; ugyanakkor az is nyilvánvaló volt, hogy mennyire használhatatlan gyakorlati alkalmazásra egy tárolás közben toxikussá váló praeparatum.

Az irodalmi adatok alapján feltételezhető volt, hogy tárolás közben az Fc-fragmentumok polimerizálódnak, és így toxikus aggregatum képződik. De ultracentrifugában a friss Fc sedimentációs állandója 3,2-nek bizonyult, a tárolt készítményé pedig csak 2,0-nak, emellett inhomogen lett. Friss Fc esetén az ebből számított molekulasúly 50 000 daltont adott, a tárolt Fc esetén pedig a domináló frakció 25 000—27 000 daltonnak felelt meg.

Nyúl-IgG ellen termelt lóimmunsavó segélyével immunelektroforézisben is megvizsgáltuk a friss és a tárolt Fc antigenitását *(15. ábra)*. Mint látható, a friss Fc-fragmentum homogén, egyetlen praecipitatiós ívet ad, viszont a tárolt készítménynél több ív fedezhető fel — mégpedig a gyorsabban mozgó tartományban is.



15. ábra Immunelektroforézis
A középső vályúban nyúl-IgG ellen lóban termelt immunsavó, felette tárolt (T. Fc) Fc-fragmentummal több praecipitatiós ív, alatta friss (F. Fc) Fc-fragmentummal egyetlen praecipitatiós ív

Mindez arra utalt, hogy tárolás közben az Fc-fragmentum degradálódik, kisebb polypeptidekre esik szét, melyek biológiailag aktívak A tárolt, degradált Fc befecskendezése után pedig — mint láttuk — tengerimalacokban is a patkány anaphylaxiás shockjához hasonló, súlyos bélvérzéssel jellemezhető, protrahált halál következik be. Intézetünkben más irányú vzsgálatok *(Csaba* és *Muszbek* 1972; *Fésüs* és mtsai 1975, 1976) során sikerült kimutatni, hogy Bordetella pertussis vaccina előkezelés után patkányok anaphylaxiájában a súlyos shocktünetek kialakulásával párhuzamosan jelentősen nő a serumban a neutralis proteasék, valamint a fibrinolytikus rendszer aktivitása, s ennek következtében in vivo fibrinogen bomlás megy végbe. A patkányok protrahált shockhalálának jellemző tünete, a súlyos véralvadási zavar ezzel a mechanizmussal magyarázható.

Ezek ismeretében szinte automatikusan merült fel a kérdés, hogy patkányokban a neutralis proteasék aktiválódása nem hasítja-e a passzive szenzibi-

lizáló heterocytophil nyúl-IgG-t, és ha igen, akkor milyen termékek keletkeznek? A kérdés eldöntésére patkányokat Bordetella pertussis vaccinával való előkezelés mellett lósavóval szenzibilizáltunk, majd 12 nap múlva 5 perccel a shockkiválás előtt 5 mg ^{125}J-izotóppal jelzett normális nyúl-IgG-t fecskendeztünk be intravenásan. A shockkiváltó lósavó-antigen befecskendezése után 15—20 perc múlva — a shock csúcspontján — állatainkat elvéreztettük, serumaikat polyacrylamid-gélen futtattuk, majd a gélt mm-es szeletekre vágtuk, és radioaktivitásukat meghatároztuk.

A *16. ábrán* négy ilyen kísérlet eredményei láthatók, a savókban a felszeletelt gél hosszúságának függvényében 6—7 csúcs rajzolódott ki. Ez azt jelenti, hogy patkányok aktív anaphylaxiás shockjában 15—20 perc alatt a jelenlevő heterolog nyúl-IgG legalább ennyi fragmentumra hasad szét.

Ha viszont szenzibilizált, de nem shockoltatott patkány kap jelzett nyúl-IgG-t, 15—20 perc múlva ilyen bomlás nem észlelhető *(17. ábra)*. In vitro emésztve a jelzett nyúl-IgG-t papainnal 5 hasadási fragmentum, pronase hydrolysis után 6 hasadási fragmentum detektálható.

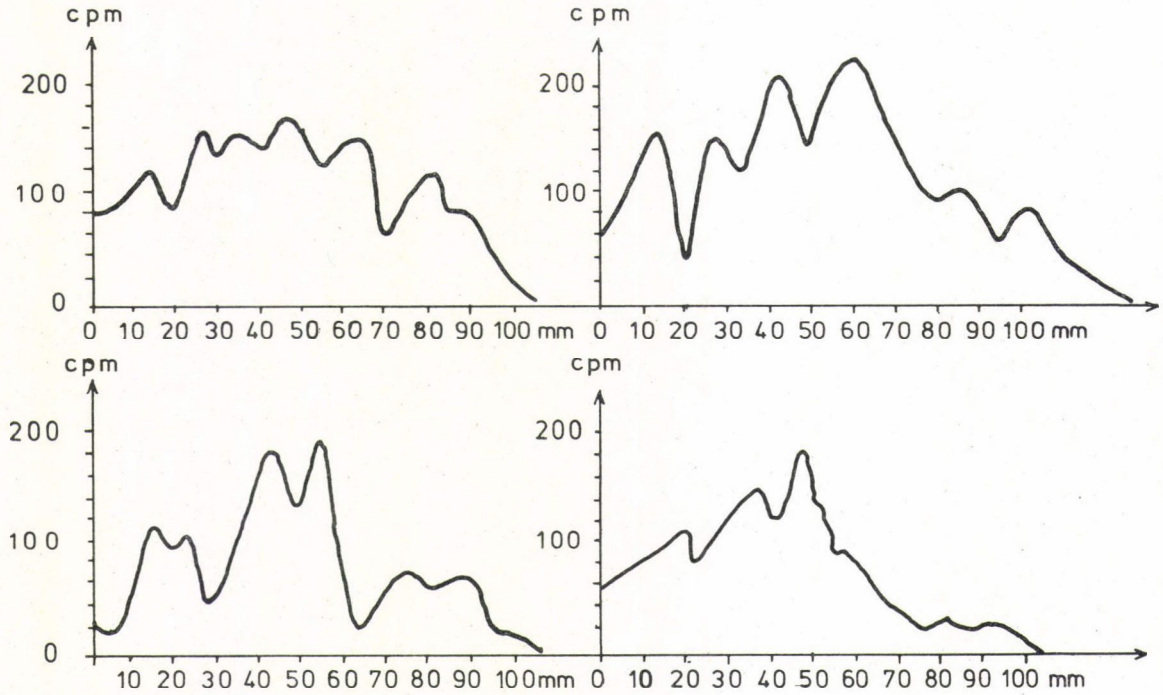
E kísérletek szerint tehát — legalábbis patkányokban — anaphylaxiás shock alatt a protease aktivitás fokozódása következtében a heterolog nyúl-IgG élőben fragmentálódik, és a képződő fragmentumok — a tárolás közben keletkező Fc-fragmentumokhoz hasonlóan — akár direkt toxicitásukkal, akár a complement aktiválása útján, akár a Hageman-faktor bevonásával és bradykinin termelésével az anaphylaxiás shockot jelentősen súlyosbíthatják.

Mindeddig az IgG fragmentumait kémcsőben előállított mesterséges termékeknek minősítettük, a most vázolt eredmények szerint viszont élőben is képződhetnek, és különböző kórfolyamatokban biológiai hatásukkal esetleg számolnunk lehet. A fragmentumok kutatása előtt így új perspektívák tárultak fel, ezirányban a legsürgősebb feladatnak az élőben keletkező, nem is kevés fragmentum izolálása és jellemzése látszik; tisztázni kell továbbá, hogy az autolog IgG ugyanúgy fragmentálódik-e in vivo, mint a heterolog IgG, mert ez esetben az aktív anaphylaxia pathomechanizmusában nemcsak a már régóta kutatott shockmediatorokkal, hanem az ellenanyagok fragmentumaival is számolnunk kell, mint esetleges potencírozó tényezőkkel. *A fragmentum-kutatás tehát biológiai jelentőségű.*

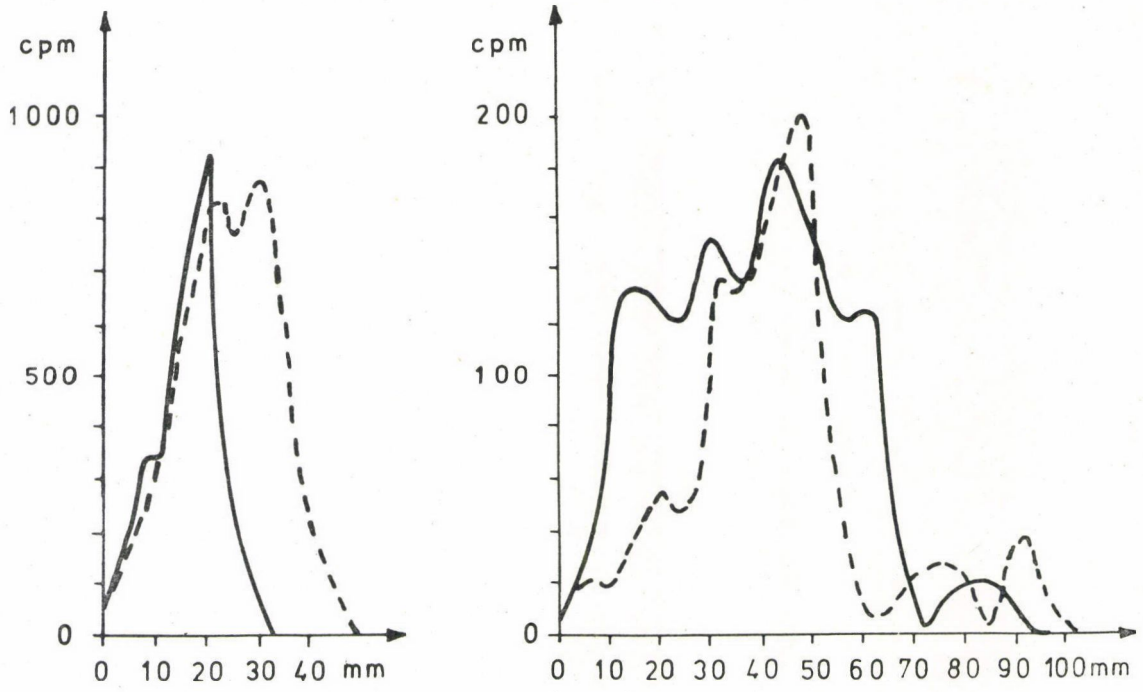
VII.

E kitérés után azonban még mindig felelnünk kellene arra, miért degradálódik az antianaphylaxiás friss Fc-fragmentum +4° C körüli hőmérsékleten 3 hónapos tárolás közben toxikus keverékké?

Bár anyagaink kezelése során mindig igyekeztünk tisztán dolgozni, az első készítmények előállítása és tárolása közben a bakteriológiai sterilitás szabályai mégsem voltak biztosítva, mert néhány elsőnek tárolt készítményből a



16. ábra. Intravenásan adott ^{125}J-izotóppal jelzett normális nyúl-IgG hasadása patkányok serumában anaphylaxiás shock alatt. Futtatás polyacrylamid-gélen



17. ábra. Bal oldalon: intravenásan adott ^{125}J-izotóppal jelzett normális nyúl-IgG viselkedése szenzibilizált, de nem shockoltatott patkány serumában.
——— = az eredeti készítmény
------- = 20 perccel a beadás után vett savóban.
Jobb oldalopn: ^{125}J-izotópal jelzett normális nyúl-IgG enzymes hasítása in vitro.
——— = emésztés papainnal
------- = emésztés pronaseval. Futtatás polyacrylamid-gélen

Bordetella pertussis csoportba tartozó Bacterium bronchosepticumot és más parapertussisokat, továbbá Aerococcus viridanst lehetett kitenyészteni. Közülük a pertussis csoport baktériumai esetleg hasíthatták volna az Fc-fragmentumokat, bár az ugyanakkor tárolt IgG-készítményekben e mikroorganizmusok előfordulása ellenére sem volt észlelhető proteolysis. A tárolt Fc-fragmentumok toxicitásának felfedezése után a steril kautélák szigorú megvalósításával készítményeink tárolás közben sterilek maradtak ugyan, de 3 hónap múlva változatlanul toxikusoknak bizonyultak. A bakteriális fertőzés tehát a degradálódást nem magyarázhatja.

Így az a lehetőség merült fel, hogy az IgG papainos hasítása útján nyert Fc-fragmentum molekuláris szerkezete instabil, és igen lassú, de +4° C-on is feltartóztathatatlan, további bomlást szenved.

Végül nem zárható ki, hogy az Fc-fragmentum előállítására szolgáló irodalmi eljárások után minimális papain-nyomok maradnak vissza készítményeinkben, melyek — irodalmilag ismert módon — hosszabb idő alatt viszonylag alacsonyabb hőmérsékleten is továbbhasíthatják az Fc-fragmentumokat.

A friss Fc-fragmentum változatlan állapotban való megőrzésére az elmúlt évek során igen sokféle módon próbálkoztunk — kevés eredménnyel. Legújabb kísérleteink azonban az utolsó feltevést valószínűsítik. Az elmúlt évben — az esetleges papain-nyomok eltávolítására — az irodalmilag optimálisnak ítélt fragmentáló és izoláló eljárásokat (*Thorpe* és *Deutsch* 1966; *Levy* és *Sober* 1960) módosítottuk úgy, hogy az összes dialysiseket és eluálásokat a megadott receptek szerint, de kétszer annyi ideig és ismételten hajtottuk végre. Eme módosítás következtében az egyébként sem túl bő hozam továbbromlott ugyan, de a módosított eljárással előállított első készítményünk 10 hónapos +4° C-on való tárolás után egerek *PCA*-jában változatlan erősségű antianaphylaxiás hatást mutatott, és nem degradálódott toxikussá.

Ha az azóta előállított és tárolt további készítményeink hasonlóan viselkednek, akkor elhárul az utolsó akadály is az elől az elképzelés elől, hogy az önmagában hatástalan, a szervezetből 2—3 nap alatt teljesen kiürülő Fc-fragmentumok competitív antagonizmusát a szenzibilizáló ellenanyagokkal szemben a gyakorlat számára is hasznosíthassuk. Elsősorban emberi IgE-ből praeparált Fc-fragmentumok sorozatos és nagymennyiségben való bevitelére gondolhatunk, ami — eddigi eredményeink szerint — csökkentheti vagy teljesen meg is gátolhatja embereken az anaphylaxiás és allergiás tünetek jelentkezését.

Ehhez azonban a biztonságos tárolás megoldása mellett még számos további alapvető állatkísérlet is szükséges, melyek tisztázzák a humán IgE Fc-fragmentumának biológiai hatásait, ill. azt, hogy a különböző fajú állatok — elsősorban a szarvasmarhák — normális IgG-jéből előállított Fc-fragmentumok és az emberi IgE között van-e competitio?

IRODALOM

Beale, D. és *Feinstein, A.:* Quart. Rev. Biophys. **9,** 135. 1976.
Csaba, B. és *Muszbek, L.:* Acta Allerg. **27,** 55. 1972.
Csaba, B., Juszupova, S. és *Kesztyűs, L.:* Kísérletes Orvostudomány **23,** 615. 1971; Acta Physiol. Acad. Sci. hung. **39,** 71. 1971.
Csaba, B., Juszupova, S., Deseő, G. és *Kesztyűs, L.:* Kísérletes Orvostudomány **25,** 25. 1973a.
Csaba, B., Kávai, M., Juszupova, S. és *Kesztyűs, L.:* Kísérletes Orvostudomány **25,** 33. 1973b.
Csaba, B., Kávai, M., Juszupova, S. és *Kesztyűs, L.:* Int. Archs. Allergy appl. Immun. **50,** 206. 1976.
Edelman, G. M.: Ann. N. Y. Acad. Sci. **190,** 5. 1971.
Fésüs, L., Muszbek, L. és *Csaba, B.:* Int. Archs. Allergy appl. Immun. **49,** 540, 1975.
Fésüs, L., Csaba, B. és *Muszbek, L.:* Int. Archs. Allergy appl. Immun. **51,** 496. 1976.
Humphrey, J. H., Askonas, B. A., Auzins, I., Schechter, I., és *Sela, M.:* Immunology **13,** 71. 1967.
Kávai, M., Csaba, B., Juszupova, S. és *Kesztyűs, L.:* Acta Microbiol. Acad. Sci. hung. **14,** 357. 1967.
Kávai, M., Csaba, B. és *Kesztyűs, L.:* Acta Microbiol. Acad. Sci. hung. **15,** 111. 1968.
Kesztyűs, L., Kávai, M. és *Csaba, B.:* Annales Immunologiae Hung. **16,** 231. 1972.
Kesztyűs, L.: Orvostudomány **27,** 87. 1976.
Kierszenbaum, F. és *Dandliker, W. B.:* Immunochemistry **5,** 75. 1968.
Levy, H. B. és *Sober, H. A.:* Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **103,** 250. 1960.
McConahey, P. J. és *Dixon, F. J.:* Int. Arch. Allergy **29,** 185. 1966.
Ovary, Z.: J. Immunology **81,** 355. 1958.
Porath, J. és *Flodin, P.:* Nature **183,** 1657. 1959.
Porter, R. R.: Biochem. J. **73,** 119. 1959.
Scheidegger, J. J.: Int. Archs. Allergy appl. Immun. **7,** 103. 1955.
Stewart, G. A.: The isolation and characterization of biologically active fragments of rabbit IgG. Ph. Diss. Thesis. Departm. of Exp. Path. Univ. Birmingham. 1976.
Thorpe, N. O. és *Deutsch, H. F.:* Immunochemistry **3,** 317. 1966.

Semmelweis Orvostudományi Egyetem, I. sz. Kórbonctani Intézet, Budapest

A MÁJ ULTRASTRUKTURÁLIS ELVÁLTOZÁSAI KONSTITUCIONÁLIS (IDIOPÁTIÁS) NEM HEMOLITIKUS HIPERBILIRUBINÉMIÁKBAN

LAPIS KÁROLY, az MTA levelező tagja és SCHAFF ZSUZSA, az orvostudományok kandidátusa

Közlésre érkezett: 1977. IV. 18.

A hiperbilirubinémiák ezen csoportjába olyan sajátos, többnyire familiáris állapotok tartoznak, melyekben a bilirubin anyagcsere valamilyen veleszületett rendellenessége áll fenn. Egy kivételével (Crigler—Najjar-szindroma) ezen állapotok nem befolyásolják sem a beteg közérzetét, sem élettartamát (Berk és mtsai, 1975). Jellemző vonásuk még, hogy — eltekintve a pigment granulumok felszaporodásától — a máj szöveti képe fénymikroszkopos vizsgálat során rendszerint normális (László, 1964, Anderson, 1966, Satler, 1966, Ahlers és mtsai, 1967, Arias, 1968, Schaff és mtsai, 1969, Berk és mtsai, 1975).

A kiterjedt klinikai, morfológiai és biokémiai vizsgálatok ellenére ezen állapotok egy részében a hiperbilirubinémia alapját képező bilirubin anyagcserezavar természete ma sem tisztázott (Schaff és mtsai, 1969, Berk és mtsai, 1975).

Jelen ismereteink szerint a hiperbilirubinémiák két csoportra oszthatók (Berk és mtsai, 1975):

I. Nemkonjugált hiperbilirubinémia,

II. Konjugált hiperbilirubinémia.

Az I. csoportba tartoznak a glucuronil transzferáz enzim elégtelenség következtében kialakuló kongenitális nem hemolitikus sárgaságok, valamint a konstitucionális hepatikus disfunkció vagy Gilbert—Meulengracht-szindorma (Icterus juvenilis intermittens) (Gilbert és Lereboullet, 1902, Knoke és mtsai, 1967, Schaff és mtsai, 1969, Berk és mtsai, 1975). Tulajdonképpen e csoportba sorolható az újszülött korban gyakori „fiziológiás sárgaság" is.

A II. csoportba tartoznak hagyományosan a Dubin—Johnson- és Rotor-szindromák, és ide sorolják az újabban leírt „máj tárolási betegséget", valamint a „benignus familiáris rekurráló intrahepatikus cholestasis" néven ismert kórformát (Berk és mtsai, 1975).

A májbiopsziás anyagok elektronmikroszkópos vizsgálatának elterjedésével a hiperbilirubinémiák e sajátos formáival kapcsolatban nagy figyelmet

fordítottak az ultrastrukturális elváltozások tanulmányozására, mert remélték, hogy a párhuzamosan végzett biokémiai vizsgálatokkal elősegítik nemcsak e sajátos állapotok patomechanizmusának tisztázását, hanem jelentős előrehaladást eredményezhetnek a bilirubin metabolizmus megértésében is.

A Crigler—Najjar-szindroma

A Crigler—Najjar által 1952-ben leírt (Crigler és Najjar, 1952) szindromát újszülöttkorban fellépő és az egész életen át perzisztáló sárgaság (nem konjugált bilirubinémia) jellemzi (Schmid, 1972, Berk és mtsai, 1975). A májbiopsziás anyagban gyakorlatilag UDP-glucuronil transzferáz nem detektálható. Ma e szindroma az angolszász irodalomban mint Type I. kongenitális nem hemolitikus sárgaság ismeretes (Berk és mtsai, 1975). Familiáris autoszomális recesszív öröklődést mutató rendellenesség, a szülők között gyakori vérrokonság. Hasonlít hozzá a Type II. kongenitális nem hemolitikus sárgaság. Az előzőtől az alacsonyabb szérum bilirubin szintben, valamint azáltal különbözik, hogy fenobarbitál kezelésre a plazma bilirubin koncentráció feltűnően csökken és bár szintén familiáris előfordulású, vérrokonság nem jellemző.

A kongenitális nem hemolitikus sárgaság e két típusa közül a májat elektronmikroszkoposan — a számunkra hozzáférhető irodalom szerint — csak a Type I vagy Crigler—Najjar-szindroma esetében tanulmányozták (Minio—Paluello és mtsai, 1968). A Crigler—Najjar-szindromában megfigyelhetők a nem hemolitikus hiperbilirubinémiák felnőttkori formáiban is (Gautier és mtsai, 1968, Okolicsányi és mtsai, 1969, Schaff és mtsai, 1969, Barth és mtsai, 1971) észlelt, s jellemzőnek talált elváltozások egy része, így a májsejtek vascularis pólusának és a sinusoidális endotheliumnak a károsodása. A vascularis pólus mikrovillusoktól való megfosztottsága és a membrán szakadás ugyan ritkább, mint a felnőttkori formákban, a sinus enthothel bélés károsodása viszont igen kifejezett. A sima felszínű endoplazmás retikulum szintén felszaporodott, s a tágult Disse térben ugyanúgy kollagén fibrillák és májsejt eredetű sejttörmelék található, mint a felnőttkori formákban. Leírtak (Minio—Paluello és mtsai, 1968) azonban Crigler—Najjar-szindromában néhány, a felnőttkori formákétól eltérő ultrastrukturális vonást is: hiányoznak a felnőttkori formákban oly gyakori mitokondrium alterációk, a májsejtekben mérsékelt epepangás jelei észlelhetők, viszont nem található bennük lipofuscin granulum. Epepigment felhalmozódás jelei mutatkoznak a Kupffer-sejtekben is, és a májsejtek közötti intercelluláris terek jelentősen kiszélesedtek és a sejtek felszínén e szakaszokon fejlett mikrovillusok észlelhetők.

A felnőttkori formákétól eltérő utóbbi elváltozások Minio-Paluello és mtsai (1968) véleménye szerint a betegek fiatal korával magyarázhatók és valószínűleg a máj éretlenségének kifejezői.

Gilbert—Meulengracht-szindroma

A csökkent hepatikus bilirubin kiválasztás következtében kialakuló nem konjugált hiperbilirubinémiák ezen formája, az először francia szerzők által leírt (Gilbert és Lereboullet, 1902) „cholémie simple familiale" a század eleje óta ismert. Jellemző vonásai: enyhe krónikus nem konjugált hiperbilirubinémia, azonban hiányzik a bilirubinuria vagy más májbetegség jele.

Hisztológiailag gyakran lipofuscin pigment felhalmozódás látható, különösen a centrolobuláris zónában, de rendszerint semmiféle hisztológiai abnormalitás nem mutatkozik (Simon és Varonier, 1963, László, 1964, Anderson, 1966, Satler, 1966, Ahlers és mtsai, 1967, Arias, 1968, Berk és mtsai, 1975). Jelentőségét növeli, hogy elég gyakori, szűrővizsgálatok során egészséges diákok 5%-ban észlelték. Sok családban autosomális domináns előfordulású, de számos izolált sporadikus eset is ismeretes (Berk és mtsai, 1975).

A Gilbert-szindromában észlelt csökkent bilirubin clearence mechanizmusa még ma is vita tárgya. Lehetséges, hogy a csökkent bilirubin clearence a defektív hepatikus felvétel eredménye. A másik lehetőség, hogy a bilirubin glucuronsavas konjugációja zavart. Erre utal, hogy in vitro mérések szerint a máj bilirubin UDP-glucuronil transferáz mennyisége csökkent, kb. 20%-a a normál májbiopsziás anyagoknak (Berk és mtsai, 1975). Azonban ezen megfigyelés vonatkoztatása in vivo helyzetre nem világos. Fenobarbitál vagy glutetimid terápiára ugyanis a plazma bilirubin koncentrációja és a hepatikus bilirubin clearance normalizálódik, jóllehet az UDP glucuronil transzferáz szintjében nem áll be változás. Az ismertetett patomechanizmusok egyike sem tekinthető véglegesen megalapozottnak, bizonyítottnak (Crigler és Najjar, 1952).

A konstitucionális nem hemolitikus hiperbilirubinémiák közül elektronmikroszkopos vizsgálat legtöbb esetben éppen Gilbert-szindromában történt (Simon és Varonier, 1963, Minio és mtsai, 1965/a., Minio és mtsai, 1965/b., Minio és mtsai, 1966/b., Magnenat és Minio—Paluello, 1967, Minio és Gautier, 1967, Gautier és mtsai, 1968, Minio—Paluello és mtsai, 1968, Okolicsányi és mtsai, 1969, Schaff és mtsai, 1969, Barth és mtsai, 1971), melyet talán annak relatív gyakorisága magyaráz.

A hepatociták vasculáris pólusának károsodását már az első vizsgálatok, Simon és Varonier (1963) is hangsúlyozták, s annak különböző jellegű és mértékű károsodását a későbbiekben számosan megerősítették (Minio és mtsai, 1965/a., Minio és mtsai, 1965/b., Minio és mtsai, 1966/b., Magnenat és Minio—Paluello, 1967, Minio és Gautier, 1967, Minio—Paluello és mtsai, 1968, Okolicsányi és mtsai, 1969, Schaff és mtsai, 1969, Barth és mtsai, 1971). E címszó alatt ez elváltozások elég heterogén csoportját írták le: éspedig a Disse tér felé tekintő sejtmembrán fokozott fragilitását, rajta a mikrovillusok számának megkevesbedését, azok megrövidülését és szerkezeti változásait, sőt a membrán rupturáját, a sinusoidalis endothel károsodását, ill. hosszabb-rövidebb sza-

kaszon való pusztulását is. A vasculáris pólus károsodás részjelenségeként leírták a Disse tér tágulatát, valamint májsejt eredetű anyagok (glikogén, sejttörmelék) Disse térben és sinusoidok lumenében való jelenlétét. Újabban (Gautier és mtsai, 1968) van olyan vélemény, hogy a korábbi vizsgálatokban leírt változások nagy része rögzítési műtermék, mert újabb s talán jobb technikával végzett vizsgálatok során azokat nem észlelték (Oudéa és mtsai, 1967), és a Gilbert-szindroma állatkísérleti modelljében homozigota Gunn-patkányok májában sem figyelhető meg (Gautier és mtsai, 1968). Magunk a sejtmembrán rupturáját nem észleltük, s a mikrobolyhok részéről észleltünk jelentősebb elváltozásokat. Eseteink egy részében viszont a vasculáris pólus mentén a citoplazmatikus mátrix jelentős megtömörülését figyeltük meg (1. ábra). A tágult Disse terekben sejtdetritust is csak elvétve találtunk, mégsem osztjuk azt a nézetet, hogy a vascularis pólus említett elváltozásai — a sejthártya rupturái kivételével — műtermékek volnának. Kollagen fibrillákat viszont rendszeresen megfigyeltünk, s azok olykor a tágult intercellularis terekbe is beterjedtek.

Számos szerzővel (Barone és mtsai, 1965, Cussac és mtsai, 1966, Whelton és mtsai, 1968) összhangban eseteinkben a sima felszínű endoplazmás retikulum (sEr) felszaporodását és vezikuláris megjelenését találtuk (1., 3. ábra). Ezzel párhuzamosan azonban mindig a durva felszínű endoplazmás retikulum mennyiségének csökkenését, vezikuláris átalakulását és részleges degranulációját észleltük (3. ábra), sEr szaporulat tehát legalábbis részben nem hipertrofia, hanem a durva felszínű endoplazmás retikulum károsodását jelző degranulálódás eredménye. Hasonló elváltozásokat írtak le japán szerzők is (Sasaki és Ichida, 1961, Tanikawa és Emura, 1965, Tanikawa, 1968), míg mások (Minio és mtsai, 1965/a., Gautier és mtsai, 1968) a sEr részéről nem észleltek szembetűnő elváltozásokat. Említést érdemel, hogy az endoplazmás retikulum fent leírt elváltozásait Gunn-patkányok májában is megfigyelték (Novikoff és Essner, 1960). Az endoplazmás retikulumot érintő elváltozások mellett megfigyeltük (Schaff és mtsai, 1969) eseteinkben a poliszomák hiányát és a szabad riboszoma állomány megkevesbedését is, ugyanakkor monopartikuláris glikogén granulumok jelentős felszaporodását észleltük. Megfigyeléseink szerint szembetűnő elváltozások mutatkoznak a mitokondriumok részéről is. Jelentős alak- és nagyságbeli variáció mellett gyakori volt 6—8 μ hosszú óriás mitokondriumok előfordulása. A mitokondriumok jelentős hányadának mátrixában párhuzamosan rendeződött filamentozus elemekből álló változó nagyságú és orientációjú fibrilláris, ill. paracristalloid inklúziókat figyelhettünk meg. (6., 7., 8. ábra). Ezen inklúziók jelentősége ismeretlen, a zárványok kémiai összetétele különbözik a mitokondriumok egyéb alkotórészeinek összetételétől (Minio és Gautier, 1967, Schaff és mtsai, 1974/a., Schaff és mtsai, 1974/b.) (9, 10, 11, 12. ábra). Az inklúziók előfordulásának gyakoriságára Rotor-szindromában kvantitatív adatok is elérhetők (Minio és Gautier, 1967), eszerint

egyik esetben a mitokondriumok 45%-ban jelen volt, másik esetben viszont teljesen hiányzott. Bár számolást nem végeztünk, benyomásunk szerint a mitokondrialis inklúziók gyakorisága Gilbert-szindromában is esetenként változik. Maga ez is valószínűtlenné teszi, hogy valamiféle összefüggés állna fenn az intramitokondriális fibrilláris inklúziók és a konstitucionális nem hemolitikus sárgaságok patogenezise között, nem is szólva arról, hogy hasonló mitokondriális inklúziók talán kisebb számban, de a máj sokféle más patologiás állapotában, sőt ép májban is előfordulnak, tehát patognomikusnak sem tekinthetők a szóban forgó hiperbilirubinémiákra (Gautier és mtsai, 1968).

A citoplazmában szabadon fekvő paracristalloid struktúrák előfordulását is leírták (Minio és Gautier, 1967) két esetben, ezek jelentősége még kevésbé ismert, mint a mitokondriális inklúzióké és a máj más kóros állapotában (Schaff és mtsai, 1974/b.) is előfordulnak.

Gilbert-szindromában a máj fénymikroszkopos szöveti képét többnyire normálisként írták le (McMahon 1957, Foulk és mtsai, 1959, László, 1964, Anderson, 1966, Satler, 1966, Ahlers, 1967, Powell és mtsai, 1967, Smith és mtsai, 1967, Arias, 1968, Tanikawa, 1968, Schaff és mtsai, 1969, Berk és mtsai, 1975), de beszámoltak pigment felhalmozódásról is (Curry és mtsai, 1942, Simon és Varonier, 1963, Minio és mtsai, 1966/a.). Barth és mtsai (1971) véleménye szerint ezt nem hangsúlyozták kellőképpen, ezért fordulhatott elő, hogy a Gilbert-szindroma klinikai képét mutató — de a májban pigment felhalmozódással járó eseteket nem Gilbert-szindromaként írták le (Sagild és mtsai, 1962, Herman és mtsai, 1964).

Anyagunkban — gyakran még az olyan esetekben is, ahol a fénymikroszkopos kép nem is utalt pigment felhalmozódásra, elektronmikroszkoposan lipofuscin granulumok jelentős felszaporodását észleltük, különösen a peribiliaris régióban (2. ábra). Barth és mtsai (1971) Gilbert-szindromás eseteik túlnyomó többségében jelentős pigment felhalmozódásról számoltak be, és granulumokat komplex módszerrel jellemezték, és azokat lipofuscinnak minősítették.

A konstitucionális nem hemolitikus hiperbilirubinémiák különböző formáiban észlelhető pigment granulum féleségek jellemvonásainak részletesebb megbeszélésével a Dubin—Johnson-szindroma ismertetése során foglalkozunk.

Hangsúlyoznunk kell, hogy az észlelt ultrastrukturális elváltozások egyike sem specifikus, s a különböző organellumokat érintő alterációk társulása révén kialakult kép sem patognomikus. Az észlelt finomszerkezeti elváltozások egyike sem olyan, mely egyértelműen rávilágítana és segítene eldönteni, hogy a szindroma patomechanizmusát illetően meglevő nézetek melyike a helyes. Az észlelt ultrastrukturális elváltozások között ugyanis találhatók a patomechanizmusra vonatkozó mindegyik elképzeléssel összhangban álló alterációk. A vasculáris pólus elváltozásai lehetnek a májsejt defektív bilirubin felvételével kapcsolatosak (Simon és Varonier, 1963, Magnenat és Minio—Paluello, 1967, Gautier és

mtsai, 1968, Schaff és mtsai, 1969), míg az endoplazmás retikulumot és poliszoma állományt érintő elváltozások magyarázhatják a glycuroniltranszferáz in vitro észlelt csökkent aktivitását és a bilirubin glucuronsavas konjugációjának zavarát, ill. elégtelenségét.

Dubin—Johnson-szindroma

A konstitucionális nem hemolitikus icterusok konjugált hiperbilirubinémia által jellemzett csoportjának egyik legérdekesebb formája a *Dubin—Johnson*-szindroma (Dubin és Johnson, 1954, Sprinz és Nelson, 1954), mely minden etnikai csoportban és mindkét nemben előfordul. Autoszomális recesszív öröklődésű, s olykor familiárisan is előfordul. Jellemző vonása a máj kiválasztó tevékenységének meglehetősen szelektív zavara következtében kialakuló enyhe predominánsan konjugált hiperbilirubinémia. A májban aranybarna színű pigment rögök nagy tömegben halmozódnak fel, ezért a máj színe fekete. A bilirubin képződése, májsejtekbe való felvétele, transzportja és konjugációja zavartalan. A csökkent kiválasztás miatt az epefesték részben retinealódik a májsejtekben, részben a konjugált epefesték regurgitál a vérbe és icterust okoz, s minthogy konjugált bilirubinról van szó, az a vizeletben is megjelenik. Az icterustól eltekintve az érintett egyének tünetmentesek, hepatosplenomegalia is ritkán alakul ki. Az icterust enyhe interkurrens betegségek, gyógyszerszedés (pl. orális kontraceptivek) s terhesség súlyosbíthatják. A szérumban az epesavszint normális. A májműködés, ill. károsodás kimutatására szolgáló laboratóriumi vizsgáló eljárások túlnyomó többségével is normális leleteket kapunk. A máj kiválasztó tevékenységének zavarát jelzi, hogy a BSP egyszeri intravénás bevitele esetén a plazma BSP szintje 90 perccel a bevitel után magasabb, mint a 45. perces érték, melyet a konjugált BSP-nek a májból a keringésbe való refluxával magyaráznak. A BSP konstans i. v. infúziója mellett végzett mérések alapján kiderült, hogy e szindromában a BSP maximális hepatikus szekretoros rátája (Tm) virtuálisan zéró, míg a BSP relatív hepatikus raktározási képessége normális.

A másik diagnosztikus értékű abnormalitás a vizelet koproporfirin kiválasztásban mutatkozik. A teljes vizelet koproporfirin kiválasztás normális, de Dubin—Johnson-szindromás egyénekben a kiválasztott koproporfirin 80%-át az I. izomér alkotja, normális egyénekben pedig a III. izomér (Berk és mtsai, 1975).

A Dubin—Johnson-szindroma egyéb súlyosabb rendellenességektől, mindenekelőtt a krónikus hepatitistől és obstruktív sárgaságtól való elkülönítésében előbbi laboratóriumi módszerek mellett a májból nyert biopsziás anyag szövettani vizsgálata segít.

A szindroma tulajdonképpen már a tűbiopsziával nyert májszövet makroszkópos megtekintése alapján is elég biztonsággal diagnosztizálható,

mivel az feltűnően fekete. Szövettani vizsgálat során pedig durva diszperzitású, aranybarna pigment szemcsék figyelhetők meg a májsejtekben, melyek a festetlen natív metszetekben is jól láthatók. A pigment szemcsék felhalmozódása legkifejezettebb a centrolobuláris zónában. A máj szerkezete egyébként ép, olykor a periportális kötőszövet mérsékelt felszaporodása figyelhető meg kifejezettebb lobos reakció nélkül. A sajátos pigment rögök természetének pontosabb meghatározására, a májsejtekben előforduló egyéb pigmentféleségektől való eldifferenciálására a hisztokémiai eljárások egész sorát alkalmazzák (Barth és mtsai, 1971), és nagy szerep jut abban a különböző elektronmikroszkopos eljárásoknak is (Gautier és mtsai, 1968, Pages és Baldet, 1969, Barth és mtsai, 1971, Callard és mtsai, 1971).

Dubin—Johnson-szindromában a májat elektronmikroszkoposan számosan (Wegmann és mtsai, 1960, Kobayashi, 1962, Tanikawa, 1963, Ichida és Funahashi, 1964, Cuppo és mtsai, 1964, Toker és Trevino, 1965, Barone, 1966, Cussac és mtsai, 1966, Corcos és mtsai, 1967, Muscatello és mtsai, 1967, Sáfrány és Lapis, 1967, Tanikawa, 1968, Pages és Baldet, 1969, Callard és mtsai, 1971, Cotutiu és mtsai, 1971) tanulmányozták.

A nagy számban előforduló sajátos pigment granulákon kívül a májsejtek organellumainak szintjén enyhe és nem állandóan előforduló elváltozások észlelhetők. A durva felszínű endoplazmás retikulum mennyiségének csökkenését (Sáfrány és Lapis, 1967), fragmentációját (Ichida és Funahashi, 1964, Muscatello és mtsai, 1967), vakuolizációját (Pages és Baldet, 1969) írták le a sima felszínű endoplazmás retikulum felszaporodásával, vesikuláris átalakulásával (Tanikawa, 1963, Sáfrány és Lapis, 1967, Tanikawa, 1968). Mások szerint (Minio és mtsai, 1966/b., Minio—Paluello és mtsai, 1968) viszont az endoplazmás retikulum normálisnak látszik. Eltérő leletek találhatók az irodalomban a mitokondrium alterációkat illetően is. Tanikawa (1968) szerint a mitokondriumok általában normális megjelenésűek. Pages és Baldet (1969) a mitokondriumok duzzanatát, a kriszták elmosódottságát észlelték, de kiemelik, hogy a Rotor-szindromától eltérően bennük parakrisztalloid zárványok jelenlétét sohasem észlelték. Magunk (Sáfrány és Lapis, 1967) a kriszták orientációjának megváltozását, feltöredezését, sőt olykor zárványok kialakulását is észleltük. Muscatello és mtsai (1967) viszont hangsúlyozzák, hogy bár esetükben kis számban óriás mitokondriumok kialakulását is megfigyelték, de a mitokondriumok mások (Minio és mtsai, 1965, 1965/a.) által leírt fibrilláris, vakuoláris degenerációját nem észlelték, s azok többsége normális megjelenésű volt.

A Dubin—Johnson-szindroma patomechanizmusa vonatkozásában fontos annak regisztrálása, hogy eltérő leletek találhatók a májsejtek membránjára vonatkozóan is. Egyesek (Ganter és mtsai, 1965, Magnenat és Minio—Paluello, 1967, Cotutiu és mtsai, 1971) a vascularis pólus károsodását is leírták és annak a konjugált bilirubin májsejtekből vérbe való regurgitációjában is szerepet tulajdonítanak. Mások szerint a hepatociták membránja (Ichida és Funahashi, 1964,

Muscatello és mtsai, 1967, Pages és Baldet, 1969) Dubin—Johnson-szindromában ritkán és kevéssé alteráltan fordul elő. Muscatello és mtsai szerint (1967) nemcsak a sejthártyán, hanem még az epecanaliculusok részéről sem észlelhető ultrastrukturális elváltozás. A vascularis póluson összhangban Pages és Baldet (1969) megfigyeléseivel, rendszerint mi sem (Sáfrány és Lapis, 1967) észleltünk elváltozásokat.

A biliaris pólus és az epeszekrécióban érintett egyéb organellumok e szindromában esetleges patogenetikai jelentőségük miatt külön figyelmet érdemelnek. Egyesek (Ganter és mtsai, 1965, Toker és Trevino, 1965, Muscatello és mtsai, 1967) az epecanaliculusok részéről semmiféle elváltozást nem észleltek. Tanikawa (1963, 1968) szerint viszont az epecanaliculusoknak mintegy egyharmada kifejezett elváltozásokat szenved. Részint a mikrovillusok eltűntek, vagy megrövidültek, másrészt az enyhén tágult canaliculusok lumenében olykor denz anyag halmozódott fel. Kobayashi (1962) szintén hasonló elváltozásokat észlelt. A mikrovillusok alterációit mások is (Pages és Baldet, 1969, Cotutiu és mtsai, 1971) megfigyelték, ugyanakkor azonban Cototiu és mtsai (1971) a mikrobolyhokat érintő finomszerkezeti változások mellett a biliaris póluson az ATPáz aktivitás megőrzött voltáról számolnak be. Magunk (Sáfrány és Lapis, 1967) szintén megfigyeltük két Dubin—Johnson-szindromás esetünkben az epecanaliculusok tágulatát, mikrobolyhokat azonban többnyire az ép májszövetben megszokott számban észleltünk, s denz anyag depozitumokat sem találtunk a tágult epecanaliculusokban. A Golgi komplex viselkedését illetően sem egységesek a leletek. Saját (Sáfrány és Lapis, 1967), és több más szerző (Muscatello és mtsai, 1967, Tanikawa, 1968) megfigyelése szerint nincs szignifikáns elváltozás a Golgi zóna részéről, mások viszont annak enyhébb (Barone, 1966) vagy jelentősebb (Pages és Baldet, 1969) tágulatáról számoltak be.

A májsejtek egy részének citoplazmájában az epecapillarisok közelében kisebb-nagyobb, olykor üresnek tűnő, máskor filamentozus denz anyagot tartalmazó vakuolákat is leírtak (Tanikawa, 1963, Barone, 1966), és mi magunk is megfigyeltünk a pigment rögök között. Ezeket a cholestasis ultrastrukturalis jeleként szokták elkönyvelni a májsejtekben.

Elektronmikroszkopos vizsgálat során különböző alakú és nagyságú elektrondenz pigmentrögök találhatók nagyszámban a májsejtek cytoplasmájában, szabálytalan eloszlásban, de zömében mégis az epecanaliculusok szomszédságában (4. ábra). A pigment rögök kerekded, ovális vagy polygonalis alakúak, körülöttük rendszerint egyszeres sima felszínű, határoló membrán mutatható ki. A pigmentrögök mérete 0,5—2,5 mikron között váltakozik (17—18. ábra).

A pigment természetét illetően egyszerű elektronmikroszkopos vizsgálatok alapján nem sok mondható, de az megállapítható, és azt számos szerző hangsúlyozta is (Ichida és Funahashi, 1964, Barone, 1966, Cussac és mtsai,

1966, Minio és mtsai, 1966/a., Muscatello és mtsai, 1967, Callard és mtsai, 1971, Gautier és mtsai, 1968), hogy a granulumok komplex és heterogén megjelenésűek. A pigmentrögök két morfológiailag jól jellemzett alkotórészből épülnek fel. Az egyik komponens nagy elektrondenzitású granulofilamentozus — valószínűleg protein természetű — anyagból áll, mely kisebb-nagyobb masszákat alkot. Dubin—Johnson-szindroma esetében ez a komponens képezi a granulumok fő tömegét. A granulumok másik komponensét csekély elektrondenzitású, csaknem elektronáteresztő globuláris küllemű, a denz komponenstől határoló membrán hiányában is szinte vezikulaszerűen élesen elkülönülő, valószínűleg lipid természetű (Gautier és mtsai, 1968) anyag képezi. Utóbbi komponens a közönséges lipofuscin granulumok szokványos zsírtartalmú komponenséhez hasonló (13., 14. ábra). Dubin—Johnson-szindromában a pigment granulumok komplex és heterogen volta e két komponens változó keveredési arányából adódik, bár azokban mindig a denz granulofilamentozus komponensek vannak túlsúlyban. Eléggé általánosan elfogadott nézet szerint a többi pigment tárolással járó konstitucionális, nem hemolitikus hiperbilirubinémiák esetében is a pigment granulumok eltérő, e két morfológiailag hasonló alkotórészből tevődnek össze, s a granulumok különböző szindromákban észlelt eltérő jellege az összetevők változó keveredési arányától függ (Gautier és mtsai, 1968).

Szemben a Dubin—Johnson-szindromával, ahol a sajátos pigmentrögökben, ha változó mértékben is, de mindig a denz granulofilamentosus komponens van túlsúlyban, Gilbert-szindromában a granulumok csak kismennyiségű denz granulofilamentozus anyagot tartalmaznak, mely mintegy keretszerűen körülveszi a fő komponenst alkotó lipid globulusokat (Gautier és mtsai, 1968) (15. ábra). A később ismertetendő Rotor-szindromában (Rotor és mtsai, 1948) a pigment granulumok kb. azonos arányban tartalmazzák a két komponenst (16. ábra).

A konstitutionális nem hemolitikus hiperbilirubinémiákban, de különösen a Dubin—Johnson-szindromában a pigment természete még vita tárgya és a leletek különböző interpretálásával találkozunk. Szerzők egy részének (Ehrlich és mtsai, 1960, Herman és mtsai, 1964, Patrassi és mtsai, 1965, Cussac és mtsai, 1966) véleménye szerint a lipofuscinhoz közelálló lipopigmentről van szó, míg mások — elsősorban Caroli és mtsai (1965); (Bynum, 1957, Cattan és mtsai, 1960, Wegmann és mtsai, 1960, Corcos és mtsai, 1967, Cornelius és mtsai, 1968) — nézete az, hogy a pigment az adrenokromnak, valószínűleg a melanin egy variánsának, melaninhoz közel álló anyagnak, abnormális melaninnak (Muscatello és mtsai, 1967, Kermarec és mtsai, 1972) felelne meg. A harmadik nézet szerint pedig a pigment hol a melaninhoz, hol a lipofuscinhoz viselkedik hasonlóan, de összetétele lényegében sohasem pontosan azonos (Pages és Baldet, 1969, Callard és mtsai, 1971), hanem esetenként, sőt kismértékben granulumról granulumra eltérő. A pigment ugyanis az adott kórformával kapcsolatosan megzavart sejtmetabolizmus produktuma és a granulumok összetétele

az enzim deficit súlyosságától függő variációkat mutat (Pages és Baldet, 1969, Callard és mtsai, 1971).

Ilyen körülmények között különös érdeklődésre tarthatnak számot Callard és mtsai-nak (1971) vizsgálatai, akik modern módszerekkel (elektroncitokémiai, Casting-féle elektronikus mikroszonda és mikrodiffrakció módszerekkel) végzett analízissel próbáltak közelebb jutni Dubin—Johnson-szindromában a pigment természetének tisztázásához. E vizsgálatokban megerősítették a pigment klasszikus hisztokémiai módszerekkel már kimutatott redukáló természetét, perjódsavas oxidáció után közelebbről meghatározták a pigmentben levő aldehid csoportok természetét. Megállapították, hogy a pigment rögökben polisaccharid vagy glikoprotein frakció van jelen, talán mint a lizoszomális mátrix elemei. A pigment depozitumok szélén foszfolipidek küllemét mutató lamelláris struktúrákat észleltek. Hangsúlyozták, hogy az a körülmény, hogy a pigment részecskék kontrasztozás nélkül is elég elektrondenzek, a pigmentet alkotó anyagok erős polimerizáltságára utal. A Casting-féle mikroszonda és az elektrondiffrakciós eljárással pedig megbízhatóan kimutatták, hogy a pigment granulumok nem tartalmaznak nehéz fémeket, sem pedig vasat, amint azt már a hisztokémiai és klasszikus elektronmikroszkopos vizsgálatok is jelezték, bár néhány szerző (Ehrlich és mtsai, 1960, Essner és Novikoff 1960, Minio és mtsai, 1966/a.) ultrastrukturális vizsgálatok alapján a pigment „ferritin-szerű" voltát észlelte. Kimutatták (Callard és mtsai, 1971) továbbá, hogy a pigment granulumok bizonyos mennyiségű ként tartalmaznak, továbbá, hogy nincs bennük semmiféle kristályos struktúra. E vizsgálatok végeredményben megerősítették a pigment komplex és heterogén természetét és szerzőket arra az — általunk is osztott — meggyőződésre vezette, hogy a Dubin—Johnson-szindromában észlelt pigment morfológiai és kémiai struktúrája esetről esetre változik, a pigment lizoszomális eredetétől függően.

Míg a pigment rögök természetére és összetételére vonatkozóan tehát ma is ilyen eltérő nézetekkel találkozunk, abban viszont a legtöbb szerző véleménye egyezik, hogy a pigment a lizoszomákban halmozódik fel (Essner és Novikoff, 1960, Arias, 1961, Ichida és Funahashi, 1964, Caroli és mtsai, 1965, Muscatello és mtsai, 1967, Sáfrány és Lapis, 1967, Gautier és mtsai, 1968, Pages és Baldet, 1969), melyet a savanyú foszfatáz aktivitás és a pigment granulumok gyakorlatilag azonos intracellularis eloszlása is alátámasztott (Essner és Novikoff, 1960, Sáfrány és Lapis, 1967). Ily módon a pigment granulumok mitokondriális eredetére vonatkozó szórványos nézetek talajukat vesztették.

Az elektronmikroszkopos vizsgálatok nem sokban vitték előre a Dubin—Johnson-szindroma patomechanizmusának tisztázását. A klinikai, laboratóriumi vizsgálatok alapján ismert, hogy a konjugált bilirubin szekréciójának zavaráról van szó. Egyesek lehetségesnek tartják, hogy az epe kiválasztászavara az epecanaliculusok ismertetett elválasztásaival kapcsolatos (Tanikawa, 1968), mások viszont úgy vélik, hogy az epecanaliculusok enyhe és nem is konstans

módon megfigyelhető alterációi éppúgy másodlagos elváltozások, mint a májsejtek többi organellumát érintő alterációk. E nézet szerint ezen elváltozások az epeexkréció zavara miatt a sejtanyagcserében létrejövő különböző megváltozott metabolikus reakciók következtében alakulnának ki. Az epeszekréciós zavarért felelős elsődleges lézió tehát Dubin—Johnson-szindromában nem a sejtmembrán szintjén lenne (Muscatello mtsai, 1967), hanem az epeszekrécióval kapcsolatos májsejten belüli eseménysornak közvetlenül a konjugációt követő lépései lennének azok, amelyek zavart szenvednek e szindromában (Toker és Trevino, 1965).

A peribiliárisan kialakult kis denzitású vakuolákat az intercelluláris cholestasis jeleként értékelik és e sejtekben felhalmozódó konjugált bilirubin vérbe való regurgitációjával (Magnenat és Minio—Paluello, 1967, Gautier és mtsai, 1968) magyarázzák a szindromára jellemző konjugált hiperbilirubinémia kialakulását.

Rotor-szindroma

A Rotor-szindroma (Rotor és mtsai, 1948) a Dubin—Johnson-szindromához sok tekintetben hasonló benignus rendellenesség, melyet egyébként normális májfunkciós próbák mellett krónikus, nem hemolitikus, főként konjugált hiperbilirubinémia jellemez. A Dubin—Johnson-szindrománál ritkábban fordul elő, de hozzá hasonlóan minden etnikai csoportban és mindkét nemben előfordul.

A máj nem abnormálisan pigmentált, makroszkopos és fénymikroszkopos vizsgálattal is normálisnak látszik. Mikroszkopos vizsgálat során azonban, legalábbis az esetek egy részében, a májsejtekben jelentős pigment felhalmozódás figyelhető meg (Dubin, 1962). BSP i.v. bevitele esetén a plazmaszint másodlagos emelkedése (90'-nél) nem mutatkozik.

Rotor-szindromás esetet számosan tanulmányoztak elektronmikroszkoposan (Ueda, 1963, Almási és mtsai, 1965, Ascione és Cuccurullo, 1965, Minio és mtsai, 1965/b., Patrassi és mtsai, 1965, De Brito és Da Silva, 1966, Minio és mtsai, 1966/a., Molbert és Marx, 1966, Minio és Gautier, 1967, Tanikawa, 1968, Okolicsányi és mtsai, 1969, Pages és Baldet, 1969), de az összes tanulmányozott eset száma mégis kevés, mert mindenkinek csak egy-két eset tanulmányozására volt módja. Többek között ez is egyik oka lehet, hogy a megfigyelések fontos ultrastrukturális vonásokat, mint pigment jelenléte a máj sejtekben, mitokondriumok, perisinusoidalis tér alterációi, a vascularis pólus, ill. sinusoidális fal fragilitását illetően sem egybehangzóak.

Pigment szemcsék változó számban szerzők többsége és saját megfigyeléseink szerint is jelen vannak a hepatocitákban (5. ábra). Az elektronáteresztő globuláris lipid és a denz granulofilamentozus valószínű protein természetű

komponens, mintegy 50—50 % arányban vesznek részt a granulumok felépítésében (16. ábra) (Gautier és mtsai, 1968, Okolicsányi és mtsai, 1969).

Egyesek (Okolicsányi és mtsai, 1969) szerint gyakran ferritin halmazokkal társultan fordulnak elő.

A mitokodriumok mérete, alakja és denzitása rendkívül változatos (Okolicsányi és mtsai, 1969), olykor mag nagyságrendű rendkívül dús kriszta állománnyal rendelkező óriás mitokondriumok is kialakulnak (Tanikawa, 1968). Mások viszont (Ahlers és mtsai, 1967, Okolicsányi és mtsai, 1969) normál mitokondriumok jelenlétéről számoltak be. Az intramitokondrialis parakrisztalloid inklúziók előfordulására vonatkozóan szintén ellentétes nézeteket találunk. Úgy látszik azonban, hogy ez valóban esetenként változó, mert míg Minio és Gautier (1967) a mitokondriumok 45 %-ában észlelték az inklúziók jelenlétét, lényegében ugyanazon iskola egy másik esetben egyetlen mitokondriumban sem talált inklúziókat (Okolicsányi és mtsai, 1969). Magunk a mitokondriális parakrisztalloidok előfordulását rendszeresen észleltük, de korántsem oly nagy gyakorisággal, mint Gilbert-szindroma vagy Dubin-Johnson-szindromás eseteinkben. Leírták az intercellularis tér kiszélesedését (Molbert és Marx, 1966, Tanikawa, 1968, Okolicsányi és mtsai, 1969, Pages és Baldet, 1969), egyesek nagyszámú mikrovillus kialakulásáról, sőt kollagén fibrillák felszaporodásáról is beszámolnak (Tanikawa, 1968), de nem tartják azt jellegzetes sajátságnak (Lapis, 1966, Okolicsányi és mtsai, 1969). A perisinusoidalis és intercellularis tér tágulatát és a sejtfelszínen mikrovillusok kialakulását az esetek egy részében a betegek fiatal korával hozták összefüggésbe. Néhány esetben (Minio és mtsai, 1965/d., Minio és mtsai, 1966/a., Minio és Gautier, 1967) a vascularis póluson a mikrovillusok számának csökkenését, a membrán rupturáját s a Kupffer-sejtek vacuolizációját (Pages és Baldet, 1969) észlelték, újabb közlésekben (Lapis, 1966., Tanikawa, 1968, Okolicsányi és mtsai, 1969) viszont ilyen alterációkról nem számoltak be, csupán a Disse tér tágulatáról, s benne kollagén fibrillák felszaporodásáról tesznek említést. Tanikawa (1968) az epecanaliculusok dilatációját, a biliaris póluson a microvillusok számának csökkenését figyelte meg, mely szerinte az epekiválasztás zavarát jelezheti. Magunk az epe canaliculusok ilyen alterációit nem észleltük esetünkben, és mások sem számolnak be arról (Ueda, 1963, Ascione és Cuccurullo, 1965, Minio és mtsai, 1965/b., De Brito és Da Silva, 1966, Minio és mtsai, 1966/a., Molbert és Marx, 1966, Minio és Gautier, 1967, Okolicsányi és mtsai, 1969, Pages és Baldet, 1969). Az epe exkrécióban érintett organellumok közül a Golgi zóna részéről észleltünk elváltozást, mely annak hipertrófiájában, a vacuoláris komponensek túlsúlyra jutásában nyilvánult meg. Irodalmi adatok (Ueda, 1963, Ascione és Cuccurullo, 1965, Minio és mtsai, 1965/b., De Brito és Da Silva, 1966, Minio és mtsai, 1966/a., Minio és Gautier, 1967, Okolicsányi és mtsai, 1969, Pages és Baldet, 1969) és saját (Lapis, 1966) tapasztalataink szerint ultrastrukturális szinten a Rotor-szindromában a pigment granulumok

felszaporodása tekinthető perzisztens elváltozásnak. A pigment granulumok mennyisége és morfológiája azonban variábilis, és ez nem teszi lehetővé e szindroma, egyéb pigment szaporulattal jellemzett hiperbilirubinémiáktól való elkülönítését. Véleményünk szerint a mitokondriumok alterációja is elég állandó jelenség, de azok sokfélék, így a differenciál diagnosztikában megint csak nem hasznosíthatók.

A Rotor-szindroma patomechanizmusa ma sem tisztázott. Tanikawa (1968) szerint az ultrastrukturális elváltozások eltérnek a Dubin—Johnson-szindromában észlelt elváltozásoktól, így szerinte egyértelmű, hogy a Rotor- és Dubin—Johnson-szindroma elektronmikroszkoposan különbözik. Patrassi és mtsai (1965) viszont tagadnak bármely különbséget ezen betegségek között. Ascione és Cuccurullo, (1965) pedig azt is feltételezik, hogy a Rotor-szindroma a Dubin—Johnson-szindroma első stádiuma, és később át is mehet az utóbbiba. Véleményünk szerint az észlelt ultrastrukturális elváltozások alapján nem lehet érdemben a két szindróma patomechanizmusa azonos vagy eltérő voltának kérdésében állást foglalni. Az újabb módszerekkel nyert s a bevezetőben röviden ismertetett laboratóriumi leletek (Berk és mtsai, 1975) mindenesetre a patomechanizmus különbözőségére utalnak. A különböző hiperbilirubinémiák ultrastrukturális vonásaiban mutatkozó különbségek feltárását nagymértékben elősegítené a konjugált és nem konjugált bilirubin szubcelluláris szinten történő kimutatására kidolgozott (Raia, 1967, Desmet és mtsai, 1968) eljárások és olyan komplex vizsgáló módszerek kiterjedtebb alkalmazása, mint amilyet Callard és mtsai (1971) használtak a Dubin—Johnson-szindromában felhalmozódott pigment jellemzésére.

Összefoglalás

Szerzők összehasonlítva tárgyalják a máj ultrastrukturális elváltozásait konstitucionális nem hemolitikus hiperbilirubinémiákban. Véleményük szerint a Gilbert-, Dubin—Johnson- és Rotor-szindromában talált pigment morfológiai különbsége a granulofilamentozus ls lipid természetű globuláris komponens eltérő keveredési arányából adódik. Számos, nem specifikus ultrastrukturális elváltozás (endoplazmás retikulum, mitokondriumok, vascularis pólus károsodása stb.) észlelhető ezen kórképekben, azonban ezek patogenetikai szerepe kétséges.

IRODALOMJEGYZÉK

Ahlers, I., Scheida, N. és *Szabó, T.:* Acta Hepato-Splenol. **14,** 51 (1967).
Almási, Zs., Filep, V., Gündisch, M. és *Kasza, L.:* Revue Roum. Med. Interne, **2,** 249 (1965).
Anderson, W. A. D.: Pathology, Vol. 2. pp. 918. C. V. Mosby Co., Saint Louis, (1966).
Arias, I. M.: Am. J. Med. **31,** 510 (1961).
Arias, I. M.: Br. Med. J. **2,** 702 (1968).
Ascione, A. és *Cuccurullo, L.:* Riv. Anat. Pathol. Oncol. **27,** 277 (1965).
Barone, P.: Virchows Arch. Path. Physiol. **341,** 43 (1966).

Barone, P., Inferrera, C. és *Tigano, F.:* Archo. Ital. Anat. Istol. Patol. **39,** 431 (1965).
Barth, R. F., Grimley, P. M., Bark, P. D., Bloomer, J. R. és *Howe, R. B.:* Archs. Path. **91,** 41 (1971).
Berk, P. D., Wolkoff, A. W., Berlin, N. I: Med. Clins. N. Am. **59,** 803 (1975).
Butt, H. R., Anderson, V. E., Foulk, W. T., Baggenstoss, A. H., Schönfield, L. J. és *Dickson, E. R.* Gastroenterology, **51,** 619 (1966).
Bynum, W. T.: Gastroenterology, **33,** 97 (1957).
Callard, P., Ganter, P., Kalifat, S. R., Dupuy-Coin, A. M. és *Delarue, J.:* Virchows Arch. Abt. B Zellpath. **7,** 63 (1971).
Caroli, J., Julien, C. és *Pousset, J. L.:* Rev. Mal. Foie, **3,** 133 (1965).
Cattan, C., Acar, J., Rangier, M., Joubeau, A. és *Habib, R.:* Sem. Hop. Paris, **36,** 3019 (1960).
Coppo, M., Agnolucci, M. T. és *Muscatello, U.:* Boll. Soc. Med.-Chir. Modena, **64,** 1 (1964).
Corcos, V., Lageron, A., Wegmann, R. és *Caroli, J.:* Revue Int. Hépat. **17,** 129 (1967).
Cornelius, C. E., Osburn, B. I., Gronwall, R. R. és *Cardinet, G. H.:* Am. J. Dig. Dis. **13,** 1072 (1968).
Cotutiu, C., Moraru, I. és *Ionescu, V.:* Acta Morph. Acad. Sci. Hung. **19,** 313 (1971).
Curry, J. J., Greenwalt, T. J. és *Tut, R. J.:* New Engl. J. Med. **226,** 909 (1942).
Cussac, I., Porte, A., Mandard, J.—C., Voegtlin, R., Cabillet, J. P. és *Toujas, L.:* Annls. Anat. Path. **11,** 37 (1966).
Crigler, J. F. és *Najjar, V. A.:* Pediatrics, Springfield, **10,** 169 (1952).
De Brito, T. és Da Silva, L. C.: Gastroenterologia, **106,** 325 (1966).
Desmet, V. J., Bullens, A. M., De Groote, J. és *Heirwegh, K. P. M.:* J. Histochem. Cytochem. **16,** 419 (1968).
Dubin, I. N.: Arch. Intern. Med. **110,** 823 (1962).
Dubin, I. N. és *Johnson, F. B.:* Am. J. Med. **33,** 155 (1954).
Ehrlich, J. C., Novikoff, A. B., Platt, R. és *Essner, E.:* Bull. N. Y. Acad. Med. **36,** 488 (1960).
Essner, E. és *Novikoff, A. B.:* J. Ultrastruct. Res. **3,** 374 (1960).
Feldmann, G., Oudéa, P., Domart-Oudéa, M.—C., Molas, G. és *Fauvert, R.:* Path. Biol. **16,** 943 (1968).
Foulk, W. T., Butt, H. R., Owen, C. A. Jr., Whitcomb, F. F. Jr. és *Mason, H. J.:* Medicine, Baltimore, **38,** 25 (1959),
Ganter, P., Simard, C., Perrau, H. és *Joubeau, F.:* Annls. Anat. Path. **8,** 541 (1965).
Gautier, A., Okolicsányi, L., Gardiol, D.: In: Liver reactivity, Internat. Symp. Eds. S. Sherlock, N. Dioguardi, Carlo Erba Foundation, Milan, pp. 17—42. (1968).
Gilbert, A. és *Lereboullet, P.:* Gaz. Hebd. Méd. Chir. **49,** 889 (1902).
Herman, J. D., Cooper, E. B., Takeuchi, A. és Sprinz, H.: Am. J. Dig. Dis. **9,** 160 (1964).
Ichida, F. és *Funahashi, H.:* Acta hepato-splenol. **11,** 332 (1964).
Kermarec, J., Duplay, H. és *Daniel, R.:* Annls. Biol. Clin. **30,** 567 (1972).
Knoke, M., Gürtler, H. és *Markert,* I. Z. Ges. Inn. Med. **22,** Suppl. 91 (1967).
Kobayashi, T.: Jap. J. Gastroent. **59,** 209 (1962).
Lapis, K.: Orvosképzés, **41,** Suppl. 1. 58 (1966)
László, B.: In: Ritka kórképek. Ed. P. Braun, pp. 11—26. Medicina Verl., Budapest, (1964).
Magnenat, P. és Minio—Paluello, F.: Schweiz. Med. Wschr. **97,** 1102 (1967).
McMahon, F. G.: Gastroenterology, **32,** 325 (1957).
Minio, F., Alberti, G., Gardiol, D., Gautier, A., Magnenat, P. és *Torsoli, A.:* Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat. **66,** 496 (1965/b).
Minio, F. és *Gautier, A.:* Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat. **78,** 267 (1967).
Minio, F., Gautier, A. és *Magnenat, P.:* Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat. **72,** 168 (1966/a).
Minio, F., Gautier, A., Torsoli, A., Gardiol, D. és *Magnenat, P.:* In: Acta-Tertü Conventus Medicinae Internae Hungarici Gastroenterologia, Officina Academiae, Budapest, 399—405. (Ed.: I. Magyar) (1965)
Minio, F., Magnenat, P., Gaediol, D. és *Gautier, A.:* Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat. **65,** 47 (1965/a.)
Minio, F., Magnenat, P. és *Gautier, A.,:* Revue Int. Hépat. **16,** 323 (1966/b.)
Minio—Paluello, F., Gautier, A. és *Magnenat, P.:* Acta Hepato—Splenol. **15,** 65— (1968).
Molbert, E. és *Marx, R.:* Acta Hepato-Splenol. **13,** 160 (1966).
Muscatello, U., Mussini, I. és *Agnolucci, M. T.:* Acta Hepato-Splenol. **14,** 162 (1967).
Novikoff, A. B. és *Essner, E.:* Am. J. Med. **29,** 102 (1960).
Okolicsányi, L., Naccarato, R., Polin, R., Fagiolo, U., Rizzo, A., Farini, R. és *Gautier, A.:* In: Atti del VII. Congresso Italiano di Microscopia Elettronica Modena, 28—30. Settembre p. 70—72. (1969).
Okolicsányi, L., Torrado, A., Nussle, Gardiol, D. és *Gautier, A.:* Revue Int. Hépat. **19,** 393 (1969).
Oudéa, P., Domart—Oudéa, M. C. és *Fauvert, R.:* Rév. Fr. Étud. Clin. Biol. **12,** 641 (1967).
Pages, A. és *Baldet, P.:* Annls. Anat. Path. **14,** 77 (1969).

Patrassi, G., De Sandre, G. és *Leonardi, P.:* Revue Int. Hépat. **15,** 481 (1965).
Powell, L. W., Hemingway, E., Billing, B. H. és *Sherlock, S.:* New Engl. J. Med. **277,** 1108 (1967).
Raia, S.: In: Bouchier I. A. D., Billing, B. H., Bilirubin Metabolism, Blackwell scient. public, E., Oxford p. 285—289. (1967).
Rotor, A. B., Manahan, L. és *Florentin, A.:* Acta Med. Philipp. **5,** 37 (1948).
Sáfrány, L. és *Lapis, K.:* Magy. Belorv. Archvm. **20,** 283 (1967).
Sagild, U., Dalagaard, O. Z. és *Tygstrup, N.:* Ann. Intern. Med. **56,** 308 (1962).
Sasaki, H. és *Ichida, F.:* A. Rep. Inst. Virus Res. Kyoto Univ. **4,** 172 (1961).
Satler, J.: Acta Hepato-Splenol. **13,** 38 (1966).
Schaff, Zs., Lapis, K. és André, J.: J. Microsc. **20,** 259 (1974a.)
Schaff, Zs., Lapis, K. és *André, J.:* J. Microsc. **20,** 265 (1974/b.)
Schaff, Zs., Lapis, K. és *Sáfrány, L.:* Beitr. Path. Anat. **140,** 54 (1969).
Schmid, R.: In Stanbury, J. B., Wyngaarden, J. B., Fredrickson, D. S., The metabolic basis of inherited disease. Mc Graw—Hill Book Co. Inc. New York pp. 1141—1180. Chapter 46. (1972).
Simon, G. és *Varonier, H. S.:* Schweiz. Med. Wschr. **93,** 459 (1963).
Smith, P. M., Middleton, J. E. és *Williams, R.:* Gut, **8,** 449 (1967).
Sprinz, H. és *Nelson, R. S.:* Ann. Intern. Med. **41,** 952 (1954).
Tanikawa, K.: Kurume Med. J. **12,** 86 (1963).
Tanikawa, K.: Ultrastructural Aspects of the Liver and its Disorders. Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York, Igaku Shoin Ltd. Tokyo, (1968).
Tanikawa, K. és *Emura, T.:* Kurume Med. J. **12,** 27 (1965).
Toker, C. és *Trevino, N.:* Archs. Path. **80,** 453 (1965).
Ueda, H.: Proc. 2nd World Congr. Gastroenterol., Munich, 1962. **3,** 138 (1963).
Wegmann, R., Rangier, M., Étévé, J., Charbonnier, A. és *Caroli, J.:* Sem. Hop. Paris, **36,** 1761 (1960).
Whelton, M. J., Krustev, L. P. és Billing, B. H.: Am. J. Med. **45,** 160 (1968).

Semmelweis Orvostudományi Egyetem Gyógyszertani Intézet, Budapest

A MITOKONDRIÁLIS MONOAMINOOXIDÁZ KÉT FŐ TÍPUSA (MAO-A ÉS MAO-B) ÉS SZELEKTÍV GÁTLÓIK

KNOLL JÓZSEF, az MTA levelező tagja

Közlésre érkezett: 1977. IV. 18.

Már 100 éves a Schmiedeberg 1877-es tanulmányában leírt felfedezés (Schmiedeberg, 1877), hogy a monoaminok a szervezetben dezaminálódnak. ő ismerte fel ugyanis, hogy a kutyáknak orálisan adott benzilmin benzoilglicinként (hippursav) választódik ki. 1881-ben szabad benzoesav jelenlétét is kimutatta a vizeletben (Schmiedeberg 1881). Schmiedeberg felfedezésének helytállóságát Minkowsky (Minkowsky 1883) megerősítette, sőt in vitro is bizonyította, kimutatva, hogy patkányszövetdarabok a benzilamin benzoesavvá alakulását katalizálják (Minkowsky 1883). Ewins és Laidlaw igazolták elsőként, 1910, ill. 1913-ban, hogy a tiramin, egy endogén fenilalkilamin (Ewins és Laidlaw 1910), és a triptamin, egy endogén indolalkilamin (Ewins és Laidlaw 1913) oxidative dezaminálódnak a májban. Ugyanezt demonstrálta feniletilaminra vonatkozóan Guggenheim és Löffler 1916-ban (Guggenheim és mtsai 1916).

Az ilyen típusú átalakulások katalízisének specifikus enzimjét Mary Hare fedezte fel, aki 1928-ban leírta a „tiraminoxidáz"-t, egy a májban levő, cianiddal nem gátolható új enzimrendszer jelenlétét (Hare 1928). Blaschko és mtsai 1937-ben írt, az adrenalin inaktiválásáról szóló fontos munkájukkal (Blaschko és mtsai 1937) előmozdították annak a koncepciónak fejlődését, hogy olyan enzimrendszer működik, amely sok amin analóg reakcióját katalizálja (Blaschko 1952). 1938-ban Zeller monoaminoxidáznak nevezte el azt az enzimcsoportot, mely a monoaminok oxidatív dezaminálásáért felelős (Zeller 1938).

A MAO lokalizációja és élettani funkciói

A MAO, mely különböző szervekben, szövetekben (neuronok, glia, máj, vese, szív, bél, tüdő, nyálmirigy, ivarmirigyek, simaizmok stb.) megtalálható, a mitokondriális külső membránhoz kötött (Schnaitman és mtsai 1967) és fontos szerepet játszik az exogén és endogén aminok inaktiválásában. A táplálékokban levő vérnyomásfokozó aminokat a bélszövet MAO inaktiválja, a véredényben levő MAO megvédi a szerveket a vérpályában keringő aminok toxikus hatásaitól, a szövetekben levők pedig részt vesznek azon mono-

aminok intracelluláris koncentráció-szabályozásában, amelyek az enzim szubsztrátjai (pl. feniletilamin, feniletanolamin, tiramin, noradrenalin, dopamin, oktopamin, szerotonin, triptamin, N-metilhisztamin stb.).

Az emlős vérplazmában található nem-mitokondriális MAO-k, mint a sperminoxidáz és a benzilaminoxidáz, funkcionális jelentősége még homályos: a kötőszöveti aminoxidázok a rugalmas és kollagén rostok keresztkötéseinek kialakulásában játszanak szerepet (Blaschko 1972).

Sok kísérleti adat bizonyítja azt az elképzelést, hogy a mitokondriális MAO élettani szerepet játszik a transzmitterek (noradrenalin, dopamin, szerotonin) biológiai inkativálásában. A szinaptoszómák magas MAO aktivitással rendelkeznek (De Lores Arnaiz és De Robertis 1962) és az enzim aktivitása lecsökken a különböző szervek denerválása után (Snyder és mtsai 1965, Klingman 1966, Goridis és Neff 1971). A MAO gátlása a noradrenalin, dopamin és szerotonin agyi szintjét egy új megnövekedett egyensúlyi állapotra hozza (Brodie és mtsai 1956, Spector és mtsai 1957) és a reszerpinnel kiürített biogén-amin raktárak újratöltődését segíti elő.

Nem-szelektív MAO-gátlók

1951-ben a tuberkulózis kezelésére sikerrel vezették be az izonikotinsavhidrazidot és izopropil származékát, az iproniazidot (Fox 1952). Az izoniaziddal ellentétben az iproniazid néhány betegen nem kívánatos nyugtalanságot váltott ki. 1952-ben Zeller és munkatársai kimutatták, hogy az iproniazid a MAO-t in vitro (Zeller és mtsai 1952) és in vivo (Zeller és Barsky 1952) gátolja, míg az izoniazid hatástalan. 1956-ban Crane az iproniazid „pszichiátriai mellékhatásait" analizálva arra a feltételezésre jutott, hogy az kedvező hatású lehet a depresszió kezelésében (Crane 1956). A vegyületet 1957-ben Kline „pszichostimuláns"-ként vezette be (Kline 1958). Sok hidrazid (izokarboxazid, nialamid, fenelzin stb.) és nem-hidrazid (tranilcipromin, pargilin stb.) MAO-bénítót munkáltak ki és vezettek be a terápiába (Zirkle és Kaiser 1964, Biel és mtsai 1964). Sajtok és egyéb tiraminban és /vagy más preszszoraminban (feniletilamin, triptamin, dioxifenilalanin) gazdag élelmiszerek fogyasztása azonban olyan súlyos, néha végzetes hipertenzív krízist váltott ki a nem-szelektív MAO-bénítókkal kezelt betegeken (Blackwell és mtsai 1967), hogy az erősen korlátozta felhasználásukat.

Szelektív MAO-gátlók. A mitokondriális MAO két fő típusának felfedezése

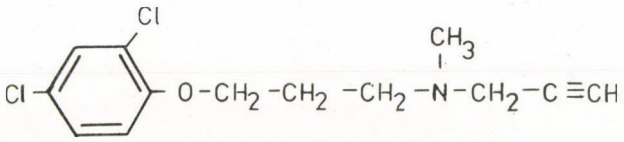
Több szerző reverzibilis gátlókkal (pl. harmala alkaloidok) dolgozva megfigyelte, hogy egy MAO-gátló néhány amin oxidációját erősebben gátolhatja, mint a többiét. A kutatásoknak erről a fázisáról jó összefoglalást ad Fuller (1972). A reverzibilis szubsztrát-specifikus gátlók közé tartozik egy

magyar kutatók által kimunkált vegyület, az AB-15 (Huszti és mtsai, 1969, Huszti, 1972).

A mitokondriális MAO két fő típusának létezéséről alkotott mai nézeteink kialakulásához azonban két nagyon hatásos és irreverzibilis MAO-gátló, a deprenil és klorgilin felfedezése vezetett el.

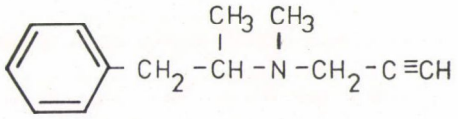
1964-ben Knoll és munkatársai írták le a deprenilt (fenilizopropil-N-metilpropinilamin, E-250, deprenalin), mint új spektrumú MAO-gátlót. A farmakológiai és biokémiai hatások részletes analízise (Knoll és mtsai 1965, 1968, Magyar és mtsai 1967, Knoll és Magyar 1972, Knoll 1976) alapján kimutatták, hogy (-)deprenil (Jumex) igen szelektív gátlója egy speciális típusú MAO-nak, melynek szubsztrátjai a benzilamin és metajodobenzilamin (Knoll és Magyar 1972), valamint a feniletilamin (Yang és Neff 1973).

Másfelől 1968-ban Johnston leírta a klorgilint (2-4-diklorofenoxipropil-N-metilpropinilamin, MB 9302, clorgyline), melynek kémiai szerkezete hasonló a depreniléhez. Ez a vegyület olyan MAO típus szelektív gátlójának bizonyult, mely a szerotonint dezaminálja. Klorgilinről írt dolgozatában Johnston vezette be a MAO-A és MAO-B elnevezést. Jelenleg ez az elnevezés általánosan elfogadott. A MAO-A-t a klorgilin, a MAO-B-t pedig a (-)deprenil gátolja szelektíven. Ezt a két vegyületet (szerkezetük az 1. ábrán látható) széles kör-



Klorgilin (Johnston, 1968)

a MAO-A szelektiv bénitója



Deprenil (Knoll és mt, 1964)

a MAO-B szelektiv bénitója

1. ábra. A szelektív MAO gátlók kémiai szerkezete

ben alkalmazzák élettani, farmakológiai és biokémiai tanulmányokban, melyekben a MAO két típusát elemzik (Squires 1972, Christmas és mtsai 1972, Neff és mtsai 1973, Yang és Neff 1974, Green és Youdim 1975, Braestrup és mtsai 1975, Bakhle és Youdim 1976, Braestrup és Randrup 1976, Dembiec és

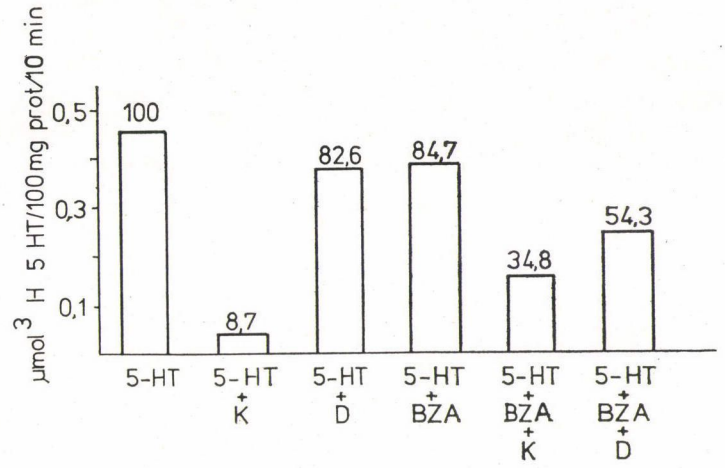
mtsai 1976, Green és Youdim 1976, Maitre 1976, Maitre és mtsai 1976, Neff és Fuentes 1976, Oreland 1976, Sharman 1976 stb.).

1968-ban, tehát Johnstonnal egyidőben, Fuller is leírt egy irreverzibilis szelektív MAO-A gátlót, az o-klorofenoxietil-N-ciklopropilamint, Lilly 51641 (Fuller 1968). A harmin szelektív, reverzibilis MAO-A gátlónak bizonyult (lásd Squires 1972). Az aromás gyűrű és az oldallánc közötti oxigén híd, valamint az orto helyeztben levő klóratom közös a klorgilinben és a Lilly 51641-ben. Ezek a szerkezeti tulajdonságok alapvetőnek tűnnek a MAO-A gátlók szelektivitásának meghatározásában. A MAO-B máig egyetlen nagyon hatásos és szelektív gátlója a (=)deprenil (Jumex). Pargilin, mely szerkezetileg hasonló a deprenilhez, sokkal kevésbé szelektív a MAO-B gátlásban, mint a deprenil.

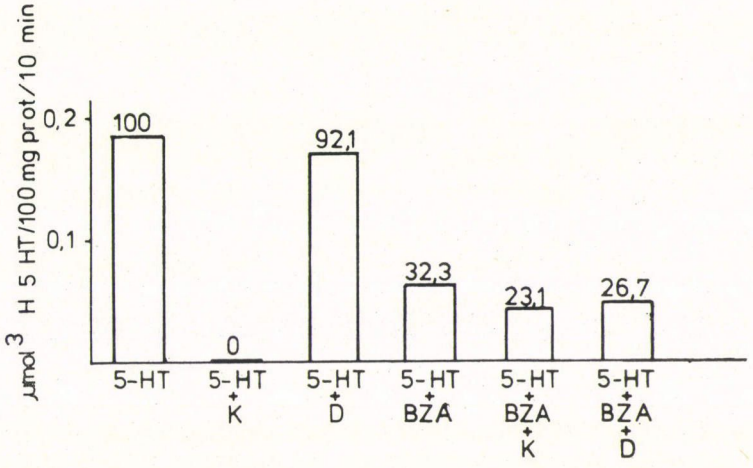
A MAO-A és MAO-B közötti különbségek biokémiai alapja ma még homályos. Több biokémiai tanulmányban írtak a MAO heterogenitásáról (lásd Youdim 1973). Úgy gondolták, hogy az enzim vízoldékony formájának preparálása során alkalmazott eljárások befolyásolják az enzim tulajdonságait és mutatják azt heterogénnek (Tipton 1975). Felvetődött, hogy a MAO kettőssége egyetlen enzim két állapotformája (Severina 1973). Tipton és mtsai (1976) úgy vélték, hogy a patkány májmitokondrium külső membránjának kezelése kaotrop ágenssel enyhe kezelés esetén meghagyja a két típusú enzimet, míg drasztikusabb kezelés az A és B forma eltűnését okozza az aktivitás elvesztése nélkül. Szerintük a kaotrop anyag az enzimből lipideket szabadít fel és az A enzim B formává alakul át. Ekstedt és Oreland (1975) hasonló kísérleteket végeztek lipid-mentesített mitokondrium membránokkal, és arra a következtetésre jutottak, hogy az extrakciós folyamat alatt nem az A forma alakul át B-vé, hanem az A forma szenzitívebb, mint a B és könnyebben inaktiválódik.

A MAO-A és MAO-B kimutatása klorgilin és deprenil segítségével mitokondriális preparátumokban és in vivo. A MAO-A szerotonin-oxidáz és a MAO-B fenil-etilamin-oxidáz jellegéről alkotott hipotézis

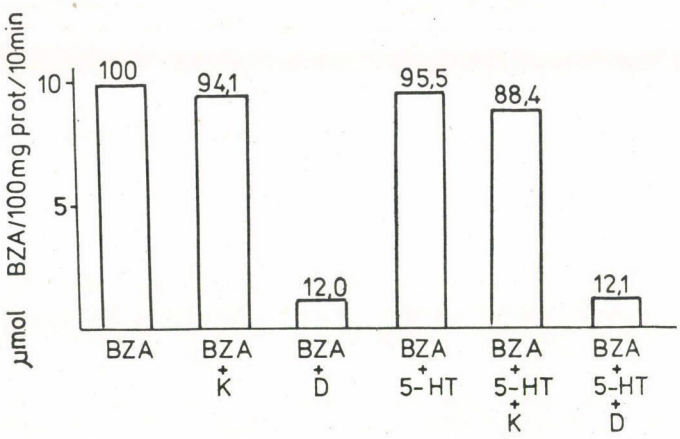
A 2. és 3. ábra mutatja, hogy mind patkánymáj, mind patkányagy mitokondriális preparátumaiban megtalálható egy MAO típus (A forma), mely dezaminálja a szerotonint és melyet a klorgilin gátol. A (-)deprenil gátló hatása elhanyagolható. A benzilamin ennek az enzimnek reverzibilis, nem-kompetitív gátlója, és bizonyos mértékig megvédi a MAO-A-t a klorgilin irreverzibilis gátló hatása ellen (Knoll 1976). A 4. és 5. ábra a MAO-B jelenlétét mutatja patkánymáj és agy mitokondriális preparátumaiban. A benzilamint az enzim specifikus szubsztrátumaként használtuk. (-)Deprenil gátolja a MAO-B-t, míg klorgilin hatástalan. A szerotonin nem-kompetitív reverzibilis gátlója az enzimnek, de nem képes megvédeni a MAO-B-t a (-)deprenil gátló hatásával szemben (Knoll 1976).



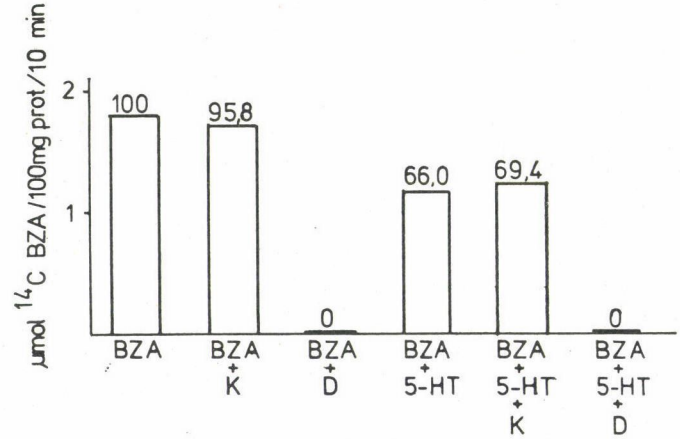
2. ábra. ^{3}H-szerotonin oxidációja patkány máj mitokondriális MAO-val ^{14}C-benzilamin és szelektív MAO bénítók jelenlétében
5HT = ^{3}H-szerotonin, 2,5 mM
BZA = ^{14}C-benzilamin, 2,5 mM
D = (−) deprenil, 10^{-5} M
K = klorgilin, 10^{-5} M
Módszer: Radiometriás meghatározás kettős jelölés technikával



3. ábra. ^{3}H-szerotonin oxidációja patkány agy mitokondriális MAO-val ^{14}C-benzilamin és szelektív MAO bénítók jelenlétében
5HT = ^{3}H-szerotonin, 2,5 mM
BZA = ^{14}C-benzilamin, 2,5 mM
D = (−) deprenil, 10^{-5} M
K = klorgilin, 10^{-5} M
Módszer: Radiometriás meghatározás kettős jelölés technikával



4. ábra. ^{14}C-benzilamin oxidációja patkány máj mitokondriális MAO-val ^{3}H-szerotonin és szelektív MAO bénítók jelenlétében
5HT = ^{3}H-szerotonin, 2,5 mM
BZA = ^{14}C-benzilamin, 2,5 mM
D = (−) deprenil, 10^{-5} M
K = klorgilin, 10^{-5} M
Módszer: Radiometriás meghatározás kettős jelölés technikával



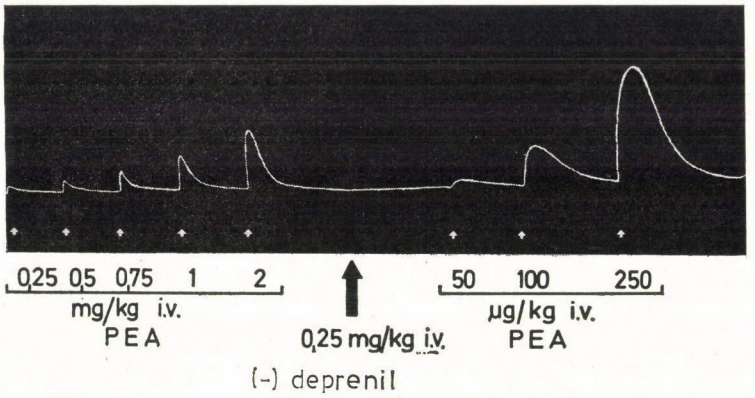
5. ábra. ^{14}C-benzilamin oxidációja patkány agy mitokondriális MAO-val ^{3}H-szerotonin és szelektív MAO bénítók jelenlétében
5HT = ^{3}H-szerotonin, 2,5 mM
BZA = ^{14}C-benzilamin, 2,5 mM
D = (−) deprenil, 10^{-5} M
K = klorgilin, 10^{-5} M
Módszer: Radiometriás meghatározás kettős jelöléstechnikával

MAO-A és MAO-B jelenlétét a macska májában egy speciális technikával demonstráltuk in vivo (Knoll 1976). A MAO-A-hoz legnagyobb affinitással rendelkező endogén szubsztrátum a szerotonin, a MAO-B esetében az optimális szubsztrát a feniletilamin. A macska pislogóhártyadózistól függő kontrakciósval reagal mind a szerotonin, mind a feniletilamin intravénás beadására. Szerotonin esetében 10—15 μg/kg az a legkisebb dózis, amely általában kontrakciót vált ki a pislogóhártyán, és ez a dózis 150—200 μg/kg a feniletilamin esetében. Ugyanezeknek az aminoknak sokkal alacsonyabb dózisai is aktívak, ha a májat kizárjuk a keringésből (Knoll 1976). Ez bizonyítja, hogy a MAO mind a két amint metabolizálja a májban. A szerotonin és feniletilamin hatásának ugyanilyen potenciálása mutatható ki olyan macskákban, melyeket MAO gátlókkal kezeltünk. A 6. ábra a feniletilamin hatásosságában bekövetkezett drámai változást mutatja 250 μg/kg (-)deprenillel kezelt macskán. A feniletilamin azon mennyisége, mely küszöbdózis volt a (-)deprenil kezelés előtt, a MAO bénítása után a pislogó hártya erős és tartós kontrakcióját váltotta ki. A 7. ábra mutatja, hogy feniletilamin hatásában beállott változás a MAO-B gátlásának következménye, mivel a klorgilin még nagy adagban is (5 mg/kg, i.v.) csak nagyon gyengén befolyásolta a feniletilamin hatását. A 8. ábra másfelől azt mutatja, hogy a MAO-A gátlása klorgilinne jelentősen potenciálja a szerotonin hatását.

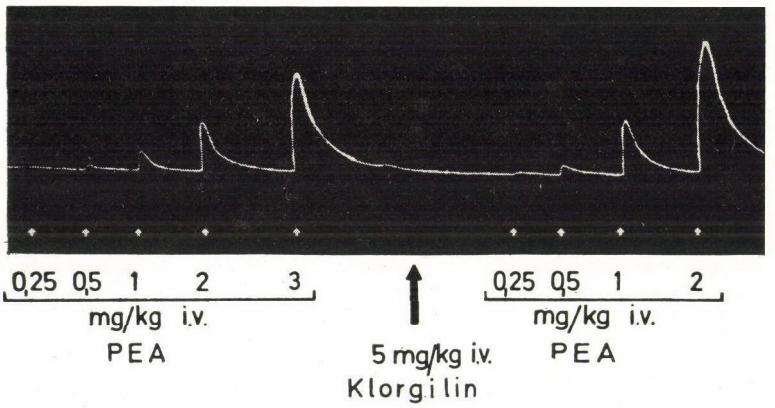
Ezek a kísérletek arra vallanak, hogy a MAO-A szerotonin-oxidázként, a MAO-B pedig feniletilamin-oxidázként viselkedik, azaz a két enzim differenciálja az 5-hidroxiindol gyűrűt a benzolgyűrűtől. Ez a következtetés összhangban van a különböző szubsztrátumoknak ezekhez az enzimekhez való affinitásával. A többi indolaminnak és fenilalkilaminnak sokkal alacsonyabb az affinitása, a MAO-A-hoz, illetve a MAO-B-hez, és közülük több (pl. tiramin, katekolaminok) mind a két enzimnek szubsztrátuma.

A 9. és 10. ábra a szubsztrátumok és a reverzibilis gátlók szerotonin-oxidázhoz (MAO-A), illetve feniletilamin-oxidázhoz (MAO-B) történő kötődésének modelljei.

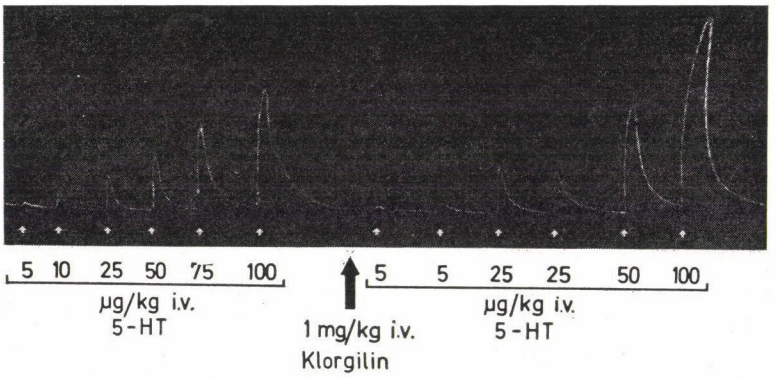
A MAO-gátlók aktivitását determináló szerkezeti követelmények megértéséhez megvizsgáltuk a szerkezet-hatás közötti összefüggést a feniletilamin-oxidáz (MAO-B) szelektív gátlói esetében. A 10. ábrán bemutatott modell szerint a feniletilamin ennek az enzimnek specifikus szubsztrátuma, melynek kötését az aromás gyűrű, az aromás gyűrű és a nitrogán közötti alkil-lánc optimális hossza és szerkezete, valamint a nitrogén kötődése határozza meg. Ezek a sajátosságok mind szükségesek ahhoz, hogy a szubsztrát kötődjön az enzimhez és a kötődés eredményeként a vegyület az enzim felületén dezaminálódjon. Abban az esetben, ha a fenieletilaminban két szén helyett csak egy szén köti az aromás gyűrűt a nitrogénhez (mint a benzilamin esetében) a szubsztrát affinitása erősen lecsökken. Sertésagy mitokondriummal dolgozva a K_m-et Williams (1974) 1 μM-nak találta feniletilamin és 625 μM-nak benzil-



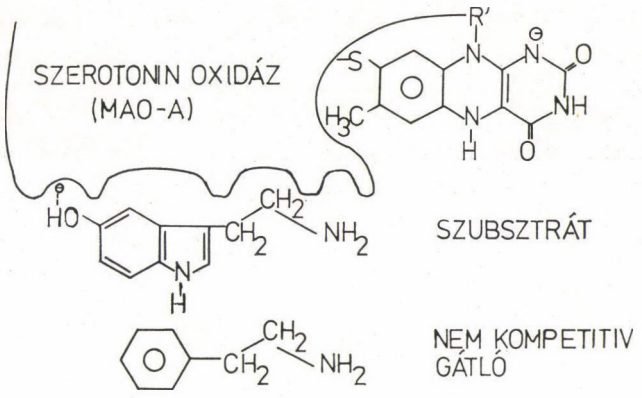
6. ábra. Feniletilaminnal (PEA) kiváltott macska pislogóhártya kontrakciók dózis függése (—) deprenil kezelés előtt és után



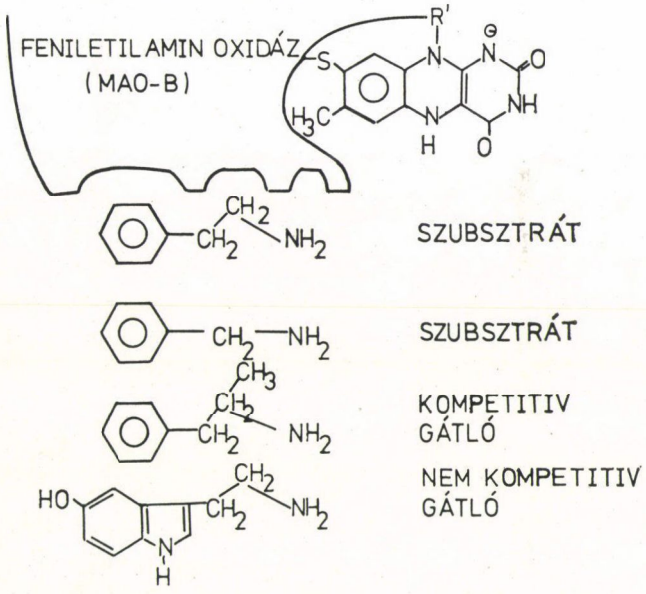
7. ábra. Feniletilaminnal (PEA) kiváltott macska pislogóhártya kontrakciók dózis függése klórgilin kezelés előtt és után



8. ábra. Szerotoninnal kiváltott macska pislogóhártya kontrakciók dózis függése klórgilin kezelés előtt és után



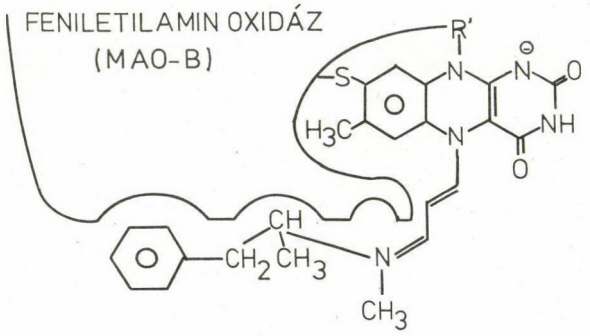
9. ábra. A szerotonin-oxidáz (MAO—A) kötéshelyeinek modellje



10. ábra. A feniletilamin-oxidáz (MAO—B) kötéshelyeinek modellje

amin esetében. Hasonló különbségeket találtunk a két szubsztrátum patkány-máj és agy mitokondriális MAO-hoz mutatott affinitásában. A lánc optimális szerkezetének (CH_2-CH_2) további bizonyítéka az amfetaminnak mint szubsztrátumnak teljes hatástalansága. Yasanobu és Oi (1972) megfigyeléseivel megegyezően azt találtuk, hogy amfetamin a feniletilamin-oxidáz kompetitív gátlója. A tény, hogy a szerotonin ennek az enzimnek nem kompetitív gátlója (Knoll 1976), azt mutatja, hogy az indol gyűrű aromás természete affinitást még biztosít a feniletilaminoxidázhoz, de bontani már nem tudja az enzim ezt a monoamint.

Modellünk szerint a nitrogén kötési helye az enzím kovalensen kötött flavin-csoportja közvetlen közelében van. Ez a feltevés a (-)deprenilben levő enzim-ölő csoport posszibilis hatásmechanizmusán alapul. Úgy gondoljuk, hogy a (-)deprenilben levő propinil-csoport irreverzibilis módon reagál a kovalensen kötött flavinnal oly módon, miként Singer csoportja az N,N-dimentil-propinilaminra vonatkozóan kimutatta (Maycock és mtsai 1976). Ezt a munkahipotézist a 11. ábra szemlélteti.



11. ábra. Az (—) deprenil kötődésének modellje a feniletilamin-oxidázhoz (MAO—B)

A deprenilből kiindulva egy sor új vegyületet szintetizáltunk, abból a célból, hogy ellenőrizzük a 9. és 10. ábrán bemutatott modellek értékét. Ezekben a kísérletekben tiramint használtunk, mely a MAO-A-nak és a MAO-B-nek közös szubsztrátuma. Az alapvető szerkezeti követelmények, melyek meghatározzák a MAO-A és B gátlóinak aktivitását, úgy tűnik, megegyeznek a vázolt modellel. Az 1. táblázat az aromás gyűrű jelentőségét bizonyítja a kötődésben. Ennek megfelelően a (-)deprenil furán-gyűrűs analógja is hatékony, sőt még valamivel hatékonyabb, mint az anya-vegyület. Másrészt, bármely típusú aromás gyűrű telítése gyakorlatilag megszünteti a vegyületek kötődését az enzimhez. A 2. táblázat az aromás gyűrű és a nitrogén közötti lánc hosszának és szerkezetének az affinitásra kifejtett hatását mutatja. E táblázat eredményei is összhangban állnak a javasolt modellel

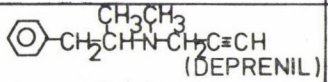
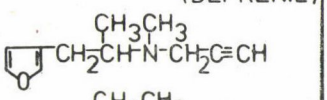
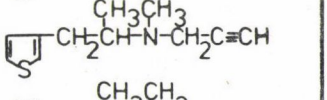
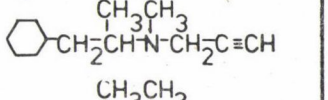
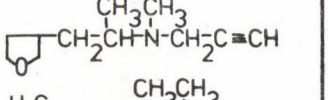
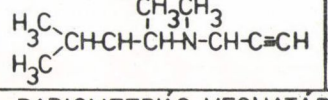
A szelektív MAO-gátlók terápiás aspektusai

Mióta először kimutatták az ipraniazid hatékonyságát depresszióban (Kline 1958), és megfigyelték, hogy gyakori mellékhatásként ortosztatikus hipotóniát okoz (Goldberg 1964), a MAO-gátlók központi idegrendszerre és keringésre kifejtett hatásait próbálták a terápiában kihasználni.

Mivel a MAO-gátlóknak bonyolult és többrétű hatásuk van a biogén aminok anyagcseréjére (Knoll és Magyar 1972), néha nehéz egy MAO-gátló valamely megfigyelt farmakológiai hatása és a MAO-ra gyakorolt speficikus

1. táblázat

AZ AROMÁS GYŰRŰ SZEREPE FENILPROPINIL-AMINOK MAO GÁTLÓ HATÁSÁBAN

	PATKÁNY MÁJ MAO+ ID_{50}(M)	RELATIV HATÉKONYSÁG
 (DEPRENIL)	10^{-6}	1,00
	$7{,}5.10^{-7}$	1,33
	5.10^{-6}	0,20
	10^{-4}	0,01
	5.10^{-5}	0,02
	5.10^{-5}	0,02

+RADIOMETRIÁS MEGHATÁROZÁS [^{14}C]TIRAMIN SZUBSZTRÁTTAL

Az aromás gyűrű szerepe az (—) deprenil MAO-gátló hatásában

gátlás közötti oki összefüggés bizonyítása. Gyakran olyan nagy mennyiséget adnak be, mely gátolhatja különböző aminok felvételét, és katekolaminokat szabadíthat fel. A MAO-gátlók túl nagy dózisban még a biogén-amin receptorokat is gátolhatják. Nemrégen kimutattam, hogy a klorgilin, a szerotonin oxidáz (MAO-A) szelektív gátlója, blokkolja tengerimalac ileumon a szerotonin receptorokat, míg (-)deprenil, a feniletilaminoxidáz (MAO-B) gátlója hatástalan (Knoll 1976). Másrészt (-)deprenil nagy dózisban (25 mg/kg, s.c.) gátolja az apomorfinnal (2,5 mg/kg) kiváltható sztereotip viselkedést patkányon, azaz az apomorfin stimuláns hatását a dopamin receptorokra (Decsi L., nem közölt eredmények).

Egy farmakológiai hatás akkor hozható összefüggésbe MAO-gátlással, ha ezt a hatást szerkezetileg különböző MAO-gátlókkal létre lehet hozni, és időbeli lefolyása megegyezik a MAO-gátlással.

Állatkísérletekben hatalmas mennyiségű adat halmozódott fel, mely azt mutatja, hogy katekolaminok, szerotonin és egyéb endogén aminok (pl. triptamin, feniletilamin, oktopamin, tiramin, feniletanolamin, N-metilhiszta-

2. táblázat

AZ AROMÁS GYŰRŰ ÉS NITROGÉN KÖZÖTTI LÁNCHOSSZ SZEREPE FENILPROPINILAMINOK MAO GÁTLÓ HATÁSÁBAN

	$R-N(CH_3)-CH_2-C\equiv CH$	PATKÁNYMÁJ MAO+ ID_{50}(M)	HATÉKONYSÁG
LÁNCHOSSZ		10^{-6}	1.00
		10^{-6}	1.00
		$2.5 \cdot 10^{-6}$	0.40
SZUBSZTITUCIÓ AZ α-ILL.β-SZÉNEN		10^{-6}	1.00
	 DEPRENIL	10^{-6}	1.00
		$2.5 \cdot 10^{-6}$	0.40
		$5 \cdot 10^{-4}$	0.002
		$5 \cdot 10^{-5}$	0.02
		$75 \cdot 10^{-5}$	0.13

+ RADIOMETRIÁS MEGHATÁROZÁS [^{14}C]TIRAMIN SZUBSZTRÁTTAL

A lánchossz, valamint az α, ill. β-szén szubsztitúciójának szerepe az (—) deprenil MAO-gátló hatásában

min) szintje megnövekszik az agyban és más szövetekben a MAO-gátlók hatására. Ma általánosan elfogadott nézet, hogy a MAO-bénítók antidepresszív hatása a megnövekedett katekolaminerg tónusnak tudható be. A MAO-bénítók hipertenzív hatásában szerepet játszó legfontosabb tényezők az adrenalin, szerotonin és noradrenalin emelkedése az agyban, valamint az oktopaminé („hamis transzmitter") a noradrenerg neuronokban.

Mivel a szerotonin és a katekolaminok szabályozzák az elektrosokk és metrazol görcsküszöböt, ezeknek az aminoknak kiürítői (reszerpin, tetrabenazin) facilitálják mind a két típusú görcsöt, miként ezt először Chen és munkatársai demonstrálták reszerpinnel 1954-ben. A MAO-gátlók ezeket a görcsöket egyaránt antagonizálják kezeletlen és reszerpinnel kezelt patkányokban (Prockop és mtsai 1959), sőt egerek audiogén görcseit is gátolják (Plotnikoff és mtsai 1963).

A MAO-gátlók potenciálják azon vegyületek hatását, melyek a monoaminok felvételét gátolják. Leírták az imipraminnal (Luby és Dominoz 1961, Brachfeld és mtsai 1963) és petidinnel (Shee 1960) való veszélyes inkompatibilitást emberben. A MAO-gátlók erősen potenciálják a triptamin (Tedeschi és mtsai 1959) és hallucinogén indolaminok hatását, pl. dimetiltriptamin (Szára 1956), dietiltriptamin (Szára 1960), 5-metoxi-N-metiltriptamin (Taborsky és McIsaac 1964), bufotenin (Gessner és mtsai 1960) stb. Néhány feniletilamin származékot, melyeket schizofreniás vizeletében identifikáltak (3,4-dimetoxifeniletilamin és parametoxifeniletilamin) a MAO gyorsan metabolizál (Shulgin és mtsai 1966) és hatásukat a központi idegrendszerre csak a MAO-gátlók beadása után lehet kimutatni (Hallasmøller és mtsai 1973). A MAO-gátlók erősen potenciálják a feniletilamin és feniletenolamin viselkedési hatásait is (Sabelli és mtsai 1975).

A presszor aminok hatásának erős fokozódása a MAO-inhibitorokkal kezelteken nagy gyakorlati jelentőségű. Interakciójuk a közvetlen és közvetett módon ható szimpatominetikumokkal és élelmiszerek presszor aminjaival végzetes hipertenzív krízisekhez vezettek, melyek aláásták a MAO-gátlókba vetett bizalmat, és az elmúlt 20 év alatt a legtöbb országban nagy fluktuáció volt észlelhető a MAO-gátlók bevezetése, illetve visszavonása körül.

A tiramin vérnyomásemelő hatásának fokozása, úgy tűnik, nagyon fontos szerepet játszik olyan élelmiszerek fogyasztása után jelentkező veszélyes hipertenzív reakciókban, melyek nagy mennyiségben tartalmaznak szabad tiramint, pl különböző sajtok, élesztős termékek, babok, chianti borok, sózott hering, csirkemáj stb. Ma már tudjuk, hogy a „sajt-effektus", melyet 1963-ban Blackwell írt le először, elsősorban az intesztinális MAO gátlásának a következménye. A tiraminnak közvetlen noradrenalin felszabadító hatása is növekszik. Mi régebben kimutattuk (Knoll és mtsai 1968, 1972), hogy az összes ismert MAO-gátlóval ellentétben, melyek erősen növelik a tiraminnak a vérnyomásra és izolált szervekre gyakorolt hatását, a deprenil antagonizálja ezeket a hatásokat. A terápiában ma alkalmazott nem-szelektív MAO-gátlókkal ellentétben, melyek növelik a (^{3}H)noradrenalin kiáramlását a patkánymáj mikroszomális frakciójából a (-)deprenil gátolja azt (Knoll és mtsai 1972, Magyar és mtsai 1973). Klorgilin, a szelektív A-gátló, növeli a noradrenalin felszabadulást (Knoll 1976, Magyar és mtsai 1973). Érdekes módon a pargilin is, melyet valamelyest szelektív MAO-B-gátlóként tartanak számon, potenciálja a tiramin hatását és a noradrenalin kiáramlását fokozza (Knoll és mtsai 1972, Magyar és mtsai 1973).

Magyar és mtsai kimutatták, hogy a (-)deprenil az intesztinális MAO gyenge gátlója patkányban (Magyar és mtsai 1973). Squires azzal bizonyította, hogy a MAO-A a különböző fajok beleiben levő fő enzim, hogy a (-)deprenilt az intesztinális MAO gyenge gátlójának találta, míg a klorgilin nagyon hatékonynak bizonyult (Squires 1972). Ez azt jelenti, hogy a gát, mely megakadá-

lyozza a táplálékban levő tiraminnak a keringésbe való bekerülését (-)deprenillel kezelt állatokban, gyakorlatilag ép, míg klorgilinnel kezelteken semlegesítve van. Az a következtetés, hogy a MAO-A az emberi belekben levő fő enzim (Squires 1972) megegyezik Varga és Tringer (1967), ill. Tringer és mtsai (1971) korábbi megfigyeléseivel, akik klinikai vizsgálatok során soha sem figyelték meg hipertenzív reakciók megjelenését, amikor racem vagy (-)deprenilt használtak depresszió-ellenes szerként. Birkmayer és munkatársai (1977) sem említik ezt a típusú mellékhatást. Ők antiparkinson szerként adták be két éven keresztül a (-)deprenilt. Néhány deprenillel kezelt önként vállalkozón Varga megpróbálta előidézni a „sajtreakciót" nagy mennyiségű tiraminban gazdag sajt etetésével, de a vérnyomásban jelentős változás nem volt kimutatható. Mindezek az adatok azt a nézetet támasztják alá, hogy a MAO-gátlók okozta akut hipertenzív reakció a MAO-A gátlásával van összefüggésben, így a szelektív MAO-B-gátlók biztonságosabbak, mint a MAO-A-blokkolók.

Kizárólag a MAO-A gátlásától függ a szerotonin agyi szintjének emelkedése. Az agyban levő magasabb szerotonin szint elnyomja a raphe rendszert és a szerotonin neuronok spontán aktivitását (Aghajanian és mtsai 1970), valamint a paradox alvást is gátolja. Úgy tűnik, hogy a megnövekedett szerotonin szint szerepet játszik a MAO-bénítók okozta ovuláció gátlásban is (Alleva és mtsai 1966).

A MAO-gátlók antidepresszív hatását elsősorban a katekolaminerg tónus fokozódásával hozzák összefüggésbe. A noradrenalint a MAO-A oxidálja (Tipton és mtsai 1976). Dopamint mindkét MAO típus szubsztrátumaként írták le (Neff és Yang 1974). Patkányagyban ennek az aminnak sokkal nagyobb az affinitása a MAO-A-hoz (Maitre és mtsai 1976, Sharman 1976, Braestrup és mtsai 1975). Braestrup és munkatársai a három fő katekolamin metabolitot: a homovanillinsavat (HVA), dihidroxi-fenilecetsavat (DOPAC) és 3-metoxi-4-hidroxifenilglikolt (MOPEG) mérték patkányagyban, és összehasonlították a klorgilin és a (-)deprenil hatását a metabolitok mennyiségére. Azt tapasztalták, hogy a klorgilin (ED_{50} = 0,2 mg/kg) sokkal hatékonyabb volt a noradrenalin és dopamin metabolizmusának gátlásában, mint a (-)deprenil (ED_{50} = 15 mg/kg). Ez azt mutatja, hogy ezeket az aminokat főként a MAO-A metabolizálja az egész agyban. Ezek a számok összhangban állnak azzal a konklúzióval, hogy a katekolaminok jobb szubsztrátumai a MAO-A-nak, mint a MAO-B-nek, de az eredmény nem jelenti szükségképpen azt, hogy a patkányagyban mindenütt a MAO-A az adrenerg neuron enzimje. A szinaptoszomális MAO az agyi szövetben levő teljes MAO-aktivitásnak csak egy kis hányada (kevesebb, mint 5 %).

Emberben a (-)deprenil, noha szelektív MAO-B-gátló, igen jó hatásúnak bizonyult Parkinson-kórban. Birkmayer és munkatársai kimutatták, hogy a (-)deprenil, melyet L-dopával és perifériás dekarboxiláz gátlóval együtt adtak be, kiváló antiparkinson hatást fejtett ki olyan betegeken, akik néhány éves

L-dopa kezelés után egy 'on-off' fázisba kerültek. A deprenillel kezelteken napi kisebb L-dopa adag is elegendő volt (Birkmayer és mtsai, 1977). Birkmayer és munkatársai felvetették, hogy (-)deprenil nemcsak szelektív MAO-B-gátlóként működik, hanem úgy is, mint a dopamin felszabadítója a striatumban. Ezt a feltevésüket Knoll és munkatársai 1965-ös tanulmányára építették, mely a racem deprenilt (akkor E-250 kódnév alatt) bevezette és amelybe kimutatták, hogy a racem deprenil akut „amfetaminszerű" pszichostimuláns hatással is rendelkezik. Az amfetaminról pedig ismeretes, hogy noradrenalint szabadít fel. Viszont Knoll csoportja később kimutatta, hogy a (+) formával ellentétben a (-)deprenil nem rendelkezik akut pszichostimuláns hatással (Magyar és mtsai 1967) és a racem ill. (-)deprenil sem noradrenalin felszabadító (Knoll és Magyar 1972). Természetesen nem lehet kizárni annak a lehetőségét, hogy a deprenilnek specifikus dopamin-felszabadító hatása van az emberi striátumban, de az állatkísérletekben eddig nem tapasztaltuk ilyen típusú hatás analógiáját.

Egy újabb tanulmányban (Youdim és mtsai 1977 nyomás alatt) felmerült a feniletilamin interferenciája a (-)deprenil parkinsonellenes hatásában. Ezt a lehetőséget Knoll vetette fel először (Knoll 1976), aki egy feniletilamin által modulált katekolaminerg idegvégződés modelljét vázolta fel izolált-szervi kísérletek alapján, azzal a céllal, hogy bemutassa az endogén feniletilamin és noradrenalin vagy dopamin transzmisszió közötti egyik lehetséges intraneurális interakciót (Knoll 1977). Azonban a feniletilamin élettani szerepe a striátumban jelenleg még csak munkahipotézis, még kísérletes bizonyításra vár. A (-)deprenil megfigyelt jótékony hatása a Parkinson-kórban szenvedő betegeken valószínűleg azon az egyszerű tényen alapul, hogy a dopaminerg idegvégződés MAO-B enzimet tartalmaz, melyet a (-)deprenil szelektíven gátol. Ebben a tekintetben nagyon fontos Sandler csoportjának legújabb tanulmánya (Glover és mtsai 1977), melyben kimutatja, hogy a dopamin emberen MAO-B szubsztrátum és az emberi striátumban a MAO aktivitást a (-)deprenil már a klorgilinnél kisebb koncentrációban gátolja. Ezzel kapcsolatosan felmerül egy érdekes új lehetőség, melynek eredményességéről a közeljövő kutatásai fognak majd értékelési lehetőséget nyújtani. Arról van szó, hogy az öregedés folyamán kis mértékben mindig csökken a nigro-striatalis rendszer dopamin tartalma, tehát enyhe mértékben minden embernél lezajlik, amint a korban előre halad, olyan irányú degradáció a mozgás-koordináció központjában, amilyen drámai mértékben zajlik le a Parkinson-kórban. Számos, az öregkorra jellemző progrediáló változás a mozgékonyságban összhangban áll evvel a degradációs folyamattal. Még a jövőnek kell majd eldönteni, hogy amennyiben kis mennyiségű deprenil tartós adagolásával a nigro-striatalis rendszer normális dopamin szintjét fenntartjuk, milyen mértékben járul ez majd hozzá az öregedés egyik degradációs folyamatának elhárításához. Az kétségtelen, hogy a MAO-B enzim szelektív bénításával azt a célt, hogy a dopamin szintet

tartósan fenntartsuk, azaz az elöregedéssel járó természetes csökkenést meggátoljuk, elérhetjük. A kutatások a probléma analízisére már megindultak.

A szelektív MAO-B-gátlók felhasználása a Parkinson-kórban ígéretes új útnak tűnik a szelektív MAO-B gátlók terápiás alkalmazására. Gyakorlati szempontból nagy előnye a szelektív MAO-B gátlóknak — ahogy ezt már korábban is említettük —, hogy sokkal biztonságosabbak, mint a MAO-A inhibitorai.

Racem és (-)deprenil hatékony depresszió-ellenes szernek bizonyult a klinikai vizsgálatok során, miként ezt Varga és Tringer 1967-ben, ill. Tringer és munkatársai 1971-ben leírták. Mivel a (-)deprenil a MAO-B, egy nagyon specifikus feniletilamin-oxidáz bénítója, (-)deprenil és fenilalanin (a feniletilamin prekurzora) kombinációjával végzett klinikai vizsgálatok, a következő okok miatt tűnnek ígéretesnek depresszióban. Elegendő bizonyítékuk van arra, hogy a feniletilamin egyike az agyban található endogén mikro-aminoknak (Fischer és mtsai 1972, Saavedra 1974, Willner és mtsai 1974), mely szerepet játszhat az affektív viselkedésben (Sabelli és Mosnaim 1974). Az az észlelet, hogy a szabad feniletilamin depressziós betegek vizeletében kisebb mennyiségben választódik ki, figyelemre méltóvá teszi azt a hipotézist, hogy a feniletilamin deficit egyike lehet a depressziót kiváltó biokémiai elváltozásoknak (Fischer és mtsai 1968). Ezt a lehetőséget a szelektív feniletilaminoxidáz bénító (-)deprenillel vizsgálat tárgyává lehet tenni.

Összefoglalás

A mitokondriális MAO-nak két fő formája van, az A és B típus. A MAO-A-ra jellemző, hogy az 5-hidroxiindol gyűrűhöz kapcsolódó etilamin oldallánc metabolizálására specializálódott (szerotoninoxidáz), a MAO-B viszont felismeri és metabolizálja a feniletilamint (feniletilaminoxidáz). Sok más amin szerkezeti hasonlóságok miatt, vagy a MAO-B, vagy MAO-A, vagy mindkettő közös szubsztrátuma, de az A enzimhez a szerotonin, a B-enzimhez a feniletilamin mutatja a legnagyobb affinitást.

A szelektív MAO-gátlók, klorgilin és deprenil, alkalmas eszközök a kétféle MAO elemzésére. A klorgilin a MAO-A, a (-)deprenil pedig a MAO-B szelektív gátlója.

A szerkezet-aktivitás közötti összefüggés tanulmányozása alapján úgy véljük, hogy az aromás gyűrű a CH_2-CH_2 lánc és a nitrogén kötődése az enzimfelületen nekik preformált helyhez, határozzák meg a szubsztrátumok affinitását az enzimhez, és azt a képességüket, hogy az enzim felszínén metabolizálódjanak. Úgy tűnik, hogy a MAO-A és B az aromás-gyűrű komplementer részében különböznek egymástól. MAO-A esetében az enzimnek ez a része a szerotoninban levő 5-hidroxiindol gyűrű komplikáltabb kötődéséhez adaptá-

lódott, míg a MAO-B a feniletilaminban levő benzol gyűrű kötésére egy egyszerűbb sima felszínt tartalmaz. A két enzim megegyezik a CH_2-CH_2 lánc és a nitrogén kötéséhez szükséges komplementer részekben.

A szubsztrátok nitrogénjét kötő helyet mindkét enzim kovalensen kötött flavincsoportjának közvetlen közelében lokalizáljuk. Ez a helyzet a klorgilin és (-)deprenil irreverzibilis gátló hatását megfelelően magyarázza. Mind a két MAO-gátló a nitrogénhez kötődő propinil csoportot tartalmaz és ez a csoport adduktot tud képezni a kovalensen kötött flavinnal.

Amióta felismerték az ipriniazid hatékonyságát depresszióban, és megfigyelték, hogy gyakori mellékhatásként ortosztatikus hipotóniát okoz, a MAO-gátlókat antidepresszív, illetve antihipertenzív vegyületekként próbálják alkalmazni. Jelenleg csak nem szelektív MAO-gátlók vannak forgalomban. Legjelentősebb mellékhatásuk, hogy a táplálékban levő presszor aminokkal interakcióba léphetnek és néha végzetes, akut hipertenzív reakciót válthatnak ki. E mellékhatásuk miatt csak fenntartásokkal és korlátozottan kerülnek alkalmazásra. Mivel a MAO-A az emberi bélben található fő enzim, a nem-szelektív MAO-gátlók éppúgy, mint a szelektív MAO-A-gátlók, kiiktatják az első gátat, mely megakadályozza a tiraminnak a keringésbe való kerülését. (-)Deprenil, mely szelektív MAO-B-gátló, gyakorlatilag változatlanul hagyja az intesztinális MAO-aktivitást. Amellett, a MAO-A-gátlók potenciálják a tiramin hatását, (-)deprenil gátolja azt és MAO-A-gátlók növelik a noradrenalin kiáramlását is a szinaptoszómából, míg (-)deprenil ezt is gátolja. Tehát a szelektív MAO-A-gátlók nem előnyösebbek, mint az eddig ismert nem szelektív vegyületek, a MAO-B szelektív gátlása azonban mellékhatások szempontjából előnyösebbnek ígérkezik.

A szelektív MAO-B-gátlók terápiában való alkalmazásának egyik új útja felhasználásuk a Parkinson-kórban. A kezelés alapját az képezi, hogy emberi striátumban a dopamin MAO-B szubsztrátum és klorgilinnél kisebb koncentrációjú (-)deprenillel gátolható. Parkinson-kórra a striatum dopaminszintjének nagyon erős csökkenése jellemző. A striatum dopamin-tartalma azonban progrediáló jelleggel az öregkorban is csökken. (-)Deprenillel ezt a csökkenést meg lehet akadályozni, így a szelektív MAO-B-bénítók felhasználhatók lehetnek egy olyan öregkori biokémiai változás megelőzésére, melynek szerepet tulajdoníthatunk a Parkinson-kórra emlékeztető öregkori mozgászavarok fellépésében.

A (-)deprenil antidepresszív hatással is rendelkezik. E hatásának további klinikai elemzését az indokolja, hogy a (-)deprenil a feniletilaminoxidáz szelektív bénítója és a feniletilamin egy az agyban fiziológiás szerepet játszó, serkentő hatású mikroamin, melynek mennyiségét a vizeletben depresszióban csökkentnek találták. Amennyiben feniletilamin-deficit a depressziók egy része keletkezésében szerepet játszik, (-)deprenil és fenilalanin (a feniletilamin prekurzora) együttes adásának jelentős hatása lehet ilyen betegeken.

IRODALOM

Aghajanian, G. K., Graham, A. W. és *Sheard, M. H.:* Science **169,** 1100 (1970).
Alleva, J. J., Overpack, J. G. és *Umberger, E. J.:* Life Sci. **5,** 1557 (1966).
Bakhle, Y. S. és *Youdim, M. B. H.:* Br. J. Pharmac. **56,** 125 (1976).
Biel, J. H., Horita, A. és *Drukker, A. E.:* in Psychopharmacological Agents. (Ed. Gordon, M.) pp. 359—443 Academic Press, N. Y. and London (1964).
Birkmayer, W., Riederer, P., Youdim, M. B. H. és *Linauer, W.:* J. Neural Transm. **36,** 303 (1975).
Birkmayer, W., Riederer, P., Ambrosi, L. és *Youdim, M. B. H.:* Lancet 439 (1977).
Blackwell, B.: Lancet II. 849 (1963).
Blackwell, B., Marley, E., Price, J. és *Taylor, D.:* Br. J. Psychiatr. **113,** 349 (1967).
Blaschko, H., Richter, D. és *Schlossmann, H.:* J. Physiol. **90,** 1 (1937).
Blaschko, H.: Pharm. Rev. **4,** 415 (1952).
Blaschko, H.: Adv. Biochem. Psychipharmacol. **5,** 1 (1972).
Brachfeld, J., Wirtschafter, A. és *Wolfe, S.:* J. Am. Med. Assoc. **186,** 1172 (1963).
Braestrup. C., Andersen, H. és *Randrup, A.:* Eur. J. Pharmac. **34,** 181 (1975).
Braestrup. C. és *Randrup, A.:* in Phenylethylamine: Biological Mechanisms and Clinical aspects. (Ed. A. D. Mosnaim) Inc. N. Y. (1976).
Brodie, B. B., Pletscher, A. és *Shore, P. A.:* J. *Pharmacol.* Exp. Ther. **116,** 9 (1956).
Chen, G., Ensor, C. R. és *Bohner, B.:* Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **86,** 507 (1954).
Christmas, A. J., Coulson, C. J., Maxwell, D. R. és *Riddel,* D.: Br. J. Pharmac. **45,** 490 (1972).
Crane, G. E.: Am. J. Psychiatr. **112,** 494 (1956).
De Lores Arnaiz, G. R. és *De Robertis, E. D. P.:* J. Neurochem. **9,** 503 (1962).
Dembiec, Dorothy, Dana MacNamee és *Cohen, G.:* J. Pharm. Exp. Ther. **197,** 332 (1976).
Ekstedt, B. és *Oreland, L.:* Biochem. Pharmacol. **25,** 119 (1975).
Ewins, A. J. és *Laidlaw, P. P.:* J. Physiol. **41,** 78 (1910).
Ewins, A. J. és *Laidlaw, P. P.:* Biochem, J. **7,** 18 (1913).
Fischer, E., Heller, B. és *Miro, A.* H.: Arzneimittel—Forsch. **18,** 1486 (1968).
Fischer, F., Spatz, H., Heller, B. és *Reggiani,* H.: Experientia **15,** 307 (1972).
Fox, H. H.: Science **116,** 129 (1952).
Fuller, R. W.: Biochemical Pharm. **17,** 2097 (1968).
Fuller, R. W.: Adv. Biochem. Psychopharm. **5,** 339 (1972).
Gessner, P. K., Khairallah, P. A., McIsaac. W. M. és *Page, I. H.:* J. Pharm. Exp. Ther. **130,** 126 (1960).
Glover, V., Sandler, M., Owen, F. és *Riley, G. J.:* Nature **265,** 80 (1977).
Goldberg, L. I.: J. Am. Med. Assoc. **190,** 456 (1964).
Goridis, C. és *Neff, N. H.:* Neuropharmacology **10,** 557 (1971).
Green, A. R. és *Youdim, M. B. H.:* Br. J. Pharmac. **55,** 415 (1975).
Green, A. R. és *Youdim, M. B. H.:* in Monoamine Oxidase and its Inhibition. CIBA Foundation Symposium 39 (new series). Elsevier. Excerpta Medica. North Holland. Amsterdam. Oxford. New York. pp. 231—234 (1976).
Guggenheim, M. és *Löffler, W.:* Biochem. Ztschr. **72,** 325 (1916).
Hallasmøller, T., Vizi, E. S. és *Knoll, J.:* in Symposium of Pharmacological Agents and Biogenic Amines in the Central Nervous System (Ed. Knoll, J. and Vizi, E. S.) Akadémiai Kiadó, Budapest, pp. 81—86 (1973).
Hare, M. L. C.: Biochem. J. **22,** 968 (1928).
Huszti, Zsuzsanna, Fekete, M. és *Hajós, A.:* Biochem. Pharmacol. **18,** 2293 (1969).
Huszti, Zsuzsanna: Mol. Pharmacol. **8,** 385 (1972).
Jarrott, B.: J. Neurochem. **18,** 7 (1971).
Johnston, J. P.: Biochem. Pharmacol. **17,** 1285 (1968).
Jouvet, M., Vimont, P. és *Delorme, F.:* Compt. Rend. Soc. Biol. **159,** 1595 (1965).
Kline, N. S.: Clin. Exp. Psychopathol. **19,** 72 (1958).
Klingman, G. I.: Biochem, Pharmacol. **15,** 1729 (1966).
Knoll, J., Ecsery, Z., Nievel, J. G. és *Knoll, Berta:* MTA V. Oszt. Közl. **15,** 231 (1964).
Knoll, J., Ecsery, Z., Kelemen, K., Nievel, J. G. és *Knoll, Berta:* Arch. int. Pharmacodyn. Ther. **155,** 154 (1965).
Knoll, J., Vizi, E. S. és *Somogyi, G.:* Arzneimittel—Forsch. **18,** 109 (1968).
Knoll, J. és *Magyar, K.:* Adv. Biochem. Psychopharmacol. **5,** 393 (1972).
Knoll, J.: in Monoamiane Oxidase and its Inhibition. CIBA Foundation Symposium 39 (New series) Elsevier. Excerpta Medica. North-Holland. Amsterdam. Oxford. New York. pp. 135—161 (1976).

Knoll, J.: in: Neuronal concept today (Ed. Szentágothai, J., Hámori, J., Vizi, E. A.) Akadémiai Kiadó, Budapest (1977) pp. 109—117
Luby, E. D. és *Domino, E. F.:* J. Am. Med. Assoc. **177,** 68 (1961).
Magyar, K., Vizi, E. S., Ecsery, Z. és *Knoll, J.:* Acta Physiol. Hung. **32,** 377 (1967).
Magyar, K., Sátory Éva és *Knoll, J.:* First Congress of the Hungarian Pharmacological Society, Vol. 1. Symp. on Pharmacological Agents and Biogenic Amines in the Nervous System. (Gen. ed.: Knoll, J., ed.: Magyar, K., Akadémiai Kiadó, Budapest, pp. 107—122 (1973).
Maitre, L.: in Monoamine Oxidase and its Inhibition. CIBA Foundation Symposium 39 (new series) Elsevier. Excerpta Medica. North Holland. Amsterdam. Oxford. New York, pp. 16—31 (1976).
Maitre, L., Delini-Stula, A. és *Waldmeier, P. C.:* in Monoamine Oxidase and its Inhibition. CIBA Foundation Symposium 39 (new series) Elsevier. Excerpta Medica. North Holland. Amsterdam. Oxford. New York. pp. 247—270 (1976).
Maycock, A. L., Abeles, R. H., Salach, J. I. és *Singer, T. P.:* in Monoamine Oxidase and its Inhibition. CIBA Foundation Symposium 39 (new series). Elsevier. Excerpta Medica. North Holland. Amsterdam. Oxford. New York. pp. 33—47 (1976).
Minkowski, O.: Arch. f. exper. Path. u. Pharmakol. **17,** 445 (1883).
Neff, N. H. és *Goridis, C.:* Adv. Biochem. Psychopharmacol. **5,** 307 (1972).
Neff, N. H., Yang., H.—Y. T. és *Goridis, C.:* in Frontiers in Catecholamine Research, Pergamon Press. pp. 133—137 (1973).
Neff, N. H. és *Yang, H. Y. T.:* Life. Sci. **14,** 2061 (1974).
Neff, N. H. és *Fuentes, J. A.:* in Monoamine Oxidase and its Inhibition. CIBA Foundation Symposium 39 (new series) Elsevier. Excerpta Medica. North Holland. Amsterdam. Oxford. New York. pp. 163—179 (1976).
Oreland, L.: in Monoamine Oxidase and its Inhibition. CIBA Foundation Symposium 39 (new series) Elsevier. Excerpta Medica. North Holland. Amsterdam. Oxford. New York. pp. 16—31 (1976).
Plotnikoff, N., Huang, J. és *Havens, P.:* J. Pharm. Sci. **52,** 172 (1963).
Prockop, D. J., Shore, P. A. és *Brodie, B. B.:* Ann. N. Y. Acad. Sci. **80,** 643 (1959).
Saavedra, J. M.: J. Neurochem. **22,** 211 (1974).
Sabelli, H. C. és *Mosnaim, A. D.:* Am. J. Psychiat. **131,** 695 (1974).
Sabelli, H. C., Vazquez, A. J. és *Flavin, D.:* Psychopharmakologia **42,** 117 (1975).
Schmiedeberg, O.: Arch. f. exper. Path. u. Pharmakol. **8,** 1 (1877).
Schmiedeberg, O.: Arch. f. exper. Path. u. Pharmakol. **14,** 379 (1881).
Schnaitman, C., Erwin, V. G. és *Greenwelt, J. W.:* J. Cell. Biol. **34,** 719 (1967).
Schoepke, H. G. és *Sweet, L. R.:* in Antihypertensive agents. (Ed. Schlittler, E.) Academic Press. New York. pp. 393—428 (1967).
Severina, I. S.: Europ. J. Biochem. **38,** 239 (1973).
Sharman, D. F.: in Monoamine Oxidase and its Inhibition. CIBA Foundation Symposium 39 (new series) Elsevier. Excerpta Medica. North Holland. Amsterdam. Oxford. New York. pp. 203—229 (1976).
Shee, J. C.: Brit. Med. J. **2,** 507 (1960).
Shulgin, A. T., Sargent, T. és *Naranjo, C.:* Nature **212,** 1606 (1966).
Snyder, S. H., Fischer, J. és *Axelrod, J.:* Biochem. Pharmacol. **14,** 363 (1965).
Spector, S., Prockop, D., Shore, P. A. és *Brodie, B. B.:* Science **127,** 704 (1957).
Squires, R. F.: Adv. Biochem. Psychopharmacol. **5,** 355 (1972).
Szára, S.: Experientia **12,** 441 (1956).
Szára, S.: Arch. Gen. Psychiatry **15,** 320 (1960).
Taborsky, R. G. és *McIsaac, W. M.:* Biochem. Pharmacol. **13,** 531 (1964).
Tedeschi, D. H., Tedeschi, R. E. és *Fellows, E. J.:* J. Pharm. Exp. Ther. **126,** 223 (1959).
Tipton, K. F.: Monoamine oxidase in Handb. of Physiology, Section 7: Endocrinology. Vol. 6: Adrenal Gland (Eds. Blaschko, H., Smith, A. D.) Raven Press, N. Y. and North Holland. Amsterdam. pp. 667—691 (1975).
Tipton, K. F., Houslay, M. D. és *Mantle, T. J.:* in Monoamine Oxidase and its Inhibition. CIBA Foundation Symposium 39 (new series) Elsevier, Excerpta Medica. North Holland. Amsterdam. Oxford. New York. pp. 5—13 (1976).
Tringer, L., *Haits, G.* és *Varga, E.:* Societes Pharmacologica Hungarica. Vth Conferentia Hungarica pro Therapis et Investigatione in Pharmacologia. (Ed. Leszkovszky, R. P.) pp. 111—114. Publishing House of the Hungarian Academy of Sciences. Budapest. (1971).
Varga, E. és *Tringer, L.:* Acta. Med. Acad. Sci. Hung. **23,** 289 (1967).
Williams, C. H.: Biochem. Pharmacol. **23,** 615 (1974).
Willner, J., LeFebre, H. F. és *Costa, E.:* J. Neurochem. **23,** 857 (1974).
Yang, H. Y. és *Neff, N. H.:* J. Pharmacol. Exp. Therap. **187,** 365 (1973).

Yang, H. Y. T. és *Neff, N. H.:* J. Pharm. Exp. Ther. **189,** 733 (1974).
Yasanobu, K. T. és *Oi, S.:* Adv. Biochem. Psychopharmacol. **5,** 91 (1972).
Youdim, M. B. H.: Br. Med. Bull. **29,** 120 (1973).
Youdim, M. B. H., Birkmayer, W. és *Riederer, P.:* in Problems in Extrapyramidal Disorders. Advences in Neurology (Eds. Trabucchi, M. and Spano, P.) Raven Press, N. Y. (1977) in press
Zeller, E. A.: Helv. Chim. Acta **21,** 881 (1938).
Zeller, E. A., Barsky, J., Fouts, J. R., Kirchheimer, W. F. és *Van Orden, L. S.:* Experientia **8,** 349 (1952).
Zeller, E. A. és *Barsky, J.:* Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **81,** 459 (1952).
Zirkle, C. L. és *Kaiser, C.:* in Psychopharmacological agents. (Ed. Gordon, M.) Academic Press, N. Y. and London. pp. 445—554 (1964).

Semmelweis Orvostudományi Egyetem I. sz. Kórbonctani Intézet és III. sz. Sebészeti Klinika, Budapest

A HEISTER-BILLENTYŰ (VALVULA SPIRALIS) NYÁLKAHÁRTYÁJÁNAK TRANSMISSIÓS ÉS SCANNING ELEKTRONMIKROSZKÓPOS VIZSGÁLATA CHOLELITHIASISBAN

RÉPÁSSY GÁBOR, SCHAFF ZSUZSA, az orvostudományok kandidátusa, LAPIS KÁROLY, az MTA levelező tagja, MARTON TIBOR, az orvostudományok kandidátusa, JAKAB FERENC és SUGÁR ISTVÁN

Közlésre érkezett: 1977. IV. 9.

Bevezetés

Laurens Heister 1732-ben írta le az epehólyag ductus cysticusában a későbbiekben róla elnevezett billentyűt (Heister 1732), mely az anatómiai tankönyvekből valvula spiralis, illetve plica spiralis néven ismeretes és feltehetően a hólyagba be- és kimenő epeáramlás szabályozásában játszik szerepet (Kiss 1963). Az epekő-képződés mechanizmusában az elsődleges tényezőt az epe összetételének kóros elváltozásában látják (Small 1967, Admirand, Small 1968, Sugár és mtsai 1976 Megjelenés alatt). Az epekövek túlnyomórészt epehólyagon belüli előfordulása viszont arra is felhívja a figyelmet, hogy a lithogen epe képződése mellett az epehólyag teltsége, kiürülési viszonyai fontos szerepet játszhatnak a kőképződésben (Sugár és mtsai 1976, megjelenés alatt). Felvetődik az a lehetőség, hogy számos egyéb tényező mellett az epehólyag teltségét befolyásoló Heister-billentyű kóros elváltozásai ugyancsak elősegítik az epepangást, ill. annak fokozódását, így az epekőképződésben a primaer tényezők mellett súlyosbító szerepet játszhat. Ezért indokoltnak látszanak azok a vizsgálatok, melyek a Heister-billentyű kevéssé ismert, finom szerkezetére és kóros elváltozásaira vonatkoznak. Jelen munkánkban epeköves és epebetegségtől mentes betegek Heister-billentyűjének párhuzamos fény-, transmissiós és scanning elektronmikroszkópos vizsgálatáról számolunk be.

Anyag és módszer

38 cholelithiasis miatt műtétileg eltávolított emberi epehólyagból és azok ductus cysticusából nyertük az anyagot. A Heister-billentyűn látható kezdeti elváltozások vizsgálata volt a cél, ezért hártyás falú, nem lobos, nem hydropsos epehólyagok ductus cysticusai kerültek feldolgozásra. Több esetben a billentyű elszakadt, ezért a továbbiakban csak 24 készítmény vizsgálatát végeztük, mely a preparálás során sérülés-mentes maradt. Összehasonlítás céljára 5 esetben 12 órán belül boncolásra került — epekövesség és máj-

betegségben nem szenvedő — tetemből nyertünk anyagot. A fixálást Na-cacodilattal pH 7,4-re pufferelt 2 1/2 %-os Glutaraldehyddel végeztük, majd utófixáltuk 2 %-os OsO_4-dal, Palade szerint (Palade, 1952). Transmissiós elektronmikroszkópos (TEM) vizsgálat céljára dehydrálás után az anyagot Durcupan ACM-be (Fluka) ágyaztuk. Fénymikroszkópos vizsgálatra a félvékony metszeteket Toluidin-kékkel festettük. Az ultravékony metszeteket uranylacetáttal és ólomcitráttal kontrasztoztuk (Reynolds, 1963). Scanning elektronmikroszkópos (SEM) vizsgálatra az anyagot a kritikus pont (Schaff és mtsai 1974) módszerével szárítottuk. Felragasztás után az anyag felszínét 200—300 Å vastagságú aranyréteggel fedtük. A felvételek JEM 100 B elektronmikroszkóppal készültek transmissiós üzemmódban 60 kV gyorsító feszültséggel, valamint JSM — 50A scanning elektronmikroszkóppal 20 kV gyorsító feszülséggel.

Eredmények

A Heister-billentyű nyálkahártyáját az epehólyaghoz hasonló epithel sejtek borítják. A fénymikroszkópos felvételeken megfigyelhető, hogy a hámsejtek nagy része világos, oszlopszerű, ún. columnáris epithel sejt (1., 3. ábra). Közöttük kevesebb számban keskenyebb, megnyúltabb, sötét cytoplasmájú, pálcika alakú, ún. pencil sejtek és a basalmembránhoz simuló basalis sejtek is megfigyelhetők (3. ábra). Az oszlopszerű sejtek haránt metszetei lépesmézszerű képet nyújtanak.

Scanning elektronmikroszkóppal kis nagyítást használva jól követhető a ductus cysticus lumenébe beemelkedő, kígyószerűen tekergő billentyű, mely epithellel borított (5. ábra). A nagyítást növelve a nyálkahártya redőzöttsége szembetűnő. A felvételeken elkülöníthetők a szederszerűen összeilleszkedő epithel sejtek, melyek felszínét a transmissiós elektronmikroszkópos képnek megfelelően microvillusok borítanak (4. ábra). A nyálkahártya sérüléseinél készült oldal irányú felvételeken a sejtek lateralis felszíne és egymáshoz való viszonya térben is jól megfigyelhető (6., 7. ábra).

Nagyobb nagyítással a szétvált sejtfelszínek mentén hernyószerű kitüremkedések láthatók (9. ábra), melyek feltehetően a transmissiós felvételeken megfigyelt villiform interdigitatiók eredményei (8. ábra).

Transmissiós elektronmikroszkópos vizsgálattal jól látható, hogy az epithel sejtek konvex felszínét többnyire változó számban microvillusok borítják. A szomszédos sejtek összefekvő felszínén interdigitáló sejtkapcsolatok figyelhetők meg, melyeket a lumen felé desmosomák zárnak le (2., ábra). A basalmembrán közelében, elsősorban a sötétebb sejtek között, az interdigitatiók villiform jellegűek (8. ábra). A mitochondriumok többnyire subapicalisan, a kerekded nyálka granulumok és multivesicularis testecskék apicalisan helyezkednek el (2. ábra).

A hullai anyag vizsgálatánál mind a billentyűt, mind a epehólyagot bélelő hámot épnek találtuk. A műtéti preparátumokon az epehólyag hámja épsége mellett a Heister-billentyűn minden esetben változó nagyságú, többnyire kis kiterjedésű, hámfosztott területeket figyelhetünk meg a környezettől élesen elhatároltan (6., 7. ábra). Ezen apró erosiók alapja egyenetlen, széli részein duzzadt, szabálytalanul összeilleszkedő hámsejtek, nyák és vörösvértestek láthatók (6. ábra). A hámfosztott területeket nagyobb számban a billentyű tetején, kisebb számban annak mindkét oldalán észleltük.

Megbeszélés

Az epehólyag nyálkahártyája epithel sejtjeinek finomszerkezetével az utóbbi években számos közlemény foglalkozik, elsősorban egyes állatfajok eseteiben (Hayward: 1962, Hayward: 1966, Kaye és mtsai: 1966, Wahlin és mtsai: 1974). Az emberi epehólyag ultrastruktúráját is leírták normál és kóros állapotban (Evett és mtsai: 1964, Chapman és mtsai: 1966, Häkkinen, Laitio 1970, Vox: 1972, Laitio, Nevalainen: 1972, Laitio, Nevalainen: 1972, Nevalainen, Laitio: 1972, Luciano, Wolpers: 1973, Luciano és mtsai: 1974, Schaff és mtsai: 1974, Laitio, Nevalainen: 1975, Laitio, Nevalainen: 1975).

Az elmúlt években a mucosa scanning elektronmikroszkóposan is észlelhető elváltozásairól, acut fekélyek kialakulásáról és a chronicus cholecystitis felszíni képéről is beszámoltak (Schaff és mtsai: 1974). A Heister-billentyű ultrastruktúrájának leírására vonatkozóan nem találtunk adatot az irodalomban. A klasszikus hisztológiai leírások ismertetik, hogy az epehólyag nyálkahártyája folytatódik a ductus cysticusban és a plica spiralist borító epithelben (Kiss: 1963). Ultrastrukturális megfigyeléseink igazolják a fénymikroszkópos megállapítást. Az epehólyag nyálkahártyájára jellemző 3 sejttípust; a világos oszlop alakú, a sötét pálcikaszerű és basalis sejteket a plica nyálkahártyájában is megtaláljuk. A nyálkahártya redőzöttsége és szederszerű képe, mely az epehólyag scanning elektronmikroszkópos felvételein olyan jellegzetes (Schaff és mtsai: 1974), a billentyű mucosáján is megfigyelhető.

Érdekes megfigyelés az epithel sejtek laterális felszínén scanning elektronmikroszkóposan látható hernyószerű nyúlványok képe, melyre vonatkozóan irodalmi utalást nem találtunk. Véleményünk szerint ezek a szétvált epithel sejtek interdigitáló sejtkapcsoló struktúrája nyúlványainak felelnek meg.

Nem meglepő, de érdekes adat, hogy a cholelithiasisos betegek makroszkóposan hártyás falú epehólyagjának Heister-billentyűin állandó jelleggel észleltünk hámfosztott területeket. Ezen hámhiányokat elsősorban a billentyű tetején észleltük, kevésbé az oldalakon. A jelenség, hasonló az epehólyag nyálkahártyáján kialakult változó nagyságú hámhiányokhoz, melyet acut cholelithiasis esetén írtak le (Schaff és mtsai: 1974). Kialakulásának mechanizmusára két magyarázat lehetséges. Felmerül, hogy az epehólyag köves

elváltozása kapcsán az epével ürülő kisebb kőrészletek „durvábbá" teszik az epét, mely így mechanikus úton sérti a plica nyálkahártyáját. Ezt a feltételezést igazolná, hogy a legsúlyosabb elváltozásokat a billentyű tetején találjuk, mely a mechanikus ártalmaknak legjobban kitett. A másik lehetséges magyarázat, hogy az epekövesség kapcsán megváltozott belső miliő a nyálkahártya fiziológiás állapotát is befolyásolja, és a csökkent „ellenállás" multiplex billentyű erosiókban is kifejezésre jut.

Jelen vizsgálati anyagunkban szándékosan az epekövesség kapcsán esetlegesen létrejövő kezdeti elváltozások regisztrálására törekedtünk, ezért csak hártyás falú epehólyagokat dolgoztunk fel. Eredményeink felhívják a figyelmet arra, hogy az epekövesség kialakulásában, illetve a folyamat súlyosbodásában az epeelvezető rendszer egészét kell vizsgálnunk, hiszen a nyálkahártya elváltozások nem csak a hólyagra lokalizálódnak. Az epehólyag hámbélését épnek találtuk, a billentyűn jól körülírt hámfosztott területeket észleltünk. A billentyű nyálkahártyájának, feltehetően kezdeti elváltozásai, circulus vitiosust hozhatnak létre oly módon, hogy a gyulladt, későbbiekben hegessé váló billentyű akadályozhatja az epe kiürülését. Így, ha nem is döntő tényezőként, de hozzájárulhatnak az epepangás fokozásához.

Összefoglalás

Szerzők 24 cholecystectomiával eltávolított hártyás falú epehólyagból és 5 epebetegségtől mentes hullai esetben vizsgálták az epehólyagot és a ductus cysticusban levő valvula spiralist (Heister) borító epithelt fény, transmissiós és scanning elektronmikroszkóppal. Megállapították, hogy a Heister-billentyűt borító hám felszíni struktúrája az epehólyag hámbélésére emlékeztető, szederszerű és jellegzetes redőzöttségű. Cholelithiasis esetén minden esetben nagy számban észleltek a billentyűkön apró hámfosztott területeket, erosiókat, mely esetekben az epehólyag hámbélése máshol még épnek bizonyult. Újonnan észlelt elváltozásként leírták, hogy scanning elektronmikroszkópos vizsgálat során a szétvált epithel sejtek lateralis felszínén hernyószerűen kiemelkedő nyúlványok láthatók, melyek feltehetően a transmissiós elektronmikroszkóppal észlelhető interdigitáló sejtkapcsoló struktúráknak felelnek meg.

IRODALOM

Admirand, W. H. és *Small, D. M.:* J. Clin. Invest. **47,** 1043 (1968).
Chapman, G. B., Chiarodo, A. J., Coffey, R. J. és *Wienete, K.:* Anat. Rec. **154,** 579 (1966).
Evett, R. D., Higgins, J. A. és *Brown, A. L.:* Gastroenterology, **47,** 47 (1964).
Fox, H.: J. Pathol. **108,** 157 (1972).
Hayward, A. F.: J. Anat **96,** 227 (1962).
Hayward, A. F.: J. Anat. **100,** 245 (1966).
Heister, L. Tomus 1, 2. Norimbergae-Altorfi 1732. Ch. Weber.
Häkkinen, I. és *Laitio, M.:* Arch. Pathol., **90,** 137 (1970).

Kaye, G. I., Wheeler, H. O., Whitlock, R. T. és *Lane, N.:* J. Cell Biol., **30,** 237 (1966).
Kiss, F.: Rendszeres Bonctan. Medicina. Budapest, 274 p. (1963).
Laitio, M. és *Nevalainen, T.:* J. Anat. **120,** 105 (1975).
Laitio, M. és *Nevalainen, T.:* J. Anat. **120,** 219 (1975).
Laitio, M. és *Nevalainen, T.:* Z. Anat. Entwicklungsgesch. **136,** 319 (1972).
Laitio, M. és *Nevalainen, T.:* Z. Anat. Entwicklungsgesch. **136,** 326 (1972).
Luciano, L., Reale, E. és *Walpers, C.:* Histochemistry **38,** 57 (1974).
Luciano, L. és *Wolpers, C.:* Virch. Arch. **14,** 147 (1973).
Nevalainen, T. és *Laitio, M.:* Virch. Arch. Abt. B. **10,** 237 (1972).
Palade, G. E.: J. Exp. Med. **95,** 285 (1952).
Reynolds, E. W.: J. Cell Biol. **17,** 208 (1963).
Schaff, Zs., Lapis, K. és *Csikós, A.:* Orvostudomány **25,** 303 (1974).
Schaff, Zs., Lapis, K. és *Irene, K. Berezesky:* Orv. Hetil. **115,** 1263 (1974).
Small, D. M.: Gastroenterology, **52,** 607 (1967).
Sugár, I., Jakab, F., Ondrejka, P. és *Krasznai, A.:* Magy. Seb. (1976). (Megjelenés alatt!)
Wahlin, T., Bloom, G. D., Carlsöö, B.: Histochemistry. **42,** 119 (1974).

Semmelweis Orvostudományi Egyetem Gyógyszertani Intézet,
Budapest

A PARA-BRÓM-METILAMFETAMIN (V-111) OPTIKAI IZOMÉRJEINEK HATÁSA A KÖZPONTI IDEGRENDSZER NEUROKÉMIAI TRANSZMISSZIÓJÁRA

MAGYAR KÁLMÁN az orvostudományok kandidátusa, TEKES KORNÉLIA
és KNOLL JÓZSEF az MTA levelező tagja.

Közlésre érkezett: 1977. IV. 15.

A metilamfetamin származékok kémiai szerkezete és hatása közötti összefüggések tanulmányozása során, a hatvanas évek közepén, arra a következtetésre jutottunk intézetünkben, hogy a nagyobb amfetamin dózisok központi idegrendszeri zavart okozó hatása szerotonerg mechanizmuson keresztül valósul meg (Knoll és mtsai 1965, 1966, 1972a). A vizsgálatok azt is bizonyították, hogy az amfetamin para-halogenálása fokozza az LSD-szerű pszichés zavart, és ez a hatás főleg egy új vegyület, a p-Br-metilamfetamin (V-111) esetében kifejezett. A V-111 már kis dózisban, egytized LSD-szerű hatást váltott ki (Knoll és Vizi 1970). Az általa okozott pszichés zavar és a szerotonerg mechanizmus közötti összefüggést, többek között az is bizonyítja, hogy p-Cl-fenilalanin (PCPA) előkezeléssel, vagyis a szerotonin (5-HT) szintézisének gátlásával sikerült kivédeni a V-111-kezelés hallucinogén hatásait állatkísérletekben (patkány, macska, nyúl; Knoll és Vizi 1970).

Eredményeink támogatták mások adatait, akik a hallucinogén effektus kiváltásában a fenilalkilamin struktúra p-szubsztitúciójának jelentőségét hangsúlyozták (Shulgin 1963, 1964; Smythies és mtsai 1967; Snyder és Faillace 1967), valamint azokét akik arra a következtetésre jutottak, hogy az ismert hallucinogének hatásában a szerotonin felszabadítás is szerepet játszik (Woolley 1962). Mások azt is bizonyították, hogy az LSD és más hallucinogének megváltoztatják az 5-HT szintézisét a központi idegrenszerben (Diaz és mtsai 1968; Tonge és Leonard 1969; Sanders-Bush és Sulser 1970; Sanders-Bush és és Bushing 1971; Sunders-Bush és mtsai 1975).

Farmakológiai vizsgálataink eredménye alapján 1970-ben kezdtük el a V-111 szerotonerg hatásainak biokémiai elemzését. Megállapítottuk, hogy a krónikus V-111 kezelés 50 %-ra csökkenti az agykéreg 5-HT tartalmát (Knoll és Magyar 1971), valamint gátolja az 5-HT neuronális visszavételét (reuptake) patkányagy szinaptoszóma preparátumon (Magyar 1972; Knoll és mtsai 1972, 1973). Kísérleteink bizonyították, hogy a V-111 sokkal erősebben és szelektívebben gátolja az 5-HT, mint a noradrenalin (NA) felvételét és a gátlás tartósan fennáll a V-111-gyel egyszer kezelt állatokban, annak ellenére, hogy *in vitro* kísérletekben a gátlás kompetitív, reverzibilis jellegűnek látszott

(Knoll és mtsai 1972, 1973; Magyar és Knoll 1974; Magyar és mtsai 1976). Megállapítottuk továbbá, hogy a V-111 a NA-nál erősebbben, de az 5-HT-nál gyengébben gátolja a dopamin (DA) felvételét is (Magyar és Knoll 1975 a,b,c,d; Tekes és mtsai 1975).

Jelen kutatásainkban kiterjesztettük vizsgálatainkat a V-111 sztereoizomerek hatásaira az uptake területén és vizsgáltuk, hogy a vegyület hogyan befolyásolja egyes biogén aminok felszabadulását és szintézisét a központi idegrendszerben. Biokémiai vizsgálatainkat különösen facilitálta az a kísérletes eredmény, hogy a V-111 javítja a patkányok tanulási készségét különböző viselkedési tesztekben (Knoll 1974; Knoll B. és mtsai 1974; Knoll B. 1976).

Kísérleti állat, vizsgálati anyagok és módszerek

Kísérleti állat: A kísérletekhez 100 ± 10 g-os CFY specifikációjú hím patkányokat használtunk (LATI). Az állatokat standard laboratóriumi táplálékon tartottuk, vizet szabadon fogyasztottak.

A kísérletekben használt radioaktív jelzett vegyületek: Dopamin-2-^{3}H.HCl (^{3}H-DA), specifikus aktivitás: 2,3 Ci/mmol, Amersham; (±)-Noradrenalin-7-^{3}H (^{3}H-NA), specifikus aktivitás: 12 Ci/mmol, Amersham; 5-hidroxitriptamin-^{3}H (G) kreatininszulfát, (^{3}H-5-HT), specifikus aktivitás: 18 Ci/mmol, Amersham; (±)-1-/4-brómfenil/-2-metilaminopropán.HCl-/-metil-^{3}H), (^{3}H-V-111), specifikus aktivitás: 282,0 mCi/mmol, (^{3}H-V-111); 1-fenil-2-metilaminopropán.HCl -(2-^{3}H), (^{3}H-MA), specifikus aktivitás: 690,0 mCi/mmol, (^{3}H-MA). A két utóbbi vegyület a Gyógyszerkutató Intézet Radiokémiai Laboratóriumában Bánfi Dezső vezetése mellett készült.

A kísérletekben használt inaktív vegyületek: A 2-amino-4-hidroxi-6-metil-tetrahidropterint (6-MPH_4, biopterin) E.M. Gál ajándékozta (Devision of Neurochemistry, Department of Psychiatry, University of Iowa College of Medicine, Iowa City, Iowa). A (+) és (−) -p-klórfenilalanint (PCPA) az MTA Peptidkémiai Munkacsoportja készítette, Teplán István vezetésével. A p-brómfenilalanint (PBrPA), a p-fluorfenilalanint (PFPA) és a p-jódfenilalanint (PJPA) a Kossuth Lajos Tudományegyetem Szerveskémiai Intézetében, Dinya Zoltán szintetizálta.

Agyszövet szinaptoszóma-preparátum biogén amin felvételének vizsgálata

A biogén aminok szinaptoszómális felvételét (uptake), patkányagy szinaptoszóma-preparátumon vizsgáltuk Snyder és Coyle módszerével (1969), az aminok (5-HT, NA, DA) magas specifikus aktivitású, ^{3}H-jelzett módosulatainak segítségével. A radioaktív szubsztrátok végkoncentrációja 10^{-7} M volt.

A felvételt Krebs-Henseleit pufferben, 37,5 °C-on, 5 percig mértük és az 15 percig lineáris volt. A módszer leírói szerint 15 perces inkubációs időtartam alatt a felvett radioaktív aminok több mint 85 %-a még nem metabolizálódik a szövetekben (Snyder és Coyle 1969). Az inkubáció befejeztével a szinaptoszómális frakciót 48,000 g-vel 30 percig centrifugáltuk (MSE *Super Speed 65*) és a felülúszó, valamint az üledék radioktivitását folyadék-szcintillációs módszerrel határoztuk meg (Intertechnique, SL 40). A folyadék-szcintillációs mérések eredményeit a konstans hatásfok miatt nem abszolút aktivitásban, hanem cpm-ben adtuk meg.

A felvétel mértékéül a centrifugális üledéknek a médiumhoz viszonyított koncentrálási képessége (R) szolgált, ami a cpm/g szinaptoszóma és a cpm/ml felülúszó hányadosa.

A szinaptoszómális amin-felvétel gátlását a kontrol százalékában adtuk meg. Kísérleteinkben a kontrol és a gátlószeres minták 37,5 °C-nál kapott R értékeiből levontuk a 4 °C-os inkubációnál észlelt R értéket és csak a különbséget vettük figyelembe a gátlási százalék kiszámításánál.

Néhány kísérletben az uptake vizsgálata során alkalmazott kísérleti körülmények között a triciált biogén aminok helyett, ^{3}H-V-111-et, illetve ^{3}H--MA-t használtunk és meghatároztuk 4 és 37°-on, 5 perc alatt a jelzett vegyületek „szinaptoszómális felvételét", illetve a szövet és az inkubációs oldat között kialakuló koncentrálási indexet.

Az agyszövet szinaptoszóma preparátum biogén amin felszabadításának (release) vizsgálata

A biogén aminok gyógyszerhatásra bekövetkező felszabadulását patkányagy szinaptoszóma preparátumából Ferris és mtsai módszerével tanulmányoztuk (1972). CFY patkányok agykérgéből készített szinaptoszóma preparátumot először 2.10^{-7} M ^{3}H-jelzett szubsztráttal (5-HT, NA,DA) 37 °C-on, 15 percig inkubáltuk, majd a centrifugálással ülepített (48,000 g, 30 perc) és újra szuszpendált szinaptoszóma frakció gyógyszerhatásra bekövetkező radioaktív amin-leadását határoztuk meg. A gyógyszerhatásra bekövetkező felszabadítás mértékét százalékban adtuk meg, levonva az aminok spontán felszabadulását. Az eredményt 5 kísérlet átlagából számítottuk.

5-HT és az 5-hidroxiindolecetsav (5-HIAA) koncentrációjának meghatározása agyszövetben

Az 5-HT és 5-HIAA koncentrációját patkány agyszövetben Miller és munkatársai módszerével határoztuk meg (1970). A fluoreszcenciát Hitachi MPF-4 típusú spektro-fluoriméterrel határoztuk meg. Az aktivációs, illetve emissziós hullámhossz 360, illetve 470 mμ volt.

II. táblázat

(+)-V-111 hatása patkányagy szinaptoszóma-preparátumának ^{3}H-5-HT felvételére különböző ^{3}H-5-HT koncentráció mellett

^{3}H-5-HT M.	Gátlás a kontrol %-ában ± S.E.M.		
	10^{-6}M	10^{-5} M	10^{-4}M
1×10^{-7}	47,40±2,50	53,20±2,08	60,80±1,86
2×10^{-6}	0	21,75±2,77	29,83±1,56

mellett, meghatároztuk a szinaptoszómális frakció V-111-re és MA-ra kialakuló koncentrálási indexét (III. táblázat).

Az eredmények azt mutatják, hogy a két amfetamin származék, különösen a V-111, jelentősen koncentrálódik a szinaptoszómális frakcióban. A koncentrálási arány (R) — vagyis a szövetben, illetve az inkubációs médiumban mért V-111, illetve MA mennyiségének aránya — nem függ a vegyületek koncentrációjától, de kismértékben változik a hőmérséklettel. Az utóbbi eltérés felvételi mechanizmus szempontjából lényeges lehet, mint erre a következő fejezetben visszatérünk. A III. táblázat adatai alapján a 37 °C-on mért koncentrálási indexek a 4 °C-on mért értékeknek V-111, ill. NA esetében 1,3 — ill. 1,5-szörösei.

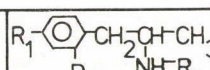
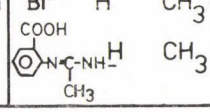
III. táblázat

A ^{3}H-V-111 és a ^{3}H-MA szinaptoszomális „felvétele" különböző hőmérsékleten patkánykísérletekben

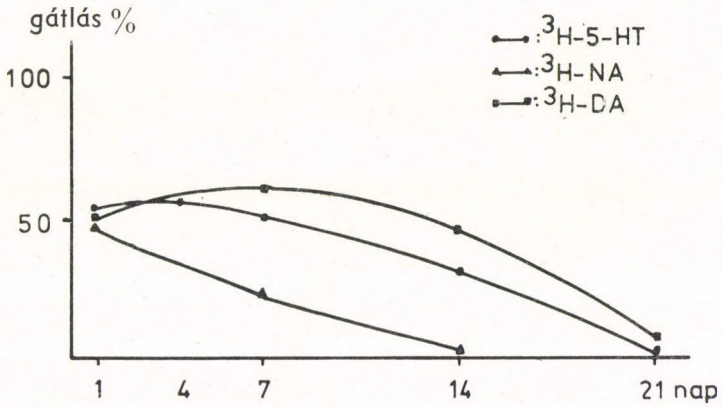
Inkubációs hőmérséklet	Vegyület	R ± S.E.M.		
		10^{-7}M	$5\cdot10^{-7}$M	10^{-6}M
37 °C	^{3}H-MA	19,26±2,48	18,73±1,18	17,27±1,02
	^{3}H-V-111	199,02±14,02	205,17±8,51	194,84±9,66
4 °C	^{3}H-MA	13,76±1,61	11,78±0,81	11,27±1,03
	3H-V-111	154,78±12,6	146,07±9,61	164,44±15,31

$$\text{R (koncentrálási index)} = \frac{\text{koncentráció/g szövet}}{\text{koncentráció/ml inkubációs oldat}} \text{ (5 perces kísérleti periódus alatt)}$$

A biogén aminok felvételének gátlása *in vitro* kísérletekben kompetitív és reverzibilis jellegű. Ha azonban a patkányokat egyszeri dózisban, 15 mg/kg V-111-gyel kezeltük (s.c.), és ezután mértük a transzmitterek felvételét — különböző idővel a gyógyszeres kezelés után — azt találtuk, hogy a felvételgátlás rendkívül tartós. A ^{3}H-5-HT és a ^{3}H-DA felvétele kb. három, a ^{3}-H-NA-é pedig két hét elteltével regenerálódik (2. ábra). A ^{3}H-DA felvételét akut kísérletben (1. ábra) az amfetamin gátolja a legerősebben a kísérleteinkben használt vegyületek közül. A kialakuló gátlás azonban — szemben a V-111 hatásával — csak

VEGYÜLETEK				Szinaptoszómális felvétel gátlása ID_{50} µM		
	R_1	R_2	R_3	^{3}H-5HT	^{3}H-DA	^{3}H-NA
Amfetamin	H	H	H	>100	4,23	–
Metilamfetamin	H	H	CH_3	>100	>100	–
o-Br-Metilamfetamin	H	Br	CH_3	28	54,4	–
p-F-Amfetamin	F	H	H	10	48,7	–
p-Cl-Metilamfetamin	Cl	H	CH_3	4	–	–
[+]-p-Br-Metilamfetamin	Br	H	CH_3	1,03	6,61	40,1
[–]-p-Br Metilamfetamin	Br	H	CH_3	1,19	86,9	>100
I-1703			CH_3	>100	—	—

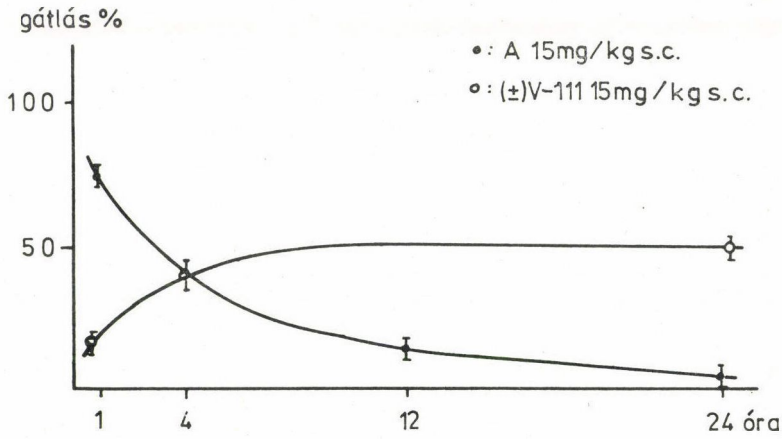
1. ábra. Amfetamin-származékok hatása *in vitro*, a ^{3}H-5-HT a ^{3}H-DA és a ^{3}H-NA agyi szinaptoszómális felvételére, patkánykísérletekben. Az ID_{50} értéket 4 különböző gátlószer-koncentrációnál végzett 5 kísérlet eredményéből, a regressziós egyenes meghatározása után számítottuk.



2. ábra. Akut V—111 kezelés (15 mg/kg, s. c.) hatása a ^{3}H-5-HT a ^{3}H-DA-és a ^{3}H-NA agyi szinaptoszómális felvételére, patkánykísérletekben. Az értékeket 3 kísérlet átlagából számítottuk

rövid tartamú, és már 24 órával teljesen el is múlik az amfetamin kezelés után (3. ábra).

A V-111 amin-felvételre kifejtett gátló hatásán túl megvizsgáltuk a vegyület amin-felszabadító (release) hatását is. A IV. táblázat adataiból látható, hogy sem a V-111, sem a metilamfetamin, sem a p-F-amfetamin nem szabadít fel számottevő mennyiségű 5-HT-t a szinaptoszóma preparátumból, és a



3. ábra. Akut amfetamin (A) és V—111 kezelés hatása a ^{3}H-DA agyi szinaptoszómális felvételére, patkánykísérletekben. Az értékeket 3 kísérlet átlagából számítottuk.

V-111 sztereoizomerek e tekintetben is egyforma hatást mutatnak. A tiramin az 5-HT-t is jobban felszabadítja a szinaptoszóma preparátumból, mint az amfetamin-származékok. A vizsgálatban alkalmazott vegyületek a ^{3}H-NA felszabadítására is gyengén hatnak, de (+)-V-111 módosulat szignifikánsan hatásosabb. A (+)-V-111 a ^{3}H-DA felszabadításában is erősebb, mint a (—)-forma, és mind a (+)-V-111, mind a metilamfetamin erősebben hat a DA, mint az 5-HT felszabadítására. A vizsgált amfetaminok azonban még a DA felszabadításában sem érik el a tiramin ilyen irányú hatáserősségét.

IV. táblázat

Amfetamin-származékok hatása a ^{3}H-5-HT, ^{3}H-NA és ^{3}H-DA felszabadulására (release)

Vegyület 10^{-6}M	Felszabadulás a szinaptoszómális amintartalom százalékában ± S.E.M.		
	^{3}H-5-HT	^{3}H-NA	^{3}H-DA
(—)-V-111	5,8±0,5	2,1±0,24	4,8±0,7
(±)-V-111	5,9±0,8	3,5±0,5	8,0±1,0
(+)-V-111	4,7±0,6	3,7±0,7*	9,6±0,7*
Metilamfetamin	5,2±0,5	4,7±0,8	8,8±0,8
p-F-amfetamin	3,0±0,2	1,2±0,1	4,1±0,2
Tiramin	7,9±0,8	10,9±0,5	12,2±0,8

* A (+) és (—) módosulatok hatásában észlelt különbség szignifikáns: $p < 0{,}05$
A szignifikanciát a Student t-teszttel számítottuk.

A korábbiakban leírtuk, hogy a V-111 kezelés tartósan csökkenti az agykéreg 5-HT szintjét (Knoll és Magyar 1971; Magyar és mtsai 1972; Magyar 1972; Knoll és mtsai 1972, 1973), jelen kísérleteinkben azonban bizonyítottuk,

hogy az egyszeri kezelés is elég ahhoz, hogy a 5-HT koncentrációja tartósan lecsökkenjen a kéregben (V. táblázat). Négy óra múlva már körülbelül 50 %-os szerotonin koncentrációt találtunk a kéregben és 72 óra múlva is ez 30 %-nak adódott, vagyis semmiféle restitúciós törekvést nem észleltünk.

Az agytörzsi koncentráció is lecsökken a kezelés hatására (4 óra múlva 70%-os a szint), azonban hamar megindul bizonyos regenerációs törekvés az 5-HT szint rendezésére, és 72 óra múlva már 80%-os agyi szintet mértünk.

V. táblázat

Az 5-HT koncentrációjának változása patkányagykéregben és -agytörzsben V-111 előkezelés után

V-111 előkezelés órában	agykéreg		agytörzs	
	μg/g szövet ± S.E.M.%		μg/g szövet ± S.E.M.%	
0	0,76±0,23	100,0	2,01±0,21	100,0
4	0,36±0,03	47,3	1,40±0,08	69,6
24	0,50±0,02	65,7	1,58±0,17	78,6
48	0,41±0,06	53,9	1,38±0,27	68,6
72	0,23±0,03	30,3	1,66±0,50	82,5

Az 5-HT koncentrációjának tartós csökkenése alig képzelhető el a triptofán-5-hidroxiláz, vagyis az 5-HT szintézisének gátlása nélkül. Ezért megvizsgáltuk a V-111, ill. a sztereoizomerek hatását az agytörzs T-5-H aktivitására. A kéreg enzimaktivitását még a biopterin kofaktor használata mellett sem tudtuk eddig megbízhatóan meghatározni.

A VI. táblázat azt mutatja, hogy a V-111 és sztereoizomerjei *in vitro* egyformán és nagyon gyengén gátolják a T-5-H aktivitását. Még 10^{-3} M-os koncentrációban sem számottevő (30%) a gátlás. Különösen szembetűnő ez, ha összehasonlítjuk a PCPA hatásával, ami 10^{-3} M-ban 70% gátlást eredményez

VI. táblázat

A V-111 sztereoizomerek hatása a triptofán-5-hidroxiláz aktivitására patkányagytörzs homogenizátumon in vitro kísérletekben

V-111, M.	(±)-V-111		(—)-V-111		(+)-V-111	
	Aktivitás	%-os gátlás	Aktivitás	%-os gátlás	Aktivitás	%-os gátlás
0	4,4±0,09	0	4,4±0,09	0	4,4±0,09	0
10^{-6}	4,0±0,28	9	3,9±0,19	11	4,3±0,22	2
10^{-5}	3,8±0,20	14	3,6±0,81	18	3,8±0,16	14
10^{-4}	3,0±0,19	32	3,1±0,17	29	3,3±0,09	25
10^{-3}	2,7±0,19	39	2,5±0,21	43	2,7±0,22	39

Aktivitás: nmol/óra/mg fehérje ± S. E. M.

(VII. táblázat). Mivel a PCPA sztereoizomerek is rendelkezésünkre állottak, ezért a VII. táblázat adatai azt is bizonyítják, hogy a PCPA sem sztereospecifikusan gátolja a T-5-H, a nem sztereospecifikus amin szintézisét végző enzim aktivitását. Erre vonatkozóan nem ismerünk más adatot az irodalomban.

VII. táblázat

A PCPA sztereoizomerek hatása patkányagytörzs triptofán-5-hidroxiláz aktivitására

PCPA, M.	(—)-PCPA		(+)-PCPA	
	Aktivitás ± S.E.M.	%-os gátlás	Aktivitás ± S.E.M.	%-os gátlás
0	4,56±0,05	0	4,56±0,05	0
10^{-7}	4,35±0,08	4,61	4,42±0,07	3,07
10^{-6}	4,16±0,06	8,77	4,20±0,08	7,89
10^{-5}	3,49±0,04	23,46	4,09±0,12	10,31
10^{-4}	2,42±0,07	46,93	2,23±0,07	51,10
10^{-3}	1,44±0,04	68,42	1,28±0,19	71,93

Aktivitás: nmol/mg fehérje/óra ± S.E.M.

A PCPA hatáserőssége *in vitro*, ha meg is haladja a V-111-ét, más enzimek hatásos bénítóihoz viszonyítva ennek a hatása sem drámai, hiszen 10^{-7} M koncentrációban praktikusan még hatástalan. Kísérleteinkben megvizsgáltuk más para-halogenált fenilalaninok hatását is az agytörzs T-5-H aktivitására. Közülük csak a PJPA rendelkezik csekély hatással. A p-Br- és p-F-származékok hatástalanok (VIII. táblázat).

VIII. táblázat

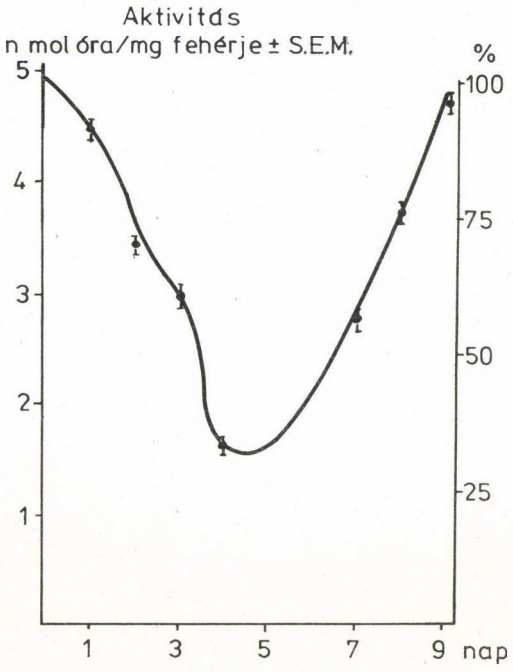
Para-szubsztituált fenilalanin-származékok hatása patkányagytörzs homogenizátum triptofán-5-hidroxiláz aktivitására in vitro kísérletekben

M	PBrPA		PFPA		PJPA	
	Aktivitás	%-os gátlás	Aktivitás	%-os gátlás	Aktivitás	%-os gátlás
0	11,6±1,66	0	11,6±1,66	0	11,6±1,66	0
10^{-7}	11,7±1,43	0	11,5±1,74	0,9	11,4±1,61	1,7
10^{-6}	12,1±1,94	0	11,8±1,84	0	9,5±1,94	18,1
10^{-5}	12,4±1,76	0	11,4±2,54	1,7	7,3±0,97	37,1
10^{-4}	10,8±1,47	7,0	9,7±1,66	16,4	5,4±0,6	53,4

Aktivitás: mol/óra/mg fehérje ± S.E.M.

A V-111 ha gyengén gátolja is *in vitro* a T-5-H aktivitását, *in vivo* kezelés után jelentősebb a gátlás. Ha a patkányokat 15 mg/kg V-111-gyel kezeltük (s.c.), és különböző ideig tartó előkezelés után mértük az enzim aktivitását, azt találtuk, hogy a 4. napig egyre fokozódik a gátlás, majd ekkor fordulat áll be, és a

9. napra, a kezelés ellenére, kontrol enzimaktivitást kapunk (4. ábra). A patkányok az enzimaktivitás mérésének a napján, a dekapitálás előtt egy órával is kaptak V-111-et. 9 napos kezelést követően az agytörzsben kontrol szint fölé nem emelkedik az enzim aktivitása.



4. ábra. Krónikus V—111 kezelés (15 mg/kg/nap, s. c.) hatása patkányagytörzs triptofán-5-hidroxiláz aktivitására. A patkányokat 1 órával a dekapitálás előtt a kísérlet napján is kezeltük

Az eredemények megbeszélése

A p-halogenált amfetamin származékok erősen és szelektíven gátolják a ^{3}H-5-HT szinaptoszómális felvételét. Eredményeinkből kitűnik, hogy a szelektivitás és a hatáserősség szempontjából a p-Br-szubsztitúció látszik legkedvezőbbnek.

A NA felvételi mechanizmusában Iversen neuronális ($uptake_1$) és extraneuronális ($uptake_2$) felvételt különböztet meg (1967). Az előbbi mechanizmust a NA alacsony (0,1—1,0 μg/ml) az utóbbit a magas (2—40 μg/ml) koncentrációja teliti. Hasonló folyamatról számoltak be mások az 5-HT felvételét illetően is (Shaskan és Snyder 1970; Wong és mtsai 1973). Kísérleteinkben a V-111 10^{-6} M koncentrációja nem gátolta 2.10^{-6} M ^{3}H-5-HT felvételét, míg ugyanez a dózis 50 %-os gátlást váltott ki a szokásosan alkalmazott 10^{-7} M

5-HT jelenlétében. Ez a tény arra utal, hogy a V-111 az 5-HT felvételének a nagy affinitású, neuronális folyamatát gátolja szelektíven.

A V-111 sztereoizomerek az optikai centrummal nem rendelkező 5-HT felvételét egyforma erősen gátolják, míg a (+) izomer jobban hat a NA felvételére. A sztereoizomerek nem mutattak eltérő hatást az 5-HT szintézisének gátlásában (T-5-H gátlás) és az 5-HT felszabadításában sem. A sztereoszelektivitásra vonatkozó eredményeink jól egyeznek Snyder és mtsai (1970) kísérleteivel és következtetéseivel, akik az (–)-NA felvételét (+)-amfetaminnal jobban tudták gátolni, mint az (–)-módosulattal.

A felvételi mechanizmus sztereoszelektivitása ellen szól az az észleletünk, hogy a (+)-V-111 a DA felvételét és felszabadítását is jobban befolyásolja, pedig a DA-nak — az 5-HT-hoz hasonlóan — szintén nincs optikai centruma. Az ellentmondás felveti annak a lehetőségét, hogy a DA — legalább részben — a nem sztereoszelektív 5-HT mechanizmus útján is bejut a szerotonerg végkészülékbe és főleg ezt a folyamatot gátolja a V-111. Ezért gátolhatja jobban a V-111 a DA, mint a (–)-NA felvételét. Gondolni kell azonban arra a lehetőségre is, hogy részben a DA béta-hidroxilációja is végbemehet az inkubáció során, minek révén a DA noradrenalinná alakul.

Kísérleteinkben bizonyítottuk, hogy a szinaptoszóma preparátum koncentrálja magában a triciált V-111-et és MA-t. Mivel a vegyületek különböző koncentrációi nem befolyásolják a kialakuló koncentrálási indexet, a szinaptoszóma frakcióban kialakuló koncentráció elsősorban passzív eloszlás eredménye lehet. E mellett szól az is, hogy a MA-nál 8-szor lipoidoldékonyabb V-111 (Magyar és mtsai 1977) ér el magasabb koncentrációt a szinaptoszóma frakcióban. Mivel azonban a 37 °C-on mért koncentrálási indexek mintegy 1,3—1,5-ször magasabbak a 4 °C-nál mérteknél, csak további kísérletek — így az eloszlás hőmérséklet-függésének, ill. az aktív felvétel aspecifikus gátolhatóságának vizsgálata — zárhatnák ki a MA és V-111 aktív felvételének lehetőségét. Aktív felvételük jól magyarázná a biogén aminok felvételének kompetitív gátlását *in vitro* kísérletekben. A p-Cl-amfetamin esetében mások is bizonyították a vegyület jelentős akkumulációját patkányagy homogenizátum szinaptoszóma frakciójában (Wong és mtsai 1972).

A V-111 patkányoknak egyszer beadva (s.c.), tartósan — hetekig — csökkenti az agyi 5-HT szintjét és felvételét. Hasonló adatokról számolnak be mások a p-Cl-amfetamin és a p-Cl-metilamfetamin esetében is (Sanders – Bush és mtsai 1975). A tartós 5-HT-szint csökkenésében mindenképpen szerepe lehet a T-5-H enzim tartós gátlásának is (Gál 1972). Az *in vitro* észlelt, kompetitív jellegű, akut amin-felvétel gátlása (Knoll és Magyar 1971, Magyar 1972, Knoll és mtsai 1972) egyszerűen az aminoknak a V-111-gyel történő kompetíciójával magyarázható, az 5-HT- szint csökkenése pedig a felvétel-gátlás, a kiváltott kisméretű release és a szintézisgátlás együttes hatásának következménye lehet. Ezek a jelenségek időben jól korrelálnak a V-111 szervezetbeni

sorsával, kiürülési félidejével (Magyar és mtsai 1977). Az 5-HT felvételének tartós gátlása és szintjének tartós csökkenése azonban inkább azzal magyarázható, hogy a V-111 vagy annak metabolitjai, tartós elváltozást (károsodást) okoznak a szerotonerg idegvégződésekben. Ennek következménye még akkor is fennáll, amikor a V-111 már kiürült a szervezetből.

A patkánykísérletekben észlelt biokémiai módszerekkel bizonyított tartós V-111 hatások kiváltásában a metabolitokra azért is gondolunk, mert a p-halogén-szubsztitúció miatt az amfetamin természetes, fő metabolikus útja a p-hidroxiláció (Dring és mtsai 1966) nem mehet végbe, hanem a lebontás nem természetes útra terelődik (Magyar és mtsai 1977). Ennek főbb lépései a demetiláció, az oxidatív-dezamináció, majd további oxidatív és reduktív lépések, konjugáció vezetnek a p-bróm-benzoesavhoz, illetve a p-bróm-hippursavhoz. Hasonló átalakulásról számolnak be Sanders-Bush és mstai (1974) a p-Cl-amfetamin és p-Cl-metilamfetamin esetében. Az általunk identifikált metabolitokon túl mód lehet olyan, kovalens kötésekre hajlamos metabolitok képződésére is (epoxid, hidroxilamin), melyek felelősek lehetnek az axonok degenerációjáért. Ezek képződésére fokozott lehetőséget nyújt az is, hogy a V-111 koncentrálódik az idegvégződésekben, amit direkt kísérlettel is igazoltunk. A hatásért felelőssé tehető metabolit létét direkt módon még senki sem igazolta. Smith és mtsai (1974) a p-Cl-norefedrinről és a p-Cl-pszeudonorefedrinről — melyek a p-Cl-amfetamin metabolitjai — bizonyította, hogy nem váltanak ki hasonló hatást. A V-111 tartós hatásában a biokémiai elemzések alapján joggal feltételezhető a citotoxikus hatásmód, ennek direkt bizonyítása azonban csak hisztológiai vagy elektronmikroszkopos vizsgálatokkal lehetséges.

Külön elemzést érdemel a p-halogenált amfetaminok triptofan-5-hidroxiláz aktivitására kifejtett hatása, mely *in vitro* alig, *in vivo* kifejezettebben érvényesül. A PCPA esetében Gál és mtsai (1970) bizonyították, hogy a halogenált aminosav beépül az enzimbe, és ezáltal hozza létre a tartós gátlást. Hasonló hatásmód nem volt bizonyítható a halogenált amfetaminok esetében (Gál 1972). Elképzelhető azonban, hogy a T-5-H tartós gátlása is kovalens kötésre képes metabolit hatásának a következménye (Gál 1972).

Tartós V-111 kezelés mellett mi a 8—9. napra az 5-HT neuronokban gazdag agytörzsekben a kezelés ellenére a T-5-H regenerációját észleltük. Az agytörzsben a regenerációt segítheti az, hogy tartós V-111 kezelés során fokozódik a vegyület metabolizmusa és a 16—17. napra a vegyület demetilációjának mintegy 3-szoros fokozódását észleltük patkányok máj-mikroszóma preparátumán. A V-111 fokozott metabolizmusa — ami indukció útján jön létre — fokozza a vegyület vizelet-ürítését is a patkányok szervezetéből (Magyar és mtsai 1977).

A V-111 kezelést követő tartós változások (5-HT felvétel-gátlás, szintcsökkenés, T-5-H-gátlás) kísérleteink szerint nem olyan tartósak (2—3 hét), mint azt a p-Cl-amfetamin esetében Sanders—Bush és mtsai leírták (1975). Kí-

sérleteikben három hónap múlva még 50 %-os felvétel- és szintézigátlásról számoltak be. A V-111 p-Cl-amfetaminhoz hasonló, de kevésbé tartós hatása miatt alkalmasabb eszköznek látszik a tartós hatások kialakulási mechanizmusának kisérletes elemzésére.

Összefoglalás

A p-szubsztituált amfetamin (A)-származékok (p-F-amfetamin, p-Cl-metilamfetamin, p-Br-metilamfetamin, V-111) szelektíven és erősen gátolják a szerotonin (5-HT) felvételét patkányagy szinaptoszóma preparátumon, *in vitro* kísérletekben. Azonos kísérleti feltételek mellett a dopamin (DA) felvételét az általunk vizsgált vegyületek közül az A gátolja a legerősebben. A halogenált A származékok is hatnak a DA és a noradrenalin (NA) felvételére, bár hatáserősségük elmarad az 5-HT felvételére kifejtett gátlás erősségétől.

A V-111 sztereoizomerjei egyformán gátolják az 5-HT szinaptoszómális felvételét, míg a NA és DA felvételére a (+)-V-111 hatása kifejezettebb. A V-111 *in vivo*, egyszeri kezelés után (15 mg/kg), irreverzibilisen gátolja a három amin felvételét, és a teljes regeneráció mintegy 3 hét múlva következik be. A ^{3}H-metilamfetamin (^{3}H-MA) és különösen a lipoidoldékonyabb ^{3}H-V-111 az inkubációs közeg koncentrációjához viszonyítva felhalmozódik a szinaptoszóma preparátumban. Valószínű, hogy a két vegyület ehhez a folyamathoz a biogén aminok aktív felvételi mechanizmusát veszi igénybe, és ezért alakul ki a kompetitív jellegű felvételgátlás az 5-HT, a DA és a NA esetében, *in vitro* kísérletekben.

A V-111 sztereoizomérjei egyformán kis mértékben szabadítanak fel 5-HT-t *in vitro* kísérletekben. A (+)-V-111 DA-felszabadító hatása erősebb és a (+)-módosulat hat jobban a NA felszabadítására is. Egyszeri kezelés után (15 mg/kg s.c.) a V-111 tartósan csökkenti a kéreg 5-HT koncentrációját, kevésbé kifejezett viszont ez a hatása az agytörzsre.

A V-111 és a p-Cl-fenilalanin (PCPA) sztereoizomerjei egyformán kis mértékben csökkentik a T-5-H enzim aktivitását *in vitro* kísérletekben, *in vivo* azonban jelentősen gátolják az enzimet. Tartós kezelés során a 8—9. napra, a naponta adott V-111 kezelés ellenére a T-5-H aktivitása az agytörzsben eléri a kontrol szintet.

Eredményeink azt bizonyítják, hogy a V-111 eltérően befolyásolja a kéreg és az agytörzs szerotonerg rendszerét. Ez arra enged következtetni, hogy a vegyület más módon hat a szerotonerg idegsejtekre, mint a szerotonerg idegvégződésekre. Az irreverzibilis hatások kialakulását a V-111 vagy inkább metabolitja által kiváltott kovalens kötés következményének tartjuk.

Kísérleteink azt bizonyítják, hogy az optikai centrummal nem rendelkező 5-HT központi idegrendszeri regulatív folyamatait — szintézis, felvétel, felszabadítás — a V-111 sztereoizomerek nem befolyásolják sztereoszelektíven.

IRODALOM

Diaz, P. M., Ngai, S. H. és *Costa, E.:* In: Advances in Pharmacol. **6,** Part B, p. 75 (1968).
Dring, L. G., Smith, R. L. és *Williams, R. T.:* J. Pharm. Pharmacol., **18,** 402 (1966).
Ferris, R. M., Tang, F. L. M. és *Maxwell, R. A.:* J. Pharmacol. exp. Therap., **181,** 407 (1972).
Gál, E. M., Roggeveen, A. E. és *Millard, S. A.:* J. of Neurochemistry **17,** 1221 (1970).
Gál, E. M.: In: Studiens of Neurotransmitters at the Synaptic Level (Eds: Costa, E., Iversen, L. L. és Paoletti, R.) Adv. Biochem. Psychopharmacol., Raven Press, New York **6,** 149 (1972).
Gál, E. M. és *Petterson, K.:* Anal. Biochem. **52,** 626 (1973).
Iversen, L. L.: In: The Uptake and Storage of Noradrenaline in Sympathetic Nerves, Cambridge Univ. Press, London, (1967).
Knoll, Berta, Held, Katalin és *Knoll, J.:* In: Symposium on Pharmacology of Learning and Retention, First Congr. of the Hung Pharmacol. Soc. Vol 4, (Ed: Knoll, Berta), Akadémiai Kiadó, Budapest, 43 (1974).
Knoll, Berta: Orvostudomány, **27,** 59 (1976).
Knoll, J., Vizi, E. S. és *Ecseri, Z.:* MTA V. Oszt. Közl., **16,** 227 (1965).
Knoll, J., Vizi, E. S. és *Ecseri, Z.:* Arch. Int. Pharmacodyn, **159,** 442 (1966).
Knoll, J. és *Vizi, E. S.:* Pharmacol. Res. Communications, **2,** 67 (1970).
Knoll, J. és *Magyar, K.:* In: Third Int. Meeting of the Int. Soc. for Neurochem. Budapest, Abstr. p. 231 (1971).
Knoll, J., Magyar, K., Vizi, E. S., Knoll, Berta, Török, T. és *Jóna Gabriella:* Orvostudomány, **23,** 99 (1972).
Knoll, J., Vizi, E. S. és *Magyar, K.:* In: Recent Developments of Neurobiology in Hung. **3,** Results in Neuroanatomy, Neurophysiology, Neurophathophysiology and Neuropharmacology, (Ed.: Lissák, K.) Akadémiai Kiadó, Budapest, 167 (1972a).
Knoll, J., Magyar, K., Vizi, E. S., Török, T., Sátory, Éva és *Jóna, Gabriella:* In: Symposium on Pharmacological Agents and Biogenic Amines in the Central Nervous System. First Congr. of the Hung. Pharmacol. Soc. Vol. **1,** (Ed.: Magyar, K.), Akadémiai Kiadó, Budapest, 13 (1973).
Knoll, J.: In: Symposium on Pharmacology of Learning and Retention, First Congr, of the Hung. Pharmacol. Soc. Vol. 4, (Ed.: Knoll Berta), Akadémiai Kiadó, Budapest, 73 (1974).
Lowry, O. L., Rosenbrough, N. J., Farr, A. L. és *Randall, R. J.:* J. Biol. Chem. **193,** 265 (1951).
Magyar, K., Sátory, Éva, Zsilla, Gabriella és *Knoll, J.:* In: Seventh Meeting of the Federation European Biochemical Soc. Várna, Abstr. No. 847 (1971).
Magyar, K.: Activ Nerv. Sup. **14,** 4 (1972).
Magyar, K. és *Knoll, J.:* In: Fifth Int. Congr. on Pharmacology, San Francisco, Abstr. No 865 (1972).
Magyar, K., Sátory, Éva, Jóna, Gabriella és *Knoll, J.:* Acta Physiol. Hung. **41,** 356 (1972).
Magyar, K. és *Knoll, J.:* Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmac. Suppl. 285, R-53 (1974).
Magyar, K. és *Knoll, J.:* In: Fifth Congr. of the Polish Pharmacol. Soc. Szczecin, Abstr. p. 35 (1975a).
Magyar, K. és *Knoll, J.:* In: Fifth Int. Meeting of the Int. Soc. for Neurochem. Barcelona, Abstr. No 444 (1975b).
Magyar, K. és *Knoll, J.:* Polish J. Pharmacol. Pharm., Suppl. **27,** 139 (1975 c).
Magyar, K. és *Knoll, J.:* In: Sixth Int. Congr. of Pharmacol. Helsinki, Abstr. No 372 (1975 d).
Magyar, K., Hajnal, L. és *Knoll, J.:* In: Monoaminergic Mechanisms in the Central Nervous System. Second Cong. of the Hung. Pharmacol. Soc. Vol. **3,** (Ed.: Magyar, K.), Akadémiai Kiadó, Budapest, 9 (1976).
Magyar, K., Tekes, Kornélia, Zólyomi, G., Szüts, T. és *Knoll, J.:* Orvostudomány, közlés alatt (1977).
Miller, F. P., Cox, R. H., Snodgrass, W. R. JR. és *Maickel, R. P.:* Biochem. Pharmacol. **19,** 345 (1970).
Sanders-Bush, E. és *Sulser, F.:* J. Pharmacol. exp. Therap., **175,** 419 (1970).
Sanders-Bush, E. és *Bushing, J. A.:* Fed. Proc. **30,** 381 (1971).
Sanders-Bush, E., Gallager, D. V. és *Sulser, F.:* In: Advances in Biochem. Psychopharmacol. Vol. **10,** (Ed.: Costa, E., Gessa, G. L. és Sandler, M.) Raven Press, New York, 185 (1974).
Sanders-Bush, E., Bushing, J. A. és *Sulser, F.:* J. Pharmacol. Exp. Therap., **192,** 33 (1975).
Shaskan, E. G. és *Snyder, S. H.:* J. Pharmac. Exp. Ther. **175,** 404 (1970).
Shulgin, A. T.: Experientia, 19, 127 (1963).
Shulgin, A. T.: Experientia, **20,** 366 (1964).

Ára: 27,— Ft ISSN 0030—6045

TARTALOMJEGYZÉK

Gegesi Kiss Pál: Az ember testi szervezetének és pszichikumának egymásra hatása és egymástól függése 141

Radnót Magda: A retinoblastoma histogenesise 167

Petri Gábor: A „paralytikus" ileus sympathicus idegrendszeri vonatkozásai 173

Kesztyűs Lóránd: A nyúl-IgG fragmentumainak biológiai jelentősége 203

Lapis Károly és Schaff Zsuzsa: A máj ultrastrukturális elváltozása konstitucionális (idiopátiás) nem hemolitikus hiperbilirubinémiákban 223

Knoll József: A mitokondriális monoaminooxidáz két fő típusa (MAO—A és MAO—B) és szelektív gátlóik 239

Répássy Gábor, Schaff Zsuzsa, Lapis Károly, Marton Tibor, Jakab Ferenc és Sugár István: A heister-billentyű (valvula spiralis nyálkahártyájának transmissios és scanning elektronmikroszkópos vizsgálata cholelithiasisban 259

Magyar Kálmán, Tekes Kornélia és Knoll József: A para-bróm-metilamfetamin (V—111) optikai izomérjeinek hatása a központi idegrendszer neurokémiai transzmissziójára 265

Megjelent: 1978. II. 28.

Index: 26.615

ORVOSTUDOMÁNY

SZERKESZTI: KNOLL JÓZSEF

28.
KÖTET

A MAGYAR TUDOMÁNYOS AKADÉMIA V. ORVOSI TUDOMÁNYOK OSZTÁLYÁNAK KÖZLEMÉNYEI

3–4.
SZÁM

AKADÉMIAI KIADÓ, 1977

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

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.

Semmelweis Orvostudományi Egyetem Érsebészeti Intézet, Budapest

ÚJABB ADATOK A HUMÁN VÉGTAGI-PERIPHERÁS KERINGÉS REGULÁCIÓJÁRÓL

(Végtagkeringés-vizsgálatok normális peripheriás érrendszer eseteiben)

SOLTI FERENC

Közlésre érkezett: 1977. II. 16.

A végtagi vérkeringés sajátságai, szabályozásának jellegzetességei korántsem teljesen ismertek. A végtagi-peripheriás érrendszer a szervezet másodrendű érpályája. A peripheriás keringés sajátosságát elsősorban két tényező okozza: 1. A végtagkeringésnek viszonylag nagy keringési tartaléka van, a vérkeringés általános szabályozásában ezért fontos szerepet játszik. 2. A végtagi keringés két eltérő struktúrájú, funkctiójú érterületből — izom és bőr — áll, a végtagi véráramlás alakulása e két rendszer keringés változásainak eredője.

Munkacsoportunk 15 éve végez végtagkeringés-vizsgálatokat. Ennek során tanulmányozzuk a human végtagkeringés szabályozásának sajátosságait. Jelen munkámban ezen vizsgálatok adatai alapján a végtagi keringésreguláció néhány fontos kérdéseit szeretném áttekinteni:

1. *Életkor* — 2. A *vérnyomás*változások — 3. A vér *viscositas* megváltozásának — 4. Az *izomtevékenység-*, *mozgás* — 5. *Anyagcsere*-változások — 6. Tartós *bradycardia* (keringés lassúbbodás) — és végül 7. *Perctérfogat*-változások szerepét a végtagi vérkeringés alakulásában.

Betegcsoport, vizsgálómódszerek

A végtagi vérkeringés normális jellemzőinek, paramétereinek meghatározására közel 100 keringési megbetegedésben nem szenvedő betegen végeztünk keringés vizsgálatokat. Ennek során a végtagi vérkeringés következő jellemzőit határoztuk meg: 1. végtagi véráramlás 2. végtagi vascularis ellenállás 3. végtagi szövetek O_2 felvétele 4. végtagi véráramlás perctérfogat-részesedése.

A végtagi véráramlás mérésére az ellenáramlásos venás izotóp-dilutiós módszerünk szolgált (Solti és mtsai (1966/a.). A módszer hibahatára: $< \pm 5\%$. Az arteria és vena femorális vérének oxygen-tartalmát érpunctióval történő vérvétel útján Kipp-féle oxymeterrel határoztuk meg. A perctérfogatot Evans kék i. v. adásával, festék dilutios elv alapján az arteria femoralisból 2"-ként levett vérmintákból határoztuk meg. A végtagi keringés vizsgálatára kivétele-

sen — speciális kérdések vizsgálatára — izom clearences és nitrogenoxydulos elven alapuló áramlásméréseket is alkalmaztunk [Solti és mtsai (1965)].

Valamennyi a munka tárgyát képező keringésvizsgálat ép végtagi érrendszer eseteiben, obliteratív peripheriás verőérbetegségben nem szenvedő betegben történt.

A végtagi vérkeringés normális értékei középkorú, keringési megbetegedésben, obliteratív verőérbetegségben nem szenvedő egyénekben méréseink alapján a következők:

Végtagi véráramlás: 360 ml/min. az egyik alsó végtagon.
Végtagi vascularis ellenállás: 22 600 dynsec cm.$^{-5}$
Végtagi O_2 felvétel: 14,0 ml/min.
Végtagi — egyik alsó — végtag *perctérfogat-részesedés:* 7,2%.

Az ábrákban szereplő rövidítések:

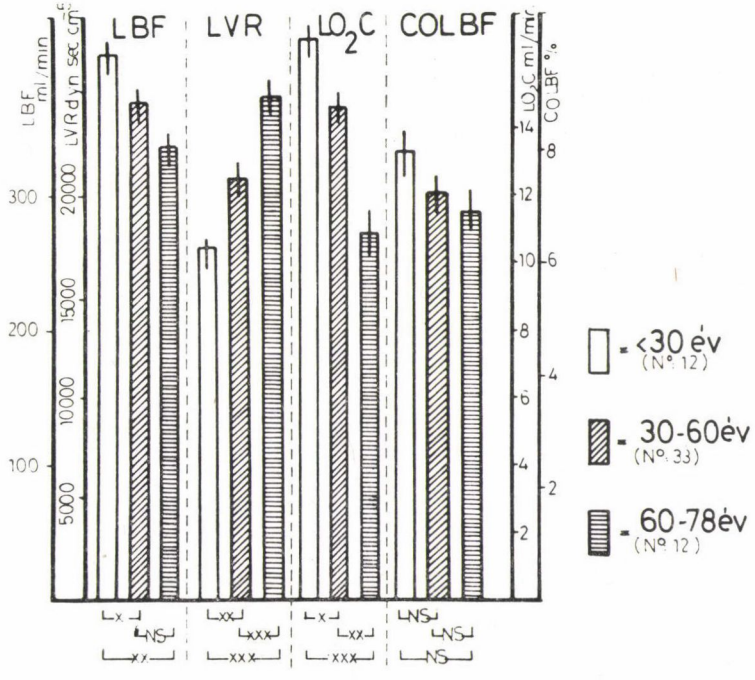
LBF	: végtagi véráramlás
LVR	: végtagi érellenállás
LO_2C	: végtagi O_2-felvétel
COLBF	: végtagi véráramlás perctérfogat-százaléka
MBP	: arteriás középnyomás
CO	: perctérfogat
TVR	: nagyvérköri összvascularis resistentia
NS	: nem sigficans változás $p > 0{,}05$
X	: $p < 0{,}05$
XX	: $p < 0{,}01$
XXX	: $p < 0{,}001$

A matematikai statisztikai analysisek a Student-féle egy-, illetve kétmintás *t* próba alapján történtek.

Vizsgálat tárgya, eredmények

Az életkor szerepe a végtagi vérkeringésben

Az általános vérkeringés, a szív teljesítőképessége és az erek elasticitása az életkor előrehaladtával változik. Várható ezért az, hogy a végtagi vérkeringés regulációja is bizonyos változást szenved az életkor változása során. E kérdés tanulmányozására 57 keringésileg egészséges egyénben végeztünk részletes keringés- és végtagi vérkeringés-vizsgálatokat. Közülük *12* beteg életkora 30 év alatt (15—29 év) volt, 33 beteg középkorú volt (30—60 év) és 12 az idősebb



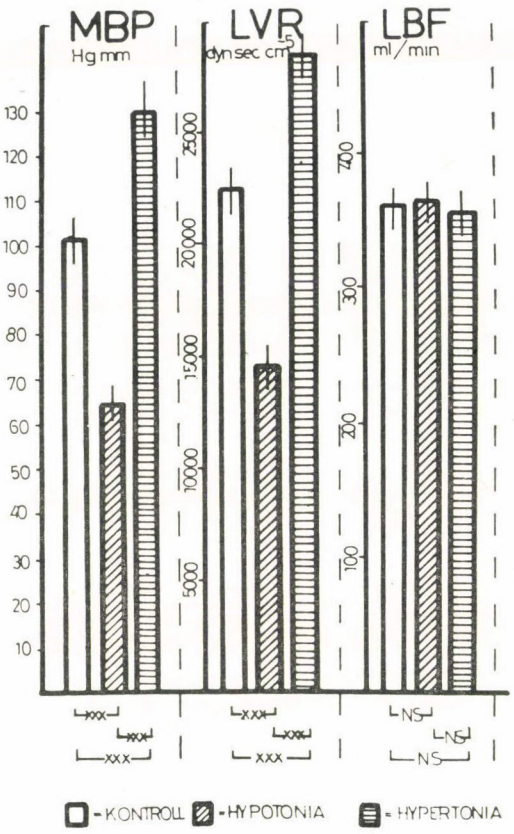
1. ábra.

korosztályhoz tartozott (60—78 év). Vizsgálataink legjellemzőbb adatait az 1. számú ábrán oszlopdiagramok segítségével tüntettük fel.

Amint látható, a kor előrehaladtával a végtagi vascularis ellenállás nő, csökken — kisebb mértékben — a végtagi véráramlás és a végtagi szövetek O_2 fogyasztása. Kiemelendő az, hogy a végtagi véráramlás perctérfogat részesedése az életkorral nem változik meg.

A végtagkeringés regulációja hypertóniában és hypotoniában

A peripheriás érterület autoregulació szempontjából az ún. „másodrendű" érterületek közé tartozik. Acut keringés és perfusiós nyomásváltozások ezért jelentős áramlásváltozást okoznak állatkísérletekben a végtagokban. Kérdéses volt azonban az, hogy a vérnyomás tartós változásai — hosszabb ideig fennálló hypertonia vagy hypotonia — hogyan befolyásolja a végtagi keringést és szöveti O_2-ellátást. A kérdést tanulmányozandó 11 tartós hypertoniában (neurogen, essentialis hypertonia) és 7 tartósan fennálló hypotoniában szenvedő betegen végeztünk részletes keringésvizsgálatokat. Eredményeinket a 2. számú ábrán szemléltetjük.

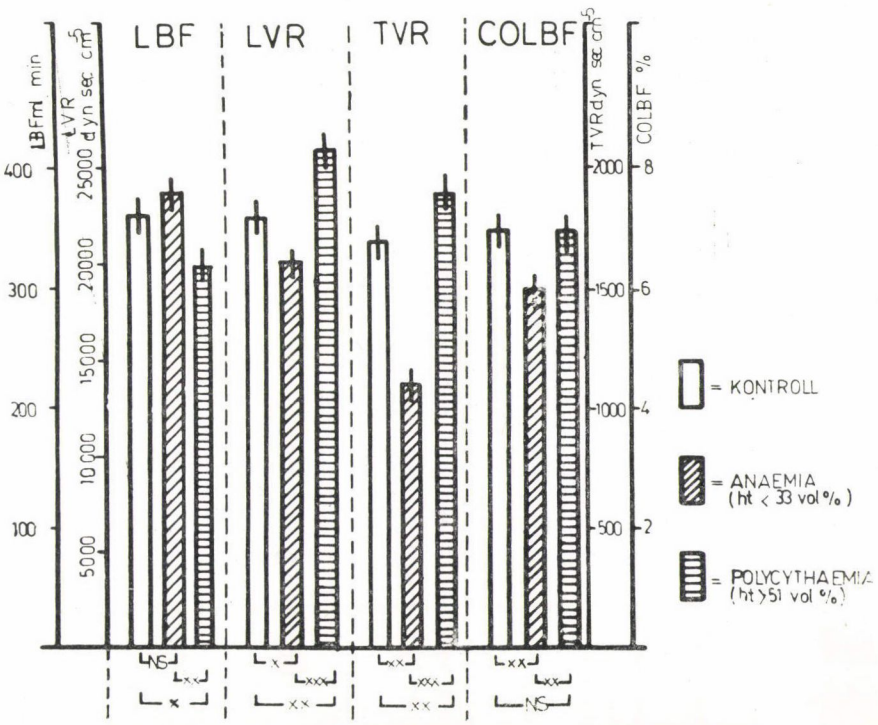


2. ábra.

Amint látható, a hypertoniás csoportban az átlagos középarteriás nyomás magas volt, a végtagi vascularis ellenállás significansan emelkedett. Hypotoniás betegekben alacsony végtagi vascularis ellenállást találtunk. A végtagi véráramlás nagysága mind a hypertoniás, mind a hypotoniás betegek eseteiben normális volt.

A vérviscositas változásának hatása a végtagkeringésre

A vérviscositas jelentős megváltozása — anaemia, polycythaemia — módosítja a vascularis ellenállást. A különböző érterületekben azonban eltérő lehet a vérviscositas keringéshatása. Tanulmányozni kívántuk ezért a végtagkeringés alakulását nagyfokú anaemia, illetve polycythaemia hatására. Részletes keringésvizsgálatokat végeztünk 12 anaemiában (haematokrit: <33 vol %) és 9 polycythaemiában (haematokrit: >51 vol %) betegben. Kont-



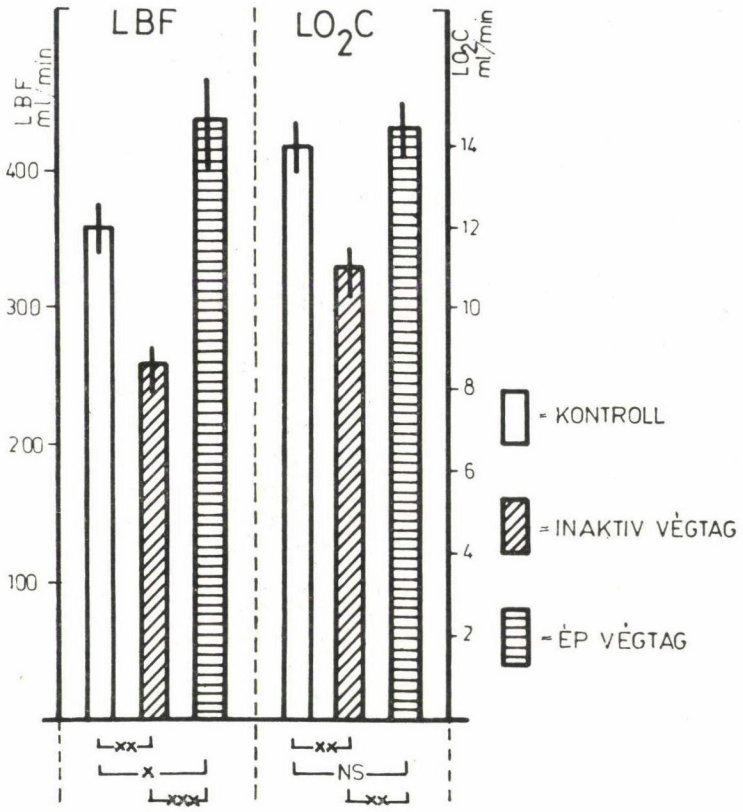
3. ábra.

rollként hasonló középkorú betegek adatai szolgáltak. Eredményeinket a 3. számú ábrán grafikusan tüntettük fel.

A vérviscositas növekedésére — polycythaemiában — a végtagi véráramlás kissé csökken, és megnő a végtagi érterület számított ellenállása. Anaemiában a végtagi vascularis resistentia kisfokú csökkenése észlelhető, de figyelemre méltó az, hogy ez relative jóval kisebb, mint a nagyvérköri összvascularis resistentia megkisebbedése. Kiemelendő az is, hogy anaemiában csökken a végtagi véráramlás perctérfogat-részesedése.

Inactivitas — mozgáshiány — hatása a végtagkeringésre

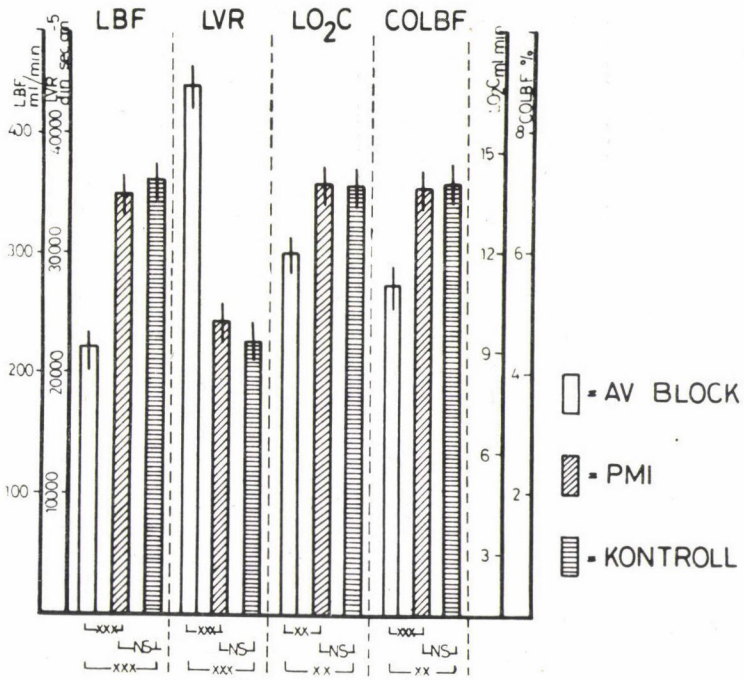
Ismeretes az, hogy az izom működését követő anyagcsere-változások az izomvérkeringés szabályozásának egyik fő tényezője. Tanulmányozni kívántuk azért azt, hogy az izomműködés tartós csökkenése — végtagi inactivitas — hogyan befolyásolja a végtagkeringést. A kérdés vizsgálatára olyan betegek látszottak alkalmasnak, akiknél az egyik alsó végtagon tartós izomactivitáscsökkenés állott fenn (csonttörést, polymyelitist követő inactivitas). 8 ilyen



4. ábra.

betegen végeztünk mindkét — ép és inactiv — alsó végtagon keringésvizsgálatot. Keringésvizsgálataink eredményét a normális kontroll csoport értékeivel is összehasonlítottuk. Legfontosabb adatainkat a 4. számú ábrán demonstráljuk.

Tartós inactivitas hatására a végtagi véráramlás és O_2-felvétel egyaránt jelentősen megkisebbedik. Érdekes fél oldali végtagi atrophiában az ellen oldali — ép — végtagon a végtagi véráramlás fokozódása. Mivel az inactiv végtag tömege, körfogata is csökken, elképzelhető lenne az, hogy a végtag tömegének a megkisebbedése okozza elsősorban az átáramló vér csökkenését. Ennek azonban ellene mondanak N_2O-s módszerrel — nutritív 100 g szövetre számított átáramlást mér — végzett kiegészítő vizsgálataink adatai. Inactiv végtagon 100 g szövetre számítva is csökkent a végtagi véráramlás és O_2-felvétel az ép végtaghoz képest.

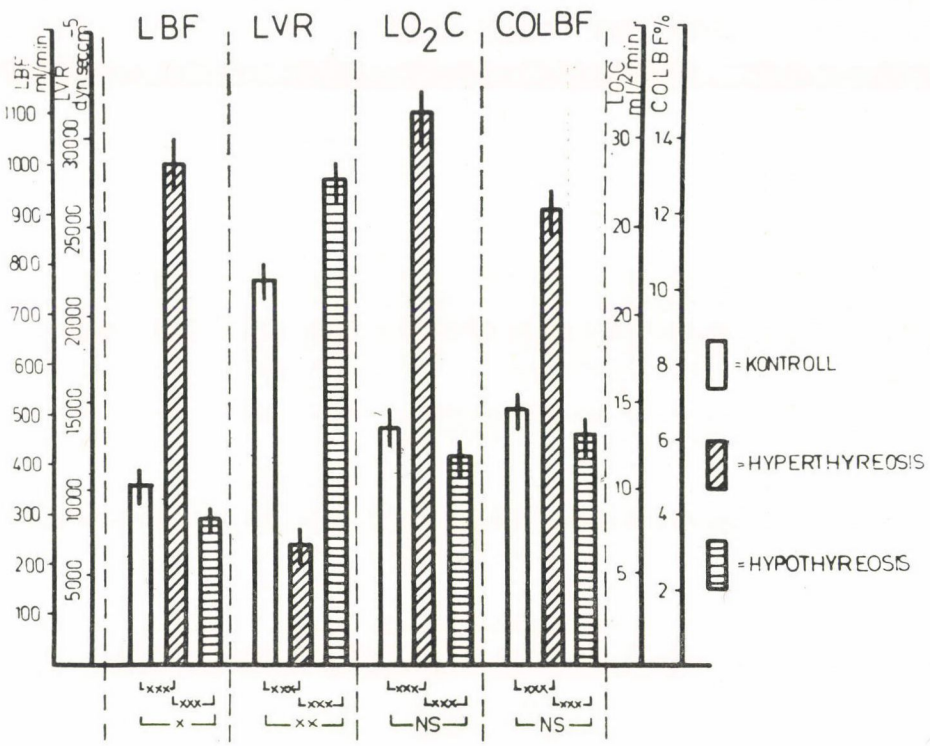


5. ábra.

Tartós bradycardia — keringéslassúbbodás — hatása a végtagkeringésre

Teljes pitvar-kamrai blockban — tartós bradycardiában — szenvedő betegeken gyakori panasz a végtagok fázékonysága, hűvössége, valamint izomgyengeség és járási claudicatio jelentkezése. Megfigyeléseink szerint a bradycardia megszűnése — pacemaker beültetés hatására — ezen végtagkeringési panaszok rendszerint megszűnnek. Vizsgálataink célja annak tanulmányozása volt, hogy hogyan változik meg, hogyan módosul a végtagi vérkeringés szabályozása atrioventricularis blockban. A feladat megoldására olyan betegek keringésvizsgálata látszott alkalmasnak, akiknél tartós nagyfokú bradycardia állott fenn, és akik ennek kezelésére pacemaker beültetésben részesültek. *10* pitvar-kamrai blockban szenvedő betegen végeztünk végtagkeringés-vizsgálatot pacemaker beültetés előtt és után. A szív-frequencia átlagosan 40/min volt a beültetés előtt, utána 70/min. Vizsgálataink legjellemzőbb eredményeit az 5. számú ábrán foglaltuk össze.

Tartós bradycardiában a végtagi véráramlás a normálisnál jóval kisebb; significansan csökken a végtagi szövetek O_2 felvétele és a végtagi keringés perctérfogat-részesedése. A végtagi vascularis resistentia jelentősen emelkedett. A bradycardia megszűntével a végtagi keringés normalizálódik.



6. ábra.

Human vizsgálataink eredményeit állatkísérleteink adatai is megerősítik. Művi av block hatására — kutyákban végzett vizsgálatok — az izom és bőr véráramlása és perctérfogat-részesedése nagy fokban csökken, pacemaker beültetésre pedig közel normálissá válik [Solti és mtsai (1969/b)].

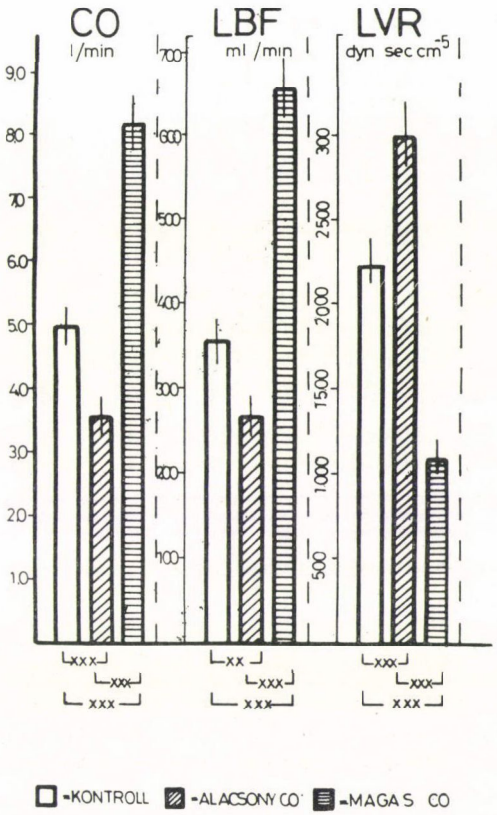
A végtagi vérkeringés változása hyperthyreosis, illetve hypothyreosis hatására

Régi megfigyelés az, hogy az alapanyagcsere fokozódására — hyperthyreosis — a végtagok bőre feltűnően meleg, csökkenésekor — hypothyreosis — pedig hideg. Ugyanekkor feltűnő az is, hogy hyperthyreosisban szenvedő betegeken izomgyengeség, járási fáradékonyság is jelentkezhet. A perctérfogat jelentős változásai is kísérik az alapanyagcsere változásait. Érdemesnek látszott ezért a végtagi keringés regulatiójának tanulmányozása, hyperthyreosis, illetve hypothyreosis hatására. 10 hyperthyreosisban és 8 hypothyreosisban szenvedő betegen végeztünk keringésvizsgálatot. Mind a klinikai kép, mind a laboratóriumi vizsgálatok — izotóp vizsgálatok — eredményei typusosak voltak mind a 18 esetben. A 6. számú ábrán ábrázoljuk vizsgálataink legfontosabb adatait.

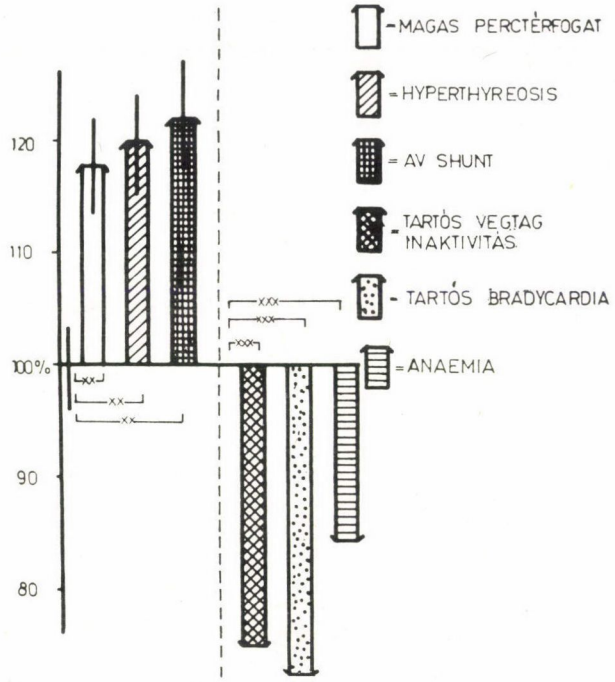
Amint látható a végtagi véráramlás nagyfokú növekedése és a vascularis resistentia nagymértékű csökkenése jön létre hyperthyreosis hatására. Feltűnő a végtagi szövetek O_2-felvételének igen erős növekedése. A hypothyreosisban a végtagi véráramlás kis fokban csökken, a vascularis ellenállás nagyobb mértékben növekszik.

A perctérfogat hatása a végtagkeringésre, a végtagi véráramlás perctérfogat-részesedése

A végtagi érterület autoregulatiója relative kicsi, ugyanakkor keringési tartaléka nagy. Várható volt tehát az, hogy a perctérfogat jelentős megváltozása befolyásolja a végtag keringését. Vizsgálatainkat 11 magas perctérfogatú (CO : >7,5 l/min) és 11 alacsony perctérfogatú (CO : <4,0 l/min) betegben végeztük. Eredményeinket grafikusan a 7. számú ábrán tüntettük fel.



7. ábra.



8. ábra.

A végtagi véráramlás magas perctérfogat eseteiben nagy és a végtagi vascularis ellenállás alacsony. Alacsony perctérfogat hatására a végtagi véráramlás jelentősen csökken, a végtagi vascularis resistentia megnő. Kiemelendő az, hogy a végtagi keringés perctérfogat-százaléka megnő magas perctérfogat eseteiben. Egy szerv, érterület keringésregulatiójának jellegzetes mutatója az illető érterület perctérfogat-részesedésének nagysága. Méréseink szerint a végtagi keringés perctérfogat-százaléka — az egyik alsó végtagra számítva: 7,2%.

Nagyszámú vizsgálataink szerint — normális végtagi érrendszer állapotában — a következő kórképekben változik meg jelentősen a végtagi véráramlás perctérfogat-részesedése: magas perctérfogat, hyperthyreosis, arteriovenosus shunt, tartós végtagi inactivitas, tartós bradycardia, anaemia. Eredményeinket a 8. számú ábrán ábrázoljuk, a normális végtagi véráramlás-fractiót 100%-nak vettük.

Amint látható, különösen megnő a végtagi véráramlás a perctérfogathoz viszonyítva végtagi arteriovenosus fistula hatására, míg különösen alacsony a végtagi véráramlás perctérfogat-százaléka tartós végtagi inactivitasban.

Megbeszélés

A végtagi véráramlás nyugalomban — basalis körülmények között — relative kicsi, méréseink szerint normálisan 360 ml/min az egyik alsó végtagon. Adataink jól egyeznek a festék dilutiós módszerrel, a thermodilutiós methodikával, valamint elektromagnetikus áramlásmérőfejjel történt mérések eredményeivel. 100 g szövetre átszámítva a végtagi áramlás 3—4 ml/min körüli, igen alacsony (az agyé pl. 50—60 ml/min). Alacsony a végtagi szövetek O_2 felvétele is. Ezzel ellentétben a bőr, de különösen az izom véráramlása az alapérték sokszorosára (tíz-, húsz-harmincszorosára) nőhet meleg vagy munkavégzés hatására. A végtag keringéstartaléka tehát igen nagy. A peripheriás — végtagi — érterület autoregulatiója relative kicsi. A fentiekből érthető egyrészt az, hogy a végtagi vérkeringésnek fontos szerepe van az általános keringésadaptatióban, másrészt az, hogy a systemás keringés változásai nagy fokban befolyásolhatják a végtagi véráramlást. Jelen vizsgálataink eredményei is azt bizonyítják, hogy a végtagi keringésregulatio megismeréséhez a végtagkeringés és systemás keringés együttes vizsgálata szükséges. Az életkor és a végtagkeringés közötti összefüggéseket többen tanulmányozták már. A szerzők többsége szerint a végtagi véráramlás az életkor növekedése során lényegesen nem változik meg. Erre utalnak: Allwood (1958), Hellon és Clarke (1958), Alexander és mtsai (1968), Lassen és mtsai (1964), Petersen és Schroeder (1971), Corpus és Hait (1973) adatai. Lindbjerg (1965), valamint Amery és mtsai (1969) vizsgálatai szerint azonban a végtagi keringés kissé változik az életkorral, idős korban csökken. A peripheriás keringés adaptatiójának idős kori csökkenésére utal az is, hogy a reaktív hyperaemia nagysága (hypoxia utáni áramlásnövekedés) idős egyéneken kisebb [Allwood (1958), Petersen és Schroeder (1971), Held és Schreier (1974)]. Megnehezíti a fenti, részben ellentmondásos adatok értékelését az hogy: 1. A vizsgálatok — végtagi áramlásmérések — nagyrészt korszerűtlen, nem eléggé megbízható methodikával történtek. 2. A vizsgált esetek száma kicsi, és nem történt válogatás a normális és pathologiás érrendszerű betegek között.

Vizsgálataink azt mutatják, hogy a végtagi véráramlás az életkorral keveset változik, de idősebb korban már a végtagi véráramlás csökkenése kimutatható. Még kifejezettebb a végtagi O_2-felvétel megkisebbedése idős egyénekben. Nagyon lényeges azonban az, hogy a végtagi vérkeringés perctérfogat-részesedése — az agyi keringéssel ellentétben — nem változik meg. A végtagi vérkeringés regulatiója tehát az életkor folyamán nem változik meg lényegesen. Az idősebb korúak végtagáramlásának csökkenésében minden bizonnyal szerepet játszanak az általános keringésváltozások is, elsősorban a perctérfogat csökkenése. A végtagi vascularis resistentia az életkorral fokozatosan nő, ennek fő oka — minden valószínűség szerint — az érrendszer fokozódó merevsége, keményedése.

A végtagkeringés szabályozásának fontos kérdése az, hogy hogyan alkalmazkodik a végtagkeringés a vérnyomás megváltozásához. Hypertoniában régóta vizsgálják a végtagi vérkeringés alakulását. A vizsgálók nagyobb része nem észlelt végtagkeringés-változást hypertoniás betegekben [Prinzmetal és Wilson (1936), Bock és mtsai (1956), Caliva és mtsai (1963), Overbeck és mtsai (1969)]. A szerzők kisebb része végtagi áramlásváltozást tapasztalt hypertonia hatására. Brod és mtsai (1959), valamint Amery és mtsai (1969) vizsgálatai szerint a végtagi véráramlás — főleg az izom véráramlása — megnő hypertoniában, míg Warembourg és mtsai (1974) hypertonia hatására a végtagi véráramlás csökkenését észlelték.

Hypotoniában végzett végtagi keringésvizsgálatok adatai is eléggé eltérőek. Weiss és mtsai (1937), valamint Frumin és mtsai (1953) hypotonia hatására peripheriás vasoconstrictiót észleltek. Eredményeikkel ellentétben Brigden és mtsai (1950), Sharpey-Schafer és mtsai (1950), Snell és mtsai (1955), Rothe és mtsai (1963) hypotoniában végtagi vasodilatatiót figyeltek meg. Tartós hypotonia hatására a végtagi erek sajátos reactióját, normálistól eltérő válaszát tapasztalták Bannister (1967), Gerhard és Smekal (1968), Epstein és mtsai (1968).

Kísérleteink arra utalnak, hogy tartós vérnyomásváltozás hatására a végtagi vascularis ellenállás jellegzetes módon megváltozik.

Hypertoniában megnő, hypotoniában nagy fokban csökken a végtagi vascularis resistentia. A resistentia ezen változásai adaptációs jellegűek, a végtagi véráramlás mind hypertoniában, mind hypotoniában normális szinten marad. A végtagi O_2-felvétel és a végtagi keringés perctérfogat-százaléka is normális értékűek. A végtagi keringés tehát mind tartós hypertonia, mind hypotonia kifejlődése után normális marad, csupán a végtagi vascularis resistentia változik meg. A végtagkeringésnek ez a jellegzetes alakulása az általános keringésszabályozással kapcsolatos összefüggéseket is sejtet. Hypertoniában, mint ismeretes, egy idő után az összvascularis ellenállás megnő; feltételezhető, hogy a végtagi vascularis resistentia növekedése ebben szerepet játszik. Hypotoniás betegek jelentős részében feltűnő a vérnyomás-adaptatio csökkenése, főleg állásra gyakori a jelentős vérnyomásesés, collapsus. A végtagi érrendszer a vérnyomás adaptatiójában normális vérnyomású egyénekben fontos szerepet játszik (pl. állásra a sympathicus közvetítésével vasoconstrictio jön létre az alsó végtagon). A végtagi vascularis alapresistentia csökkenése hypotonia hatására, magyarázattal szolgálhat a hypotoniás betegben észlelt vérnyomás-regulaciós zavaroknak (orthostatikus hypotonia).

A vér viscositas változásának — anaemia, illetve polycythaemia — a végtagkeringésre gyakorolt hatásáról feltűnően kevés adattal rendelkezünk. Anaemiában a totalis vascularis resistentia megkisebbedik, ebből egyesek arra következtetnek, hogy a végtagi érterület vascularis ellenállása is alacsony. [Graettinger és mtsai (1963), Murray és mtsai (1965)].

Polycythaemiában a totalis vascularis ellenállás növekedése a végtagi erek ellenállásának fokozódására utal [Convay (1966), Nagy és mtsai (1967)]. Daróczy és Nagy (1969), capillarmikroszkópos vizsgálataik során polycythaemiában szenvedő betegek végtagján (acrákon) a capillaris keringés meglassúbbodását észlelték. Állatkísérleteinkben — művi anaemia létrehozása kutyákban — anaemia hatására a végtagi izom és bőr véráramlásának növekedését tapasztaltuk [Solti és mtsai (1969/a)]. Bollinger és Lüthy (1968) a végtagi véráramlás növekedését találták plethysmographiás áramlásméréseik során.

Vizsgálataink szerint a vérviscositas megváltozása módosítja a végtagi keringést. Anaemiában megnő, polycythaemiában pedig csökken a végtagi véráramlás. Az érellenállás polycythaemiában jelentősen fokozódik, anaemiában csökken ugyan, de más érterületekhez képest a csökkenés kisfokú. Feltűnő az, hogy az anaemia az agyi vérkeringésre sokkal nagyobb hatást gyakorol mint a végtagi érterületre. Anaemia hatására az agyi véráramlás perctérfogatrészesedése megnő, míg a végtagé kifejezetten csökken. Az eddigi felfogás szerint az anaemia jobban befolyásolja a keringést, mint a polycythaemia. Úgy látszik, a végtagi érterület e téren kivétel, anaemia csupán kisebb mértékű resistentiaváltozást hoz létre a végtagi érrendszerben, polycythaemia hatására a végtagkeringés változása kifejezettebb.

Az izomműködés, mozgás csökkenése a végtagokon viszonylag rövid időn belül izomatrophiához, a végtag tömegének csökkenéséhez vezet. Abramson és Flachs (1943) szerint izomatrophia hatására a végtagi szövetek vérellátása nem csökken. Imig és mtsai (1953), továbbá Hudlická és mtsai (1964) inactivitás — immobilizálás — hatására végtagi véráramlás-növekedést észleltek. A kérdést vizsgálók nagyobb többsége azonban a végtagi keringés csökkenését figyelte meg mozgáshiány hatására [Frimann-Dahl (1938), Abramson és Flachs (1943), Hultén (1951), Ratschow (1959), Krehan és mtsai (1974)].

Vizsgálataink szerint tartós inactivitás — izomatrophia — jelentősen megváltoztatja a végtagi keringést. Megnő az illető végtag vascularis ellenállása, csökken az O_2 felvétele, megkisebbedik a véráramlása. A véráramlás csökkenésében az izomatrophia, izomanyagcsere-változás feltehetően nagy szerepet játszik. A keringésváltozás, úgy látszik, reversibilis. Néhány esetben ellenőrző vizsgálatot végeztünk az inaktivitás megszűnése után. A végtagi véráramlás és O_2-felvétel növekedését találtuk az atrophia csökkenésével egyidejűleg. Fél oldali izomatrophiában az ép — ellen oldali — végtag áramlása és O_2 fogyasztása megnő, feltehetően a fokozottabb izommunka, izomhypertrophia hatására.

Teljes — 3. fokú — pitvar-kamrai blockban tartós bradycardia jön létre. A bradycardia hatására a perctérfogat megkisebbedik és a vérkeringés sebessége csökken. Katevatis (1967) végzett av blockban az alkaron rheographiás vizsgálatokat, és indirekt áramlásmérései szerint a venás elfolyás lassult av blockban. Gottstein és mtsai (1974) av blockban szenvedő betegen végtagi véráramlásmérést végeztek, alacsony végtagáramlást találtak.

Vizsgálataink szerint tartós bradycardia hatására erősen csökken a végtagon átfolyó vér mennyisége, valamivel kisebb mértékben megkisebbedik a végtagi O_2-felvétel. Állatkísérleteink tanúsága szerint a végtagi érresistentia megnő; mind a bőr, mind az izom érrendszerében nő a vascularis ellenállás [Solti és mtsai (1969/b)]. A végtagi keringés ezen változása részben keringésregulatiós jellegű, művi av blockban az agy és a szív véráramlása alig csökken, és ezen vitalis szervek perctérfogat részesedése megnő. A végtagi véráramlás megkisebbedése tehát más szervek (agy, szív) véráramlásának fenntartását segíti elő. A végtagi keringés ezen regulatiós változása átmeneti, a bradycardia megszűntével a végtagi vérkeringés ismét normálissá válik.

Klinikai szempontból is igen fontos a peripheriás keringés jellegzetes módosulása; nagyfokú keringéslassúbbodás, bradycardia hatására érszűkületet utánzó tünetek, panaszok jelentkezhetnek, peripheriás érkárosodás nélkül.

A pajzsmirigy működésének fokozódása — hyperthyreosis — vagy csökkenése — hypothyreosis — jelentősen befolyásolja a szervezet anyagcseréjét, oxygen-háztartását, hőmérsékletét és a szív teljesítményét. Várható ezért, hogy hyperthyreosisban, illetve hypothyreosisban a végtagi keringés is változni fog. Hyperthyreosisban több vizsgáló a peripheriás erek reactiójának megváltozását figyelte meg elsősorban catecholamin adása után [Page és McCubbin (1952), Benfei és Varma (1963), Theilen és Wilson (1967)]. A bőrcapillarisok kitágulását, számuk növekedését figyelték meg hyperthyreosis hatására Michael és Buschke (1933), valamint Robberts és Griffith (1937). Művi hyperthyreosisban — állatkísérlet — a peripheriás vascularis ellenállás csökkenését és az izmok O_2 felvételének fokozódását tapasztalták Rohrer (1924), Golber és mtsai (1967), Kapitola és mtsai (1967). Frey (1967) részletes bőrhőmérséklet-méréseket végzett hyperthyreosisban szenvedő betegekben, mérési adataiból a végtagi véráramlás növekedésére következtet. Hyperthyreosisos betegekben több munkacsoport végzett végtagi áramlásméréseket, vizsgálataik szerint hyperthyreosisban nő a végtagi véráramlás [Eichna és Wilkins (1940), Kirklen és mtsai (1940), Stewart és Evans (1940), Abramson és Fierst (1942), Zsótér és mtsai (1964), Kontos és Shapiro (1965)].

Myxoedemában néhány — régi — végtagi véráramlásmérés adatai ismertek, ezek a végtagi véráramlás kisebb csökkenésére utalnak [Eichna és Wilkins (1940), Stewart és Evans (1940), Abramson és Fiert (1942)].

Vizsgálataink szerint a pajzsmirigy csökkent vagy fokozott működése egyaránt végtagkeringés-változásokat okoz. Hyperthyreosisban igen erősen csökken a végtagi vascularis resistentia, hypothyreosisban kisebb mértékben fokozódik. Állatkísérleteink eredményei arra utalnak, hogy a vascularis resistentia-változások mind a bőr, mind az izom ereit illetik, a bőr érrendszerében valamivel nagyobbak a változások [Solti és mtsai (1966/b)]. A végtagi szövetek O_2 felvétele hyperthyreosisban igen erősen megnő. Hyperthyreosis hatására a végtagi véráramlás relative is megnő, a végtagkeringés perctérfogat-részesedése

nagyobb lesz. Ami a pathomechanismust illeti, valószínű az, hogy a pajzsmirigyműködést kísérő hőregulatiós változások elsősorban a bőr vérkeringését, míg a sejt-anyagcsereváltozások az izom vérkeringését módosítják.

A perctérfogat változásai vizsgálataink szerint nagy hatást gyakorolnak a végtagi vérkeringésre. A perctérfogat növekedése jelentősen fokozza a végtagi véráramlást, a végtagi érresistentia is erősen csökken, megnő a végtagi véráramlás perctérfogat-részesedése. A perctérfogat csökkenésére jellemző a végtagi vascularis ellenállás növekedése, a végtagi véráramlás megkisebbedik. A végtagi O_2-felvételt azonban sokkal kisebb mértékben befolyásolja a perctérfogat-változás. A végtagi érrendszer fenti viselkedése a végtagi keringésnek szerepére utal a vérkeringés és vérelosztás szabályozásában. A perctérfogat növekedéséhez vezető kórképekben a peripheriás véráramlás kifejezett növekedése várható. A perctérfogat megkisebbedésével járó kórképekben viszont a végtagi érrendszer jelentős resistentia-növekedésével lehet számolni, amely elősegíti a vitalis szervek véráramlásszintjének fenntartását. A perctérfogat-változások és végtagi véráramlás alakulása közötti összefüggésnek klinikai jelentősége is van. A végtagi véráramlás növelése, javítása érhető el — ép szívműködés mellett — a keringő vérvolumen, illetve perctérfogat fokozása révén. Hypertoniás oldatok (pl. dextran) lassú cseppinfusióval való adása jelentősen növelheti a végtagi véráramlást.

A végtagi véráramlás perctérfogat-részesedésének alakulása fontos mutatója a végtagkeringés regulációjának. A végtagi vérkeringés perctérfogathányadosáról igen kevés human adat ismeretes. Wade és Bishop (1962) keringésszabályozással foglalkozó monográfiájukban a bőr perctérfogat-részesedését 5%-nak, a vázizmokét 21%-nak vélik, és mint ismeretes e két szövet vérellátása szolgáltatja a végtagkeringés túlnyomó részét. Méréseink adatai azt mutatják, hogy a végtagkeringés a perctérfogat jelentős hányadát teszi ki, mind a négy végtagra átszámítva a végtagi keringés perctérfogat-százaléka kb. 20%.

Ép végtagi érrendszer eseteiben a perctérfogat növekedésével járó kórképekben rendszerint magas a végtagi véráramlás perctérfogat-fractiója. Alacsony a végtagi perctérfogat-részesedés végtagi inactivitasban, tartós bradycardiában és anaemiában, ez utóbbiban a perctérfogat növekedése ellenére. Figyelemre méltó az is, hogy a végtagi és agyi keringés perctérfogat-részesedése gyakran ellentétesen változik meg (pl. av block, anaemia, perctérfogat növekedés hatására).

A végtagi keringés részletes tárgyalása meghaladná munkánk célkitűzését. Kétségtelen, hogy vizsgálataink adatai nem érintik a végtagkeringés összes sajátosságait. Úgy véljük, eredményeinkből mégis több következtetés vonható le a normális végtagi vérkeringés szabályozását illetően:

1. A végtagi véráramlás igen nagy határok között változhat; a végtagkeringés-autoregulatio kicsi, keringés tartaléka ellenben nagy.

2. A végtagi érrendszer reactióinak jelentős szerepe van a vérkeringés szabályozásában és a perctérfogat redistributiójában.

3. A vérviscositas változásai jelentősen, az életkor változásai csak kisebb mértékben befolyásolják a végtagi vérkeringést.

4. A végtagi O_2 felvétel relative elég változó, a végtagi szövetek basalis O_2 igénye kicsi.

5. A perctérfogat változásai jelentősen befolyásolják a végtagkeringést.

Összefoglalás

Nagyszámú, végtagi vascularis megbetegedésben nem szenvedő egyénben tanulmányozták a szerzők a végtagi vérkeringés regulatiójának több fontos kérdését: az életkor, a vérnyomásváltozások, a vérviscositas, az izomtevékenység, a pajzsmirigyműködés (anyagcsere-változások), a szívműködés és perctérfogat-változások hatását a végtagkeringésre.

A végtagi véráramlás tág határok között változhat, a végtagi vérkeringés autoregulatiója kicsi. Életkor csak kis mértékben befolyásolja a végtagi véráramlást, feltűnő a végtagi O_2-felvétel csökkenése idősebb korban.

Hypertoniában a végtagi vascularis ellenállás megnő, hypotoniában csökken. A végtagi véráramlás és O_2-felvétel mindkét kórképben normális marad.

A vérviscositas-változások jelentősen és jellegzetesen befolyásolják a végtagi keringést. Jellemző a vascularis resistentia kifejezett növekedése polycythaemiában és végtagi véráramlás perctérfogat-részesedésének csökkenése anaemia hatására.

Az izomtevékenység csökkenése — inactivitas — nagy mértékben csökkenti a végtagi véráramlást és O_2-felvételt. Hyperthyreosisban nő a végtagi véráramlás és a végtagi keringés perctérfogat-részesedése, hypothyreosisban a végtagi vascularis ellenállás fokozódó.

A keringés lelassúbbodására — av block — a végtagi véráramlás mind abszolút, mind relatív értelemben csökken. Ezen változás részben keringés-adaptációs jellegű.

A perctérfogat változásai jelentősen befolyásolják a végtagi vérkeringést.

A végtagi keringés perctérfogat-részesedése — mind a négy végtagra számítva — jelentős. A végtagkeringés perctérfogat-százaléka egyik fő jellemzője a végtagkeringés állapotának. A végtagkeringés perctérfogat-részesedése főleg azokban a kórképekben fokozódik, amelyek magas perctérfogattal járnak.

IRODALOM

Abramson, D. és *Fierst, S. M.:* Arch. Intern. Med.: **69,** 409 (1942).
Abramson, D. T. és *Flachs, K.:* Arch. Intern. Med.: **71,** 391 (1943).
Alexander, K. Tevsen, R. és *Mitzkat, H. J.:* Klin. Wschr.: **46,** 234 (1968).
Allwood, M. J.: Clin. Sci.: **17,** 331 (1958).
Amery, A., Bossaert, H. és *Verstraele, M.:* Amer. Heart J.: **78,** 211 (1969).
Bannister, R., Ardill, L. és *Fentem, P.:* Brain: **90,** 725 (1967).
Benfei, B. E. és *Varma, D. R.:* Brit. J. Pharmacol.: **21,** 174 (1963).
Bock, K. D., Müller, H. és *Niroomand, I.:* Z. Kreislaufforschg.: **45,** 693 (1956).
Bollinger, A. és *Lüthy, E.:* Helvet. Med. Acta: **34,** 255 (1968).
Brigden, W., Howarth, S. és *Sharpey-Schafer, E. P.:* Clin. Sci.: **9,** 79 (1950).
Brod, J., Fencl, V., Hejl, Z. és *Jirka, J.:* Clin. Sci.: **18,** 269 (1959).
Caliva, F. S., Cohen, N. A., Guerra, V. F. és *Lyons, R. H.:* Circulation: **27,** 699 (1963).
Conway, J.: Circulat. Res.: **18,** 190 (1966).
Corpus, M. A. és *Hait, G.:* Circulation: 48 (suppl. 4, 120 (1973).
Daróczy P. és *Nagy Gy.:* Orv. Hetil.: **110,** 593 (1969).
Donald, K. W., Wormald, P. N., Taylor, S. H. és *Bishop, J. M.:* Clin. Sci.: **16,** 567 (1957).
Eichna, L. W. és *Wilkins, R. W.:* Johns Hopkins Hosp. Bull.: **68,** 512 (1941).
Epstein, St. E. Stampfer, M. és *Beiser, G. D.:* Circulation: **37,** 524 (1968).
Frey, H. M.: Scand. J. clin. lab. Invest.: **19,** 220 (1967).
Frimann-Dahl, J.: Acta chirurg. scand.: **76,** 36 (1938).
Frumin, M. J., Ngai, S. H. és *Wang, S. C.:* Amer. J. Physiol.: **173,** 428 (1953).
Gerhard, W. és v. *Smekal, P.:* Z. Kreislaufforschg.: **57,** 108 (1968).
Golber, L. M., Kandror, V. I. és *Ester, K. M.:* Cor Vasa: **9,** 210 (1967).
Gottstein, V., Sedlmeyer, I., Gulk, V. és *Schottler, M.:* Münch. med. Wschr.: **116,** 1275 (1974).
Graettinger, J. S., Parsons, R. L. és *Campbell, J. A.:* Ann. Intern. Med.: **58,** 617 (1963).
Held, K. és *Schreier, A.:* Z. Kardiol.: **63,** 1110 (1974).
Hellon, R. F. és *Clarke, R. S. J.:* Clin. Sci.: **18,** 1 (1968).
Hudlická, O., Hnik, P. és *Stulmová, B.:* Physiologist (Washington): **7,** 163 (1964).
Hultén, O.: Acta Chirurg. Scand.: **101,** 151 (1951).
Imig, C. J., Randall, B. F. és *Hines, H. M.:* Arch. Physiol. Med. Rehabil.: **34,** 296 (1953).
Kapitola, J., Schreiberová, O. és *Jahoda, I.:* Endocrin. Exper.: **1,** 165 (1967).
Katevatis, N. D.: Z. Kreislaufforschg.: **56,** 477 (1967).
Kirklen, O. L., Plummer, W. A. és *Sheard, C.:* Proc. Staff. Meet. Mayo Clinic.: **15,** 774 (1940).
Kontos, H. A., Shapiro, W., Page, H. M. jr., Richardson, D. W., Patterson, J. L. jr. és *Sharpe, A. R. jr.:* J. Clin. Invest.: **44,** 947 (1965).
Krehan, L., Kober, G. és *Kaltenbach, M.:* Z. Kardiologie: **63,** 950 (1974).
Lassen, N. A., Lindbjerg, I. F. és *Munck, O.:* Lancet: **1,** 686 (1964).
Lindbjerg, I. F.: Scand. J. Clin. Labor. Invest.: **17,** 589 (1965).
Michael, M. és *Buschke, W.:* Dtsch. med. Wschr.: **1,** 134 (1933).
Murray, R. H., Thompson, L. J., Bowers, J. A. és *Albright, Ch. D.:* Amer. Heart J.: **76,** 799 (1965).
Nagy, Z., Jakab, I., és *Mészáros, I.:* Acta Med. Acad. Sci. Hung.: **23,** 409 (1967)
Overbeck, H. W., Daugherty, R. M. jr. és *Haddy, F. J.:* J. Clin Invest.: **48,** 1944 (1969)
Overbeck, H. K., Swindall, B. T., Cowan, D. F. és *Fleck, M. C.:* Circulat. Res.: **29,** 51 (1971)
Page, I. H. és *Mc.Cubbin, J. W.:* Circulation: **5,** 350 (1952).
Petersen, P. és *Schroeder, W.:* Z. Kreislaufforschg.: **60,** 1034 (1971).
Prinzmetal, M. és *Wilson, C.:* J. cin. Invest.: **15,** 63 (1936).
Ratschow, M.: Angiologie Stuttgart, Thieme, p. 342, 1959.
Robberts, E. és *Griffith, J. O. jr.:* Amer. Heart J.: **14,** 596 (1937).
Rohrer, A.: Biochem. Ztschr.: **145,** 154 (1924).
Rothe, C. F., Schwendenmann, F. C. és *Selkurt, E. A.:* Amer. J. Physiol.: **204,** 925 (1963).
Sharpey-Schafer, E. P., Hayter, C. J. és *Barlow, E. D.:* Brit. med. J.: **2,** 878 (1950).
Snell, E. S., Cranston, W. I. és *Gerbrandy, J.:* Lancet: **1,** 693 (1955).
Solti F.: Orvostudomány: **25,** 103 (1974).
Solti, F., Krasznai, I. és *Földes, J.:* Cor Vasa: **8,** 19 (1966). (a
Solti, F., Krasznai, I., Iskum, M., Rév, J. és *Nagy, J.:* Cor Vasa: **8,** 178 (1966). (b

Solti, F., Krasznai, I., Gyertyánffi, G. és *Kollin, É.:* Acta Physiol. Acad. Sci. Hung.: **36,** 247 (1969). (a
Solti, F., Krasznai, I., Rév, J., Iskum, M., Márk, Gy. és *Földessy, Kl.:* Acta Med. Acad. Sci. Hung.: **21,** 99 (1965).
Solti, F., Szabó, Z., Rév, J., Nagy, J. és *Nemes, A.:* Z. Kreislaufforschg.: 58, 1080 (1969). (b
Stewart, H. J. és *Evans, W. F.:* Amer. Heart J.: **20,** 715 (1940).
Theilen, O. és *Wilson, W. R.:* J. Appl. Physiol.: **22,** 207 (1967).
Wade, O. L. és *Bishop, J. M.:* Cardiac Output and Regional Blood Flow Oxford, Blachwell, p. 93. (1962)
Warembourg, H., Lekieffre, J., Bertrand, M. E. és *Ginestet, A.:* Arch. Mal. Coeur: 67, 547 (1974).
Weiss, S., Wilkins, R. W. és *Haynes, F. W.:* J. Clin. Invest.: **16,** 73 (1937).
Zsótér, T., Tom, M. és *Chappel, C.:* J. Labor. Clin. Med.: **64,** 433 (1964).

Semmelweis Orvostudományi Egyetem Mikrobiológiai Intézet és Országos Közegészségügyi Intézet, Budapest

ADENOVÍRUSOKKAL KEZELT EMBERI VÖRÖSVÉRSEJTEK LIPOIDJAINAK VÉKONYRÉTEG-KROMATOGRÁFIÁS VIZSGÁLATA

LENGYEL ANNA, KLEMBALA MÁRTA és NÁSZ ISTVÁN,
az orvostudományok doktora

Közlésre érkezett: 1977. VI. 15.

Előző kísérleteinkben vizsgáltuk a 8-, 9- és 10-es típusú adenovírusok hatását az emberi vörösvérsejtek (vvs) lipoidjaira (Klembala és mtsai 1973). Megállapítottuk, hogy a víruskezelés hatására számos lipoidban mutatható ki minőségi változás, és e változások egy része mindhárom vírustípus hatására bekövetkezik, mások viszont csak egy vírustípusra jellemzőek, tehát típusspecifikusnak tekinthetők. Így felvetettük azt a lehetőséget, hogy a vvs-membrán lipoidjaiban történt változások modellként szolgálhatnak az adenovírus és a sejtmembrán kölcsönhatása során fellépő kémiai folyamatokhoz. Hogy ezt igazolhassuk, vizsgálatainkat további adenovírus típusokra is ki kellett terjesztenünk. Az említett három típus ugyanis az adenovírusok Rosen szerinti (1960) II. hemagglutinációs alcsoportjába tartozik, és a csoporton belül is azokhoz, melyek az emberi vvs-eket is jól agglutinálják. Emellett a három típus között antigénrokonság is van (Lengyel és mtsai 1964, 1965). Így kísérleteinkbe további két típust, a 13-ast és 27-est is bevontuk ugyanezen alcsoportból, valamint a human vvs-eket kisebb mértékben agglutináló III. alcsoportból az 5-, és 12-es típust, s végül az I. alcsoportból, melynek tagjai az emberi vvs-eket egyáltalán nem agglutinálják, a 7-es típussal is elvégeztük a vizsgálatokat. Eredményeinket olyan szempontból is kiértékeltük, hogy a kapott változások között van-e olyan, amely azonos vagy hasonló az influenza vírus A és B típusa által indukált lipoidváltozásokhoz (Székács és Klembala, 1975).

Anyagok és módszerek

Vírustörzsek: az 5-, 9-, 10-, 12-, 13- és 27-es prototípus, valamint a Pinckney jelzésű 7-es és betegből izolált 8-as típusú adenovírus törzseket monolayer és szuszpenziós HEp-2 kultúrákban tenyésztettük 3% nyúlsavót tartalmazó Parker 199 oldatban. A vírustenyészeteket többszöri fagyasztás és olvasztás után két egymást követő 3000 fordulatszámú centrifugálással megtisztítottuk a sejttörmeléktől, s a ml-enként 2000—6000 HA egységet, ill. 1000—3000 $TCID_{50}$-et tartalmazó felülúszót használtuk a vvs-ek kezelésére. Kontrollként vírussal nem fertőzött, hasonló módon kezelt sejttenyészet kivonatot alkalmaztunk.

Vörösvérsejtek: A donortól frissen levett citrátos vért a már ismertetett módon (Klembala és mtsai 1973) mostuk és kezeltük vírussal, ill. kontroll sejttenyészet kivonattal. Egyes esetekben fenntartó folyadékot is alkalmaztunk kontrollként, de ez a továbbiakban nem látszott szükségesnek.

A vvs-ek Folch-extraktumának (Folch és mtsai 1957) N_2 jelenlétében vakuum desztilláció útján nyert lipoid maradékát kétirányú vékonyréteg kromatográfiás módszerrel vizsgáltuk a már ismertetett módon (Klembala és Székács, 1967). A kísérletekhez Kieselgel-G (Merck) adszorbenst használtunk, a réteg vastagsága 250μ volt. A futtatást szobahőmérsékleten végeztük, az első dimenzióban kloroform-metanol-víz 65 : 25 : 4, a második dimenzióban butanol-jégecet-víz 4 : 1 : 5 v/v keverékkel. A szolvenst mindkét dimenzióban 150 mm távolságra futtattuk. A lemezek szárítása futtatás után 105 °C-os szárítószekrényben történt, az első dimenzió után 5, a második után 10 percig.

A különböző lipoidok kimutatására a következő reagenseket használtuk: foszformolibdénsav (univerzális lipoidfestő), jód (telítetlen lipoidok és egyes N-tartalmú telített lipoidok), ammóniummolibdenát-perklórsav (cardiolipin, cerebrosida, gangliosida), ninhidrin (aminofoszfatidok, peptidek, aminosavak), níluskék (savanyú lipoidok), Dragendorff-reagens (kolinfoszfatidok) és thiobarbitursav (neuraminsav).

Eredmények

A kezeletlen emberi vvs-ekkel kapott eredményeinket a korábbiakban már ismertettük (Klembala és mtsai 1973). Vékonyréteg-kromatográfiás eljárással az alábbi 18 csoportot mutattuk ki a vvs-ek lipoidjaiban:

1, 2, 3 aminosavak, peptidek
4 phosphoinositid
5 lysolecithin
6 ismeretlen
7 sphingomyelin
8 lecithin csoport
9 ismeretlen
10 lysokephalin
11 ismeretlen
12 kephalin csoport
13 polyphosphatidsav
14 kephalin-B
15 phosphatidsav
16 zsírsavak
17 cholesterin, cholesterin esterek
18 neutrális zsírok

A kétirányú kromatográfiában kapott foltok jelzésére alkalmazott tört számok számlálóját a fenti sorszámok alkotják (Klembala és mtsai 1973).

Nagyszámú kísérletet végezve azt tapasztaltuk, hogy egyes lipoidok a donorok közötti individuális különbségek miatt csak ritkábban fordulnak elő, így ezeket, valamint a vírussal nem fertőzött sejtkivonattal való kezelésre változást mutató foltokat, továbbá a vírus hatására csak szórványosan előforduló változásokat az eredmények értékelésekor nem vettük figyelembe. E kritériumok alapján a kétirányú vékonyréteg kromatográfiával kimutatható lipoidok közül a kezeletlen emberi vvs-ek 36 vegyületét értékeltük. E lipoidok közül 22 mutatott rendszeresen előforduló minőségi változást egy vagy több adenovírus típussal való kezelés hatására. E változás a lipoidok Rf értékének és festődésének megváltozásában, vagy azok eltűnésében nyilvánult meg. A 8-, 9- és 10-es típussal új foltok megjelenését is észleltük, ezeket már ismertettük (Klembala és mtsai 1973), így erre jelen közleményünkben nem térünk ki. Az 5-, 7-, 12-, 13- és 27-es típussal való kezelés után rendszeresen megjelenő új lipoidfoltot nem észleltünk.

Az 1. táblázatban összefoglaltuk a vizsgált 8 különböző típusú adenovírus hatására létrejött változások számát. A legnagyobb számban a 8-, 10- és 9-es típus okozott minőségi változást a vvs lipoidokban, legkevesebbet pedig a 7-es típus. Ez utóbbi, valamint az 5- és 12-es típus csak olyan vegyületekben hozott létre változást, melyeket egy vagy több más adenovírus típus is megváltoztatott, tehát a három törzzsel nem találtunk típusspecifikus változást.

A nyolc különböző adenovírus típus által okozott változások minőségét a 2. táblázatban ismertetjük. Régebbi vizsgálatainkban (Székács és Klembala, 1975) vizsgáltuk többek között az influenza vírus A (PR8 törzs) és B (Lee törzs) típusának hatását s az ott kapott eredmények közül azokat a festődésváltozásokat is feltüntetjük a táblázatban, melyek az említett 22 lipoid valamelyikében előfordultak. Hangsúlyozzuk azonban, hogy ez távolról sem jelenti az influenza vírusok által okozott összes változást.

1. táblázat

Kétirányú vékonyréteg kromatográfiával kimutatott minőségi lipoidváltozások száma nyolc különböző adenovírus típussal kezelt emberi vörösvérsejtekben

Adenovírus típus	Eltűnt lipoidok száma	Festődés-változás	Rf érték változás	Megváltozott összesen
5		2	1	3
7		2		2
8	4	6	6	14
9	1	5	3	8
10	1	4	4	9
12	1	2		3
13		3	1	4
27		4		4

2. táblázat

Kétirányú vékonyréteg-kromatográfiával kimutatott kvalitatív lipoidváltozások adenovírusokkal kezelt emberi vörösvérsejtekben

Lipoid		Minőségi változást előidéző vírustípusok									
		Adenovírus								Influenza	
jele	festődése[1]	5	7	8	9	10	12	13	27	A	B
2/1	PJN			Rf[2]		Rf					
2/2	N			Rf		Rf					
4/2	P			—[3]	—	—					
5/2	PJAN			P							N
5/3	PJANT				N					A	
5/5	PJAN			N			—				
5/6	P					Rf					
5/8	P				Rf	Rf					
5/10	PJ					J					
5/12	PJN			—							
7/1	PJAN			N							
8/3	PJANT	J	A	Rf N	A	A	P	N	A	J	J
8/5	PA			—						A	A
8/6	PJANT			Rf A N					J A	J	J
10/1	PJA							Rf			
10/4	JT			Rf	Rf J						
10/5	P				Rf						
10/6	PJA	A	A	J	A	P J	P A	A	J		
11/1	PJA	Rf		Rf	J	J				A	—
12/3	PJNT								T	D	
12/4	PJ			—						P	—
15/1	PJA							A		T	T

[1] A festéshez használt reagensek rövidítése: P = foszformolibdénsav, J = jód, A = ammóniummolibdenát-perklórsav, N = ninhidrin, T = thiobarbitursav, D = Dragendorff-reagens

[2] A lipoid Rf értékei változtak víruskezelés hatására

[3] A lipoidfolt eltűnt víruskezelés hatására

A 22 folt közül 12 csak egyetlen vírustípus hatására reagált, e foltokat az 1. ábrán mutatjuk be. Hat lipoid két vírus hatására mutatott Rf vagy festődésváltozást (3. táblázat), egy vegyület 3, egy pedig 4 vírustípus hatására változott meg, és 2 olyan lipoidot találtunk, mely mind a 8 vizsgált adenovírus típussal reagált. Ezek közül az egyik az influenza törzsekkel szemben is érzékenynek bizonyult, bár, mint a 2. táblázatból kitűnik, a vegyület oly módon való átalakulása, amelynek következtében a jóddal való festődés megszűnik, a két influenza törzsön kívül egyedül az 5-ös típusú adenovírus hatására következett be, a többi típus más irányú változást indukált.

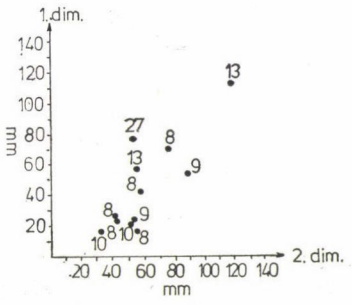
A vizsgált nyolc különböző adenovírus típus közül csak egy szerotípussal reagáló lipoidok (1. ábra) analízise során azt találtuk, hogy a 8-as típus 5 ilyen változást indukált, a 9-, 10- és 13-as kettőt-kettőt, a 27-es pedig egyet. Az emberi vvs-eket nem, vagy csak kisebb mértékben agglutináló 7-, 5- és 12-es típus

3. táblázat

Két adenovírus típussal reagáló emberi vörösvérsejt lipoidok minőségi változásai víruskezelés hatására

Lipoid jele	8	9	10	12	27
	adenovírus típus okozta változás				
2/1	Rf[1]		Rf		
2/2	Rf		Rf		
5/5	N			—	
5/8		Rf	Rf		
8/6	Rf A N				J A
10/4	Rf	Rf J			

[1] Rövidítések: l. 2. táblázat



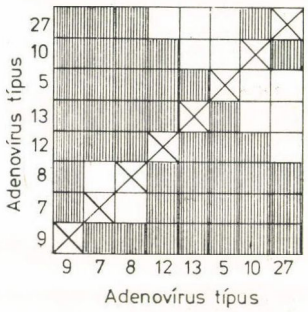
1. ábra. Nyolc különböző típusú adenovírus közül csupán egy típussal reagáló emberi vörösvérsejt lipoidok pozíciója kétirányú vékonyréteg kromatogramon.

nem okozott típusra jellemző lipoid változást. Az 1. ábrán jól látható, hogy a 8- és 10-es típusra jellemző minőségi változások inkább az alcsony Rf értékű foltoknál következtek be, a 13- és 27-es típus a magasabb Rf értékű lipoidok között okozott változást. A 8-as típusra 5 lipoid mutatott specifikus változást, ezek közül 3 influenza vírussal is reagált, méghozzá kettő — a magasabb Rf értékű 8/5 és 12/4 jelzésű vegyület — részben azonos festődésváltozással (l. 2. táblázat). A többi típusra specifikus változást mutató lipoidok némelyike szintén reagált az influenza vírussal való kezelésre, de a változások eltérőek az adenovírus indukálta változástól.

A vizsgált vírustípusok közül kettővel reagált hat lipoid, a változásokat a 3. táblázatban foglaltuk össze. Két vegyület reagált a 8- és 10-es típussal, egy a 8- és 9-essel, egy a 8- és 12-essel, egy a 8- és 27-essel, egy pedig a 9- és 10-essel. A változás minden esetben bizonyos mértékű azonosságot mutatott. A hat lipoid közül egy sem reagált influenza vírussal (l. 2. táblázat). Három vírustípusra egyetlen vegyület, a 4/2 reagált, ez a 8-, 9- és 10-es típus hatására egyaránt eltűnt. Ugyancsak egyetlen olyan foltot találtunk, mely 4 vírustípus,

a 5-, 8-, 9- és 10-es hatására mutatott változást. Ez a 11/1 jelzésű lipoid két-két típusra reagált azonosan: az 5- és 8-as hatására Rf változást mutatott, míg a 9- és 10-es hatására elvesztette jóddal való festődését.

Végül, mint már említettük, két lipoid mind a nyolc vizsgált adenovírus típus hatására változást szenvedett. A 8/3 vegyület a 7-, 9-, 10- és 27-es típusú adenovírus hatására elvesztette ammóniummolibdenáttal való festődését, a 8- és 13-as típus viszont a ninhidrinnel reagáló csoportban okozott változást. A 12-es típus ezen vegyület foszformolibdénsavval, az 5-ös típus pedig a jóddal reagáló csoportjaira hatott. A 10/6 lipoid esetében 3 reagens hatásában találunk változást (l. 2. táblázat): ammóniummolibdenáttal megszűnt a festődés az



2. ábra. Emberi vörösvérsejt lipoidokban azonos változásokat indukáló különböző adenovírus típusok összefüggése. Jelek: □ nincs azonos változás, ▥ 1—4 azonos változás

5-, 7-, 9-, 12- és 13-as típus hatására, a jóddal való reakció megszűnt a 8-, 10- és 27-es típus hatására, a foszformolibdénsavval való festődés pedig a 10- és 12-es típussal való kezelés után szűnt meg.

Ha megvizsgáljuk, hogy egy-egy adenovírus típus a többi közül melyikkel indukált azonos változásokat a vvs lipoidjaiban, azt találjuk (2. ábra), hogy a 9-es típus mind a 7 másik típussal azonos változást is indukált egy vagy több lipoidban. A 7-, 8- és 12-es típus hat másik típussal azonos változást okozott, az 5-, 10- és 13-as öt-öt, a 27-es pedig 4 másik típussal azonos lipoidváltozást indukált.

Az egyes adenovírus típusokra jellemző lipoid változásokat vizsgálva (2. táblázat) azt találjuk, hogy a 8-as típusra elsősorban a ninhidrinnel, a 10-esre pedig elsősorban a jóddal festődő vegyületek megváltozása a jellemző. A 7-es típusnál mindkét változás az ammóniummolibdenáttal való festődés megszűnése, a 12-esre pedig a foszformolibdénsavval való reakció eltűnése a jellemző.

Eredményeinket végül olyan szempontból is kiértékeltük, hogy a különböző vírustípusok milyen vegyületcsoportba tartozó lipoidokban okoztak változást, ezt mutatja a 4. táblázat. A kis Rf értékű, aminosavakat, peptideket tartalmazó 2. csoportban a 8- és 10-es típus okozott változást, ami azonban

4. táblázat

Adenovírus kezelésre minőségi változással reagáló emberi vörösvérsejt lipoidok megoszlása vegyületcsoportok szerint

Vegyület-csoport	Lipoid jele	Adenovírus típus							
		5	7	8	9	10	12	13	27
Aminosavak, peptidek	2/1			+		+			
	2/2			+		+			
Phosphoinositid	4/2			+	+	+			
Lysolecithin	5/2			+					
	5/3				+				
	5/5			+			+		
	5/6					+			
	5/8				+	+			
	5/10					+			
	5/12			+					
Sphingomyelin	7/1			+					
Lecithin	8/3	+	+	+	+	+	+	+	+
	8/5			+					
	8/6			+					+
Lysokephalin	10/1							+	
	10/4			+	+				
	10/5				+				
	10/6	+	+	+	+	+	+	+	+
Ismeretlen	11/1	+		+	+	+			
Kephalin	12/3								+
	12/4			+					
Phosphatidsav	15/1							+	

csak a foltok Rf értékeit érintette. A 4. csoportból egyetlen vegyület változott meg, a 8-, 9- és 10-es típus hatására. Az 5. lysolecithin csoportban szintén e három típus okozott változást, továbbá egy ide tartozó lipoid a 12-es típus hatására is változást mutatott. A 7. csoportból egyetlen vegyület változott meg, a 8-as típus hatására, míg a lecithinből a második dimenzióban kiváló 8. csoport egyik lipoidjával mind a nyolc vizsgált adenovírus típus reagált. E csoport más tagjai a 8-as típus hatására változtak meg. A lysokephalinból kiváló 10. csoport lipoidjai közül a 9-es típus hárommal, a 8- és 13-as kettővel, a többi öt típus pedig eggyel reagált. A 11. csoport egy lipoidjával az 5-, 8-, 9- és 10-es típus reagált, a 12. kephalin csoporttal a 8- és 27-es, végül a 15. phosphatidsavval a 13-as típusú adenovírus.

Megbeszélés

Az adenovírusok tulajdonságairól óriási adatmennyiség gyűlt fel, s sokat tudunk már a vírus sejtbe való bejutása után bekövetkező legkülönbözőbb kémiai, biológiai, genetikai változásokról, sőt sejtmembránhoz kötődő korai proteineket is ismerünk (Chin és Maizel, 1976). Jóval kevesebb adatunk van azonban a vírusnak a sejthez való kötődésére vonatkozóan, a sejt felszínén található vírusreceptorok tulajdonságairól (Buckland, 1959, Inouye és Norrby, 1973, Kasel és mtsai 1960, 1964, Philipson és mtsai 1967, 1968) s a sejtmembrán lipoidjainak a vírusadszorpció következtében végbemenő vírusspecifikus változásairól nem találunk adatot. Az adenovírusok okozta lipoidváltozásokról csupán az 5-ös típussal fertőzött emberi embrió vesesejtekben a vírusszaporodás folyamán történő változásokra vonatkozó közlést ismerünk (McIntosh és mtsai 1971). Az izotóppal jelzett acetát beépülését vizsgálva a lipoidanyagcsere fokozódását észlelték a vírus messenger-RNS átírásának időpontjától kezdve.

A 8-, 9- és 10-es típussal végzett előző kísérleteink eredményeiből arra következtettünk (Klembala és mtsai 1973), hogy a vvs felszínén található receptorok többfélék lehetnek: egyesek csak egyetlen adenovírus típussal reagálnak, mások több típussal azonos, részben azonos vagy különböző módon, s némelyek mind adeno-, mind influenza-vírussal képesek reagálni. E feltevést az itt ismertetett adatok, amelyek nyolc különböző típusú adenovírussal végzett vékonyréteg kromatográfiás kísérleteinkben kaptunk, alátámasztják.

Egyes lipoidok a vizsgált nyolc adenovírus közül csak egyetlen típus hatására változtak meg (1. ábra), mások kettő (3. táblázat) vagy több típuséra (2. táblázat). A 8-as típusra legjellemzőbb változás a ninhidrinnel festődő aminocsoportok eltűnése, a 10-esre a jóddal festődő telítetlen lipoidok eltűnése volt jellemző (Klembala és mtsai 1973). A vvs-membrán komplex lipoidjai közül a lysolecithin csoportba tartozó vegyületek elsősorban a 8-, 9- és 10-es típus hatására mutattak kémiai változást (4. táblázat), a lecithin és kephalin csoportban a 8-assal és a 27-essel, a lysokephalin tartalmú foltok pedig a 8-, 9- és 13-assal kezelt vvs-ekben mutattak eltérést a kontrollokhoz képest. A foszfatidsav csoportban egyedül a 13-as típussal találunk változást, ami azért is említésre méltó, mert az influenza vírusok hatására a legnagyobb eltérés ebben a vegyületben volt (Székács és Klembala, 1975).

Említésre méltó, hogy típusspecifikus változást csak a human vvs-eket intenzíven agglutináló típusok esetében találtunk, a gyengén agglutináló 5- és 12-es típussal, valamint a human vvs-eket nem agglutináló 7-es típussal nem. Ez utóbbi csak azokkal a lipoidokkal reagált, melyek a többi hét típus hatására is változást mutattak s mindkét esetben az ammóniummolibdenáttal festődő foszfortartalmú vegyületek tűntek el a 7-es típus hatására. A két lipoid,

mely minden vizsgált adenovírus típussal reagált, két különböző lipoid-csoportot képvisel. A 8/3 vegyület a lecithin csoportba tartozik s nemcsak a nyolc adenovírus típussal, de az influenza vírus A és B típusával is reakciót adott. A különböző vírustípusok által indukált változások azonban nem voltak azonosak (2. táblázat). A 10/6 lipoid a lysokephalin csoportba tartozik, ez már nem mutatott reakciót az influenza vírus törzsekkel. Lehetséges tehát, hogy ez a lipoid képviseli a vvs-membrán azon pontját, amely specifikusan az adenovírusokkal, közelebbről azok fiberjével képes kötődni. A fiber ugyanis nemcsak a hemagglutinációban képviseli a vírus kötődési helyét a vvs-hez, de ismeretes, hogy olyan esetben is kötődik a vvs-hez, amikor nem okoz agglutinációt, hanem mint „inkomplett hemagglutinin" vagy mint „receptor modifikáló faktor" lecsökkenti a vvs agglutinálhatóságát más típusokkal (Kasel és mtsai 1960, 1964). Ilyen receptor modifikáló faktorként szerepel többek között az általunk is vizsgált 5-ös típusú adenovírus fiberje is. A fiberről azt is kimutatták, hogy képes a sejtkultúrákban kötődni a sejthez és meggátolni a sejt fertőzését adeno-, polio- és vaccinia vírussal (Levine és Ginsberg, 1967, Pereira, 1960). Ha a vvs membránját a sejtmembrán modelljének tekintjük, úgy eredményeink e kötődés molekuláris alapjainak felderítéséhez is közelebb vihetnek.

Olyan jelenség is előfordul, hogy adenovírusok vagy azok komponensei kötődnek velük szemben „nem fogékony" sejtekkel, tehát olyanokkal, melyeket sem fertőzni, sem transzformálni nem képesek. Példa erre az adenovírusok interferon indukciója csirke sejtekben, amelyben valamilyen módon az adenovirion pentonja játszik szerepet (Pusztai és mtsai 1974). Elképzelhető, hogy a sejtmembrán említett komplex lipoidjai jelentik a víruskomponens kapcsolódási helyét.

Az adenovírusok hatására legtöbb változást mutató komplex lipoidok, a lecithin, lysolecithin, kephalin, lysokephalin minden eukaryota sejt membránjában megtalálhatók. A vegyületek zsírsavmaradéka az egyes specieseknél különböző, a reaktív csoportot képező foszfatidil-kolin, foszfatidil-kolamin, foszfatidil-szerin rész azonban kémiailag azonos. Az a tény, hogy az adenovírusok mégis csak bizonyos speciesek vvs-jeit agglutinálják arra enged következtetni, hogy az általuk indukált lipoid változások indirekt módon következnek be, a sejthártyát alkotó lipoprotein réteg proteinjének közvetítésével. A megfelelő lipoid molekula változása láncreakciószerűen elindít egy konformációváltozást, s ennek eredményeképpen az egész receptor molekulán, sőt annak környezetében levő molekulákon is atom- vagy atomcsoport-átrendeződések történnek. Ennek eredményeképpen egyes aktív részek a lipoid molekuláról is lehasadhatnak s ez nyilvánul meg a vegyületek festődésváltozásában, Rf változásában, egyes foltok eltűnésében, ill. új lipoidok megjelenésében.

Összefoglalás

Az 5-, 7-, 8-, 9-, 10-, 12-, 13- és 27-es típusú adenovírussal kezelt emberi vvs-ek lipoidjai közül 22 mutatott változást egy vagy több vírustípus hatására. A változások közül 12 bizonyult típusspecifikusnak, s ilyet csupán a II. hemagglutinációs alcsoportba tartozó típusokkal észleltünk, legtöbbet a 8-as típussal. Két típussal 6, három és négy típussal 1—1 lipoid reagált. Két lipoid mind a nyolc vírustípus hatására változást mutatott, e változások természete azonban nem minden típusnál volt azonos. E vegyületek kémiailag a lecithin, ill. lysokephalin csoportba tartoztak, s ezek képviselhetik direkt vagy indirekt módon a sejtmembrán lipoprotein rétegének azon pontjait, melyek közös receptorai az adenovírusoknak, ill. az adeno- és influenza vírusoknak.

IRODALOM

Buckland, F. E.: Nature **183,** 1276 (1959).
Chin, W. W. és *Maizel, J. V. Jr.:* Virology **71,** 518 (1976).
Folch, J. M., Lees, M. és *Stanley, G. H. S.:* J. biol. Chem. **226,** 497 (1957).
Inouye, S. és *Norrby, E.:* Arch. ges. Virusforsch. **42,** 388 (1973).
Kasel, J. A., Rowe, W. P. és *Nemes, J. L.:* Virology **10,** 388 (1960).
Kasel, J. A. és *Huber, M.:* Proc. Soc. exp. Biol. Med. **116,** 16 (1964).
Klembala, M. és *Székács, I.:* Orv. Hetil. **108,** 2512 (1967).
Klembala, M., Lengyel, A. és *Nász, I.:* Orvostudomány **24,** 189 (1973).
Lengyel, A., Nász, I., Dán, P. és *Kulcsár, G.:* MTA Orv. Tud. Oszt. Közl. **15,** 99 (1964).
Lengyel, A., Dán, P., Cserba, I. és *Nász, I.:* MTA V. Orv. Oszt. Közl. **16,** 213 (1965).
Levine, A. J. és *Ginsberg, H. S.:* J. Virol. **1,** 747 (1967).
McIntosh, K., Payne, S. és *Russel, W. C.:* J. gen. Virol. **10,** 251 (1971).
Pereira, H. G.: Virology **11,** 590 (1960).
Philipson, L.: J. Virol. **1,** 868 (1967).
Philipson, L., Lonberg-Holm, K. és *Petterson, U.:* J. Virol. **2,** 1064 (1968).
Pusztai, R., Béládi, I., Lengyel, A., Nász, I. és *Taródi, B.:* Acta microbiol. Acad. Sci. hung. **21,** 269 (1974).
Rosen, L.: Amer. J. Hyg. **71,** 120 (1960).
Székács, I. és *Klembala, M.:* Acta microbiol. Acad. Sci. hung. **22,** 13 (1975).

Szegedi Orvostudományi Egyetem I. sz. Belgyógyászati Klinika
és Semmelweis Orvostudományi Egyetem I. sz. Kémiai-Biokémiai Intézet, Budapest

ANGIOTENSIN ELTŰNÉSE A PORTALIS KERINGÉSBŐL ALTATOTT PATKÁNYBAN

SONKODI SÁNDOR, TICHY BÉLA, VARGA LÁSZLÓ, az orvostudományok kandidátusa,
MEZŐ IMRE és TEPLÁN ISTVÁN, a kémiai tudományok kandidátusa

Közlésre érkezett: 1977. VII. 8.

Korábbi munkákból ismert, hogy az angiotensin intraarterialis (renalis és femoralis) és portalis vénás adásának kisebb pressor hatása van, mintha ugyanezt a dózist a systemás keringésbe adjuk [Biron és mtsai (1968), Chamberlain és mtsai (1966), Haas és mtsai (1968), Hodge és mtsai (1967), Regoli és Vane (1966)].

Jelen munkánkban a portalis vénába adott angiotensin csökkent pressor válaszának mechanizmusát vizsgáltuk altatott patkányokban.

Anyag és módszer

Anyag: 1. Szintetikus Asp^1-amid-Val^5-angiotensin II (Hypertensin, CIBA)
2. Jelöletlen Asp^1-amid-Val^5-angiotensin II és triciummal jelzett Asp^1-amid-(Tyr-^{3}H)^4-Val^5-angiotensin II
3. Szintetikus bradykinin (BRS 640, Sandoz)
4. Acethylcholin (Acecholin, Lemmate et Boinot)
5. Triton X-100 (SERVA)
6. Aquasol (NE 260, NEN)
7. Protosol (NEF-935, NEN)

Az inaktív és aktív angiotensin II szintézise: Mind a radioinaktív, mind a triciummal jelzett Asp^1-amid-(Typ-^{3}H)^4-Val^5-angiotensin II-t, azonos reakcióschema alapján, a korábban közölt eljárásunktól [Mező és Teplán (1971)] kissé eltérő módon állítottuk elő.

A triciummal jelzett L-tirozint a 3,5-dibróm-L-tirozin katalitikus triciumozásával készítettük el, amelyet radioinaktív L-tirozinnal hígítottunk a sok lépéses peptidszintetikus munka számára kedvező fajlagos radioaktivitású (140 mCi/mmol) ^{3}H-L-tirozinná. Ezt metanolban tionilklorid segítségével észteresítettük, és az így kapott ^{3}H-L-tirozin-metilészterhez vegyes-savanhidrid módszerrel kapcsoltuk a Z-Arg(NO_2)-Val-OH-t, mivel Schwarz és Bumpus (1959) által publikált adatokkal szemben ez a módszer jobb termelést és könnyebben tisztítható védett tripeptidésztert biztosít. A védett tripeptidésztert

tetrahidrofuránban nátriumhidroxid oldattal hidrolizáltuk, és a Z-Arg(NO_2)-Val-(Tyr-^{3}H)-OH tripeptidet a reakcióelegyből savanyítással nyertük ki. A benziloxi-karbonil (Z) védőcsoportot jégecetes brómhidrogénsavval távolítottuk el, és a nyers tripeptid hidrobromidot dimetilformamidos közegben trietilamin jelenlétében kapcsoltuk Z-Asn-ONp-vel az irodalomból ismert eljáráshoz [Walz és mtsai (1969)] hasonlóan. A védett N-terminalis tetrapeptidet (Z-Asn-Arg(NO_2)-Val-(Tyr-^{3}H)—OH) vegyessavanhidrid módszerrel kapcsoltuk az N-terminális tetrapeptid tercier-butilészterhez (H-Val-His-Pro-Pre-Ot-Bu), melyet Schröder (1964) módszerével állítottunk elő. Ugyanis azt tapasztaltuk, hogy a tercier-butilészter amellett, hogy kitűnő védelmet biztosít, eltávolítása is sokkal előnyösebb, mint a korábban általunk használt metilészter védőcsoporté. A tercier-butilészter acidolízise után a védett oktapeptidet szilikagél oszlopkromatográfiával tisztítottuk. Az oktapeptidről a védőcsoportokat katalitikus hidrogénezéssel távolítottuk el. A nyers Asp^1-amid-(Tyr-^{3}H)^4-Val^5-angiotensin II-t karboxi-metilcellulóz oszlopon ammóniumacetátos gradiens elucióval kromatografáltuk és az irodalmival megegyező fizikai-kémiai paraméterekkel rendelkező Asp^1-amid-(Tyr-^{3}H)^4-Val^5-angiotensin II-höz jutottunk, melynek fajlagos radioaktivitása 120 mCi/mmol. Az így előállított triciummal jelzett angiotensin számos biológiai vizsgálat céljára, különösen a szervezetben való eloszlás vizsgálatára jól használható, és tapasztalatunk szerint észrevehető radiolitikus bomlás nélkül kb. 2 évig tárolható.

Módszer

Kísérleteinkhez 220—300 g-os, hím Wistar törzsű patkányokat használtunk.

Az arteriás középnyomást 6 mg/100 g pentobarbitallal (Nembutal) altatott állatokban mértük. A jobb arteria carotisba kanült kötöttünk és ezt a Statham nyomásmérőfej és Hellige nyomásmérőrendszeren keresztül Hellige multiscriptorhoz kötöttük. Az anyagok beadásához a portalis véna egyik oldalágát és a penis vénát kanüláltuk meg.

Angiotensinase aktivitás meghatározásához a vért az aorta és a portalis véna egyidőben történt punkciójával vettük le éterrel altatott patkányokból. A plasma mintákat 10 és 30 percig inkubáltuk standard angiotensin II-vel [Dauda (1968)], és azok presszor aktivitását laboratóriumunkból közölt módszer szerint biológiai titrálással határoztuk meg [Sonkodi és mtsai (1970)]. Az angiotensinase aktivitását az angiotensin presszor aktivitás csökkenése százalékában fejeztük ki.

A portalisan adott jelzett angiotensin epével történő kiválasztásának meghatározásához az epevezetékbe polietilén kanült vezettünk. 30 perces periódusokban az epét két óráig gyűjtöttük és az egyes frakciók radioaktivitását

meghatároztuk. Ugyanezekben az állatokban kanült kötöttünk a hólyagba a jelzett anyag vizelettel történő kiválasztásának meghatározásához és az urethrát lekötöttük. A vizeletet 120 percig egy frakcióban gyűjtöttük. A kielégítő hidráltság biztosítása érdekében az állatoknak a gyomrába 2 ml/100 g 5%-os dextroset adtunk a jelzett angiotensin II injekció adását megelőzően.

Az intraportalisan és systemás vénásan adott jelzett angiotensin aortába való megjelenését úgy vizsgáltuk, hogy a jelzett anyag beadása után a Record 1-es tűvel megpungált aortából 5 mp-es frakciókat gyűjtöttünk 30 mp-ig. A vérmintákat 10 percig 2000 rpm-el centrifugáltuk, és az így nyert serumminták radioaktivitását meghatároztuk.

Az epe-, illetve serumminták radioaktivitásának meghatározásához azokból 0,1 ml-t vettünk, ezekhez 10 ml scintillációs koktélt adtunk. A koktél összetétele: egy rész Triton-X-100, két rész toluolban oldott PPO (2,5-Difenil-oxazol; 4g (1) és POPOP (1,4-Di-[2-(5-fenil)-oxazoil]-benzol); 0,05 g (1) volt. 24 órás inkubálás után Packard liquid-scintillációs műszerrel mértük a radioaktivitást.

Az intraportalisan és systemás vénába adott jelzett angiotensin II májfelvételének vizsgálatához 15 és 30 mp-el a beadás után éter altatásban kivettük az állatok máját, és a májszövet radioaktivitását mértük. 100 mg májszövetet 1 ml Protosolban 24 óráig szobahőmérsékleten állni hagytuk, majd ehhez 10 ml Aquasolt adtunk, és további 24 óráig inkubáltuk. A radioaktivitást ezúttal is Packard liquidscintillációs műszerrel mértük.

Az eredmények statisztikai értékelése a Student-féle „t" próbával történt. A számszerű adatokat az átlagok $\pm$ standard hibájában (SE) fejeztük ki.

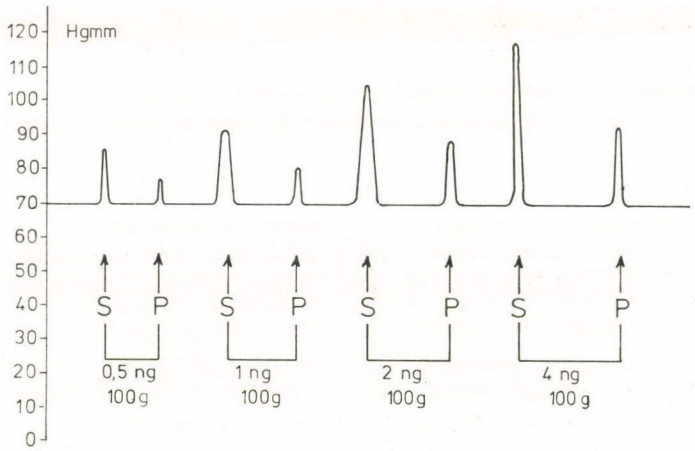
Eredmények:

Vérnyomásválasz:

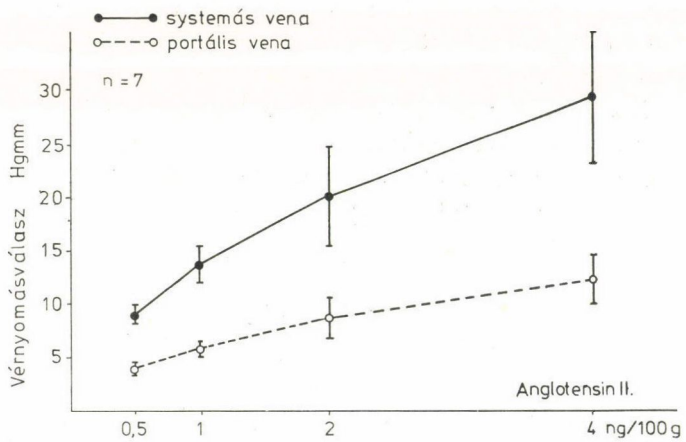
Az MTA Izotópintézetében szintetizált, általunk használt angiotensin-II-t presszorválasz szempontjából a Hypertensinnel (CIBA) hasonlítottuk össze. Biológiai titrálással végzett vizsgálatainkkal azt találtuk, hogy az újonnan szintetizált jelölt és jelöletlen angiotensin II presszorválasza 97,2 $\pm$ 6,6%-a volt a hypertensinnek. A vena portaeba adott 0,5, 1,2 és 4 ng/100 g angiotensin II injekciók lényegesen kisebb presszorválaszt adnak, mint ugyanezen dózisok systemás vénába történt adása.

Az 1. ábra egy patkány presszorválaszait mutatja be a systemásan és portalisan különböző dózisokban adott angiotensin II injekciókra. A portalisan adott angiotensin II dózisokra kapott presszorválasz kb. fele volt a systemásan adottnak.

A 2. ábra hét, az előbbivel azonos módon vizsgált állat presszorválaszainak átlagát és szórását ábrázolja.



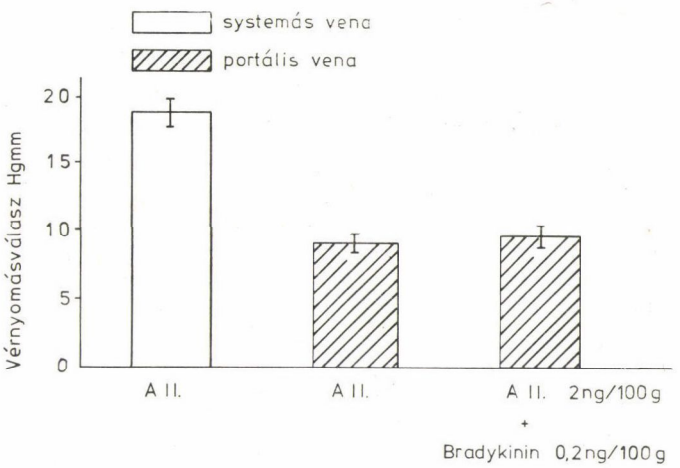
1. ábra. Különböző dózisú angiotensin II systemás és portalis vénás adása után mért vérnyomásválaszok egy patkányban



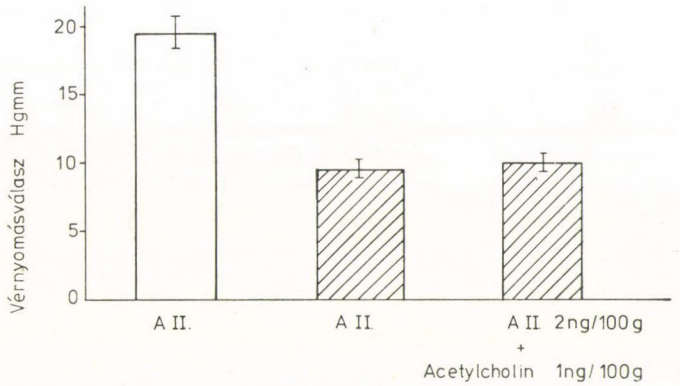
2. ábra. Különböző dózisú angiotensin II systemás és portalis vénás adása utáni vérnyomásválaszok átlaga hét patkányban

Vasodilatátorok hatása a vérnyomásválaszra

A bradykinin hatását 11 állatban vizsgáltuk (3. ábra). 2 ng/100 g angiotensin II systemás vénásan adva 16,3 $\pm$ 1,1 Hgmm-es, míg portalis vénás adás 8,6 $\pm$ 0,9 Hgmm-es átlag vérnyomásválaszt okozott. Ha az angiotensin II-t 0,2 ng/100 g dózisú bradykininnel együtt adtuk a portalis vénába, ugyanolyan presszorválaszt kaptunk (8,7 $\pm$ 1,1 Hgmm), mint amikor azonos dózisú angiotensin II-t bradykinin nélkül adtunk.



3. ábra. Angiotensin II systemás és portalis vénás, valamint angiotensin II és bradykinin portalis vénás adása után mért vérnyomásválaszok átlaga

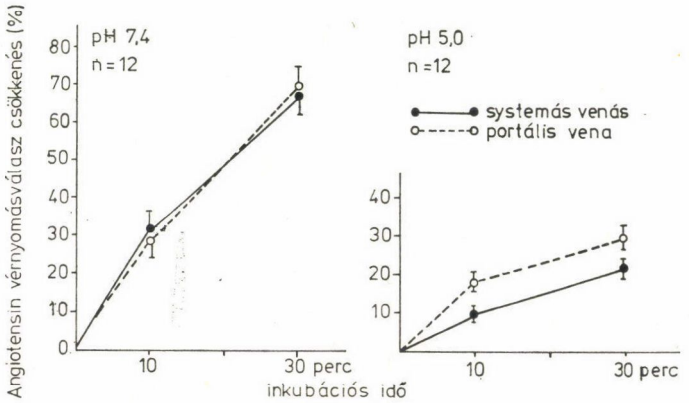


4. ábra. Angiotensin II systemás és portalis vénás, valamint angiotensin II és acetylcholin portalis vénás adása után mért vérnyomásválaszok átlaga

10 állatban vizsgáltuk az acetylcholin hatását (4. ábra). A 2 ng/100 g angiotensin systemás adására ezúttal 19,3 ± 1,7 Hgmm-es, portalis vénás injektióra 8,8 ± 0,8 Hgmm-es presszorválaszt kaptunk. Ha a portalis vénásan adott angiotensin II-höz 1 ng/100 g acetylcholint adtunk, a presszorválasz lényegében nem változott (9,0 ± 0,9 Hgmm). Sem a bradykinin, sem az acetylcholin említett dózisai önmagukban említésre méltó vérnyomásválaszt nem okoztak. Ugyancsak nem befolyásolták az angiotensin II-vel együtt systemás vénásan adva a presszorválaszt. Az említett vasodilatátorok dózisának növelése már depresszorválaszt okozott rendszerint, és az angiotensin II-vel együtt adva a presszorválaszt csökkentette.

Angiotensinase aktivitás

Amint az az 5. ábrából kitűnik, a 12 patkány systemás és portalis keringéséből nyert vérmintáiban neutrális pH-nál nem találtunk szignifikáns különbséget sem a 10 perces (az aortában 33,3 ± 4,1, a vena portaeban 30,0 ± 4,0%), sem a 30 perces inkubálással kapott (az aortában 67,7 ± 3,7 a vena portaeban 71,4 ± 3,1%) angiotensinase aktivitás értékekben.



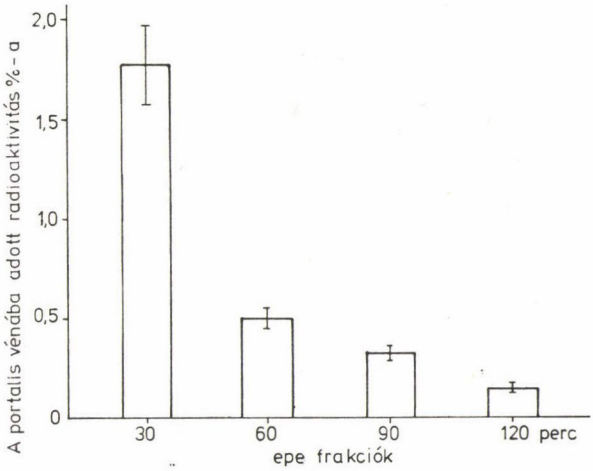
5. ábra. A portalis és systemás vér angiotensinase aktivitása százalékban kifejezve pH 5,1-es és pH 7,4-es közegben

Savanyú pH-nál (pH 5,1) már szignifikáns különbséget találtunk a két keringési terület között; míg az aortából nyert vérmintákhoz adott angiotensin II-ből 10 perces inkubálás után 9,1 ± 1,2% bomlott el, addig a portalis vénából vettből 16,7 ± 1,6% ($p<0,001$). Ugyanezek az értékek 30 perces inkubálás után 22,9 ± 1,9, illetve 31,2 ± 2,6% voltak ($p<0,02$).

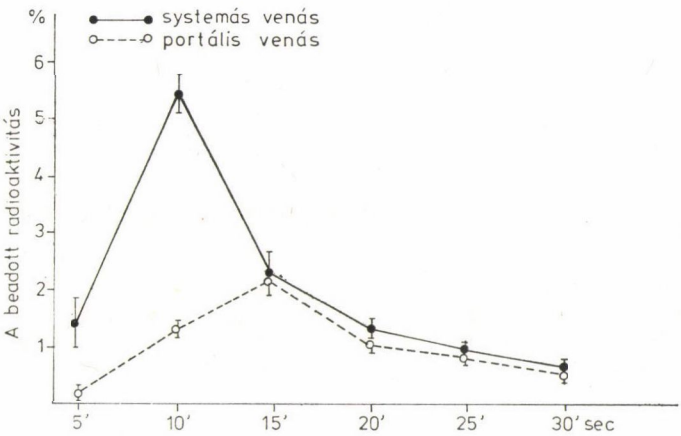
Az ábrákból azonban az is kitűnik, hogy az enzimkapacitás savanyú pH-n lényegesen kisebb volt, mint neutrálison.

Jelzett angiotensin II epével és vizelettel történő kiválasztása

Hat állatnak 10 ng/100 g ^{3}H-angiotensin II-t adtunk be a portalis keringésbe. Amint az a 6. ábrán látszik, az első 30 percben a beadott radioaktivitás mindössze 1,7 ± 0,3%-a (226,6 ± 35,9 dpm) ürült az epével, a további frakciókban pedig az ürülés szinte elhanyagolható. A kétórás gyűjtött vizeletben a beadott radioaktivitás 3,1 ± 1,0%-a (563,1 ± 196,8 dpm) volt kimutatható.



6. ábra. Jelzett angiotensin II portalis adása után nyert 30 perces epeminták radioaktivitás százaléka



7. ábra. Jelzett angiotensin II systemás és portalis vénás adása után aortából nyert szérumminták radioaktivitás százaléka

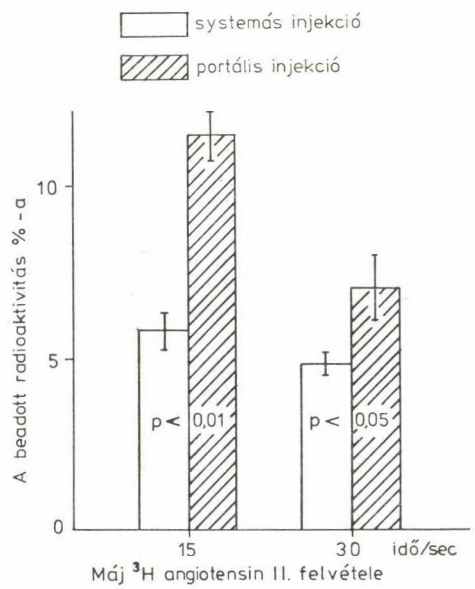
Jelzett angiotensin aortában való megjelenése

Attól függően, hogy a 10 ng/100 g ^{3}H-angiotensin systemás (6 állat) vagy portalis vénába (6 állat) adtuk, az aortából már az első 5 percben gyűjtött vérfrakciók radioaktivitásában jelentős különbséget észleltünk (7. ábra). Míg a systemás vénába adott radioaktivitás $1{,}5 \pm 0{,}4\%$-át mértük az aortában, addig portalis vénába adottnak $0{,}2 + 0{,}1\%$-t ($p < 0{,}001$). A második és 10 mp közötti frakcióban a különbség tovább nőtt. A systemás vénába adott radioak-

tivitásnak ugyanis 5,5 ± 0,3%-át (ami ebben a csoportban a maximum volt), a portalis vénába adottnak azonban csak az 1,3 ± 0,1%-t találtuk az aortában ($p<0,001$). A harmadik 10 és 15 mp közötti frakcióban a systemás vénába adott radioaktivitás aortás vérben mért része jelentősen csökkent; 2,3 ± 0,3% volt. A portalis vénába adott jelzett anyag aortában megjelent része ugyanakkor 2,1 ± 0,1%-ra emelkedett, és ezzel lényegében elérte a systemásan kezelt csoport ebben az időben mért értékét. A kétféleképpen kezelt csoportok aortában megjelent radioaktivitás átlaga a továbbiakban fokozatosan csökkent, de a két csoport között különbség nem volt kimutatható.

Jelzett angiotensin májfelvétele

Ezúttal is 10 ng/100 ^{3}H-angiotensint adtunk a systemás vénába és a vena portaeba 10—10 altatott patkánynak. Mindkét csoportból az állatok felének (5—5 állat) 15 mp, a másik felének (szintén 5—5 állat) 30 mp múlva kivettük a máját és meghatároztuk azok radioaktivitását. A 15 mp-es kísérletnél a nedves májszövet 1 g-ja 11,6%-át tartalmazta a beadott radioaktivitásnak akkor, ha azt a vena portaeba, és mindössze 5,7%-át, ha a systemás vénába adtuk (8. ábra). A két csoport között a különbség jelentős ($p<0,01$). A 30 mp múlva kivett májaknál a portalisan kezelt csoportban jelentős aktivitáscsökkenés volt kimutatható, és a beadott aktivitásnak ezúttal 7,4%-át mértük.



8. ábra. 15 és 30 másodperccel a jelzett angiotensin II systemás- és portalis vénás adása után nyert májszövet radioaktivitás százaléka

A systemásan kezelt csoportban a csökkenés mértéke lényegesen kisebb volt, a megfelelő értékeket itt 4,9%-nak találtuk. A két csoport között a különbség már lényegesen csökkent, de még mindig szignifikáns volt ($p<0,05$).

Megbeszélés

Jelen vizsgálatainkban magunk is kimutattuk patkányban azt a korábbi észlelést [Chamberlain és mtsai (1964), Hodge és mtsai (1967), Lary és Ledigham (1969)], miszerint az angiotensin II vena portaeba történő injiciálásával kisebb presszorválaszt kaptunk, mintha az anyagot a systemás vénás keringésbe adjuk. Haas és mtsai (1968, 1969, 1973) az angiotensin kutya végtagarteriájába való adásának csökkent presszorválaszát vizsgálták, és azt találták, hogy annak vasodilatátorokkal (bradykinin, acetylcholin, papaverin) való együttes adása a presszorválaszt növeli [Haas éz mtsai (1969)]. Eredményeiket úgy magyarázták, hogy az angiotensin a végtagarteriolákban lokális vasokonstrikciót okoz, és ez megakadályozza annak systemás keringésbe jutását, és ez a vasokonstrikció védhető ki — az említett szerzők szerint — vasodilatátorokkal. Ehhez hasonlóan mi is vizsgáltuk a vasodilatátorok hatását Haas és mtsai által használttal nagyjából azonos dózisban, de védőhatást nem észleltünk. Kísérleteink során mi is azt a dózist kerestük, amelyik önmagában depresszorválaszt nem okoz, de az angiotensinnel együtt adva esetleg a presszorválaszt növeli. Mind a bradykinin, mind az acetylcholin dózisának növelése már depresszorválaszt okozott, és az angiotensinnel együtt adva a presszorválaszt inkább csökkentette. Ezek alapján azt kell feltételeznünk, hogy az angiotensin nem okoz a portalis rendszerben vasokonstrikciót, vagy ha igen, az vasodilatátorokkal nem védhető.

Haas és mtsai (1968, 1969, 1973) és a saját vizsgálatainkat egybevetve, nem látszik kétségesnek, hogy az angiotensin kisebb vérnyomásválasza, ill. nagyobb eltűnése a portalis keringésben más módon jön létre, mint a végtagarteriában.

Haas és mtsai említett munkája alapján a következő további lehetőségek merültek fel magyarázatként:

1. az arteriolák vasokonstrikciója, ez azonban az angiotensin portalis keringésbe való fecskendezése esetén nem jön szóba,
2. gyors intravasalis enzimatikus inaktiválás,
3. az angiotensin egy részének eltűnése a perivascularis térben permeabilitás-fokozódás útján, és végül
4. az angiotensin retenciója vagy inaktiválása.

ad 2. Vizsgáltuk az angiotensinase aktivitását neutrális és savanyú pH mellett. Neutrális pH-nál semmi különbséget nem észleltünk a két érterület aktivitása között. Savanyú pH-nál a vena portaeban nagyobb angiotensinase

aktivitást találtunk. Az enzimkapacitás, ill. enzimatikus bontás a vérben még neutrális pH-nál is túl kicsi ahhoz, hogy az említett jelenség okaként akárcsak részben is szóba jöjjön, savanyú pH-nál ez még lényegesen kisebb. Az egyébként már korábbi munkákból [Bakhle és mtsai (1969), Hodge és mtsai (1967)] is ismert, hogy szintetikus angiotensin inaktiválása a vérben relative lassú.

ad 3. Ki kellett zárnunk azt a lehetőséget is, hogy az epével vagy vizelettel ürüljön nagyobb mennyiségű angiotensin. Az eredményeinkből úgy tűnik, hogy angiotensinvesztés mind a két helyen az időt figyelembe véve elhanyagolható.

ad 4. Ezek után a májban való retenció vagy inaktiválás kérdését kellett vizsgálnunk. Mindenekelőtt arra kívántunk választ kapni, hogy ha jelzett angiotensint adtunk a portalis, illetve systemás érterületre, abból mennyi jut az aortába. Mint eredményeinkből látszik, rövid időközökben vett aortás vérfrakciókban a radioaktivitás a vérnyomásválasszal arányosan alacsonyabb volt, ha az angiotentint a vena portaeba fecskendeztük. Ebből úgy tűnik, hogy a radioaktivitás, amelyet röviddel a beadás után az aortában mértünk, legalábbis túlnyomó részt presszor aktív, jelzett angiotensin.

Azt, hogy a máj valóban visszatartja az angiotensint, bizonyítja, hogy a jelzett származék beadása után 15 mp-cel a máj radioaktivitása lényegesen nagyobb volt akkor, ha az injekciót a vena portaeba adtuk. Ha az injekció után 30 mp-cel történt a vizsgálat, a portalis vénásan kezelt csoport májának radioaktivitása jelentősen csökkent, de még mindig szignifikánsan nagyobb volt, mint a systemás vénásan kezelt csoporté.

Ezen vizsgálatok alapján az is valószínűnek látszik, hogy a májból lassan ürül ki a radioaktív anyag, amely már valószínűen nem presszor aktív. Ez az észlelés egyébként a 3. kérdésfeltevésünket is érinti, amennyiben a radioaktivitás csökkenés arra utal, hogy az anyag nem a perivascularis térben tűnik el. További vizsgálatok szükségesek annak kiderítésére, hogy az angiotensin májretenciója milyen mechanizmus útján jön létre.

Összefoglalás

A patkány vena portaeba fecskendezett angiotensin II presszoraktivitása kisebb volt, mint a systemás vénás keringésbe adotté. A presszorválasz-csökkenést a portalis keringésbe egyidejűleg bevitt vasodilatátorok (bradykinin, acetylcholin) nem befolyásolták. Jelzett angiotensin intraportalis adása után a máj a radioaktivitás jelentős részét visszatartotta, és csak töredékét választotta ki az epével. A portalis vérben mért angiotensinase aktivitás lényegében nem különbözött a systemás keringésben mért aktivitástól. A presszorválasz-csökkenés oka az volt, hogy a portalisan adott angiotensin II egy része nem jutott be a systemás keringésbe. További vizsgálatok szükségesek annak eldöntésére, hogy a májban átmenetileg visszamaradt angiotensin II-vel mi történik.

IRODALOM

Bakhle, A. S., Reynard, A. M. és *Vane, J. R.:* Nature, **222,** 956 (1969).
Biron, P., Meyer, P. és *Panisset, J.:* Canad. J. Physiol. Pharmacol., **46,** 1975 (1968).
Chamberlain, M. J., Browse, N. L., Gipson, D. G. és *Gleason, J. A.:* Brit. Med. J., **2,** 1507 (1964).
Dauda, G.: Acta Physiol. Acad. Sci. Hung., **34,** 37 (1968).
Haas, E., Goldblatt, H., Lewis, L. és *Gipson, E. C.:* Am. J. Physiol. **215,** 1420 (1968).
Haas, E., Goldblatt, H., Lewis, L. és *Gipson, E. C.:* Am. J. Physiol., **217,** 981 (1969).
Haas, E., Goldblatt, H., Lewis, L. és *Gipson, E. C.:* Labor. Invest., **28,** 1 (1973).
Hodge, R. L., Ng. K. K. F. és *Vane, J. R.:* Nature, **215,** 138 (1967).
Khairallah, P. A., Page, L. J., Bumpus, F. M. és *Smeby, R. R.:* Science, **139,** 523 (1962).
Leary, W. P. és *Ledingham, J. G.:* Nature, **222,** 959 (1969).
Mező, I. és *Teplán I.:* Radioisotopy (Prague), **12,** 551 (1971).
Regoli, D. és *Vane, J. R.:* J. Physiol. (Lond.) **183,** 513 (1966).
Schröder, E.: Liebigs Ann. Chem. **680,** 132 (1964).
Schwarz, H. és *Bumpus, F. M.:* Amer. Chem. Soc., **81,** 890 (1959).
Sonkodi, S., Joó, F. és *Maurer, M.:* Brit. J. Exp. Path. **51,** 448 (1970).
Walz, H., Bilk, L. és *Reichwald, W.:* DDR. Pat. 55334 (1969).

Semmelweis Orvostudományi Egyetem Érsebészeti Intézet és Igazságügyi Orvostani Intézet, Budapest

INTERMITTÁLÓ HYPOXIÁS TERHELÉS HATÁSAI A MYOCARDIUMON. I. PHYSIOLOGIAI VIZSGÁLATOK KOSZORÚEREKEN

NEMES ATTILA, az orvostudományok kandidátusa, JUHÁSZ-NAGY SÁNDOR, az orvostudományok doktora, SÓTONYI PÉTER, az orvostudományok kandidátusa és SOMOGYI ENDRE, az orvostudományok doktora

Közlésre érkezett: 1977. VII. 20.

A myocardium hypoxiás károsodása ellen a koszorúerek resistencia szakaszának funkcionális alkalmazkodása jelenti a legfőbb élettani biztosítékot. Coronaria betegségekben az erek részleges obstrukciója esetén a myocardium vérellátását az a kompromisszum szabja meg, mely az áramlás hydrodinamikai akadályozottsága (a tágabb lumenű arteriás szakaszon) és a mikrovasculatura adaptatiós készsége között aktuálisan kialakult *(Elzinga és Skinner*, 1975; *Gould* és mtsai 1975). Míg az előbbi tényező szerepét széles körben vizsgálták experimentalisan, az utóbbi tényező jelentőségére méltatlanul jóval kevesebb figyelmet fordítottak, holott a hypoxiához való alkalmazkodó készség változékonysága coronaria keringésben *(Elzinga és Skinner*, 1975; *Juhász-Nagy és Szodoray*, 1972; *Szentiványi és Juhász-Nagy*, 1963) bizonyított tény. Kimutatták, hogy maga a hypoxia — túlzottan kihasználva és így kimerítve a vasodilatatio mechanizmusát, bizonyos idő óta már ép keringésben is károsítja a coronaria adaptatiót.

Jelen vizsgálatainkban olyan kísérleti modellt dolgoztunk ki, melyben a bal kamra egy körülírt területén a hypoxiás éradaptatio szelektív károsítását idéztük elő anélkül, hogy a regiók vérellátásától tartósan megfosztottuk volna. Modellünk alkalmasnak bizonyult arra, hogy rajta a hypoxiás myocardium károsítás legkezdetibb ultrastrukturális jeleit tanulmányozzuk, a kérdéssel dolgozatunk II. része foglalkozik. Dolgozatunkban a modell keringés dinamikai sajátosságait ismertetjük.

Módszerek

A kísérleteket 17, mindkét nembeli 15—25 kg súlyú kutyákon végeztük alfa-chloralose (90—120 mg/kg) narkózisban. Két kísérleti csoportot használtunk. 10 állaton (A-széria) a morphológiai vizsgálatokat a megelőző fiziológiai elemzés után, 7 további állaton (B-széria) kiegészített fiziológiai vizsgálatokat, ill. előkísérleteket végeztünk.

Valamennyi állaton szobalevegővel való mesterséges gépi lélegeztetés mellett a két oldali IV. bordaköz és a sternum átvágásával megnyitottuk a mellkast. Bilateralis nyaki vagotomiát végeztünk, minden kísérletben az esetleges cardialis reflex hatások kiiktatása céljából. Az állatok Heparint (500 I. U. kg) kaptak alvadásgátlóként.

Az A. kísérleti szériában az éradaptatio változását az art. coronaria r. descendens anterior területén tanulmányoztuk úgy, hogy az erek eredésétől 2—2,5 cm-nyire megkanülöztük és az egyik oldali a. carotisból perfundáltuk. A perfundált terület a bal kamra teljes izomtömegének mintegy 16—20 százalékára tehető. A perfusiós nyomás az állat aktuális vérnyomásával megegyezett, amit Statham (P23Db) elektronmanometerrel mértünk és Elema-Schönander Mingographon regisztráltunk. Az áramlást *Juhász-Nagy* és *Szentiványi* (1973) a korábban kidolgozott folyamatos thermodilutiós módszerével mértük és a nyomásgörbével együtt, valamint kompenzographon (Kipp-Zonen) külön is regisztráltunk. Az áramlásmérő rendszeren át fellépő nyomáslejtő maximális dilatatio esetén sem haladta meg a 3—6 Hmm-t.

A coronariák adaptatio szélességét a korábbi kísérletekben alkalmasnak bizonyult reaktív hyperaemia teszt segítségével mértük az áramlás átmeneti megszakítását követő áramlási csúcs értékelése alapján. A dilatatiót a maximális hyperaemiás vascularis conductantia növekedése (reactiv hyperaemia többlet) jellemezte, a következő formula szerint:

$$\text{Reaktív hyperaemia többlet} = \frac{Q_2 \times P_1}{Q_1 \times P_2} - 1 \times 100,$$

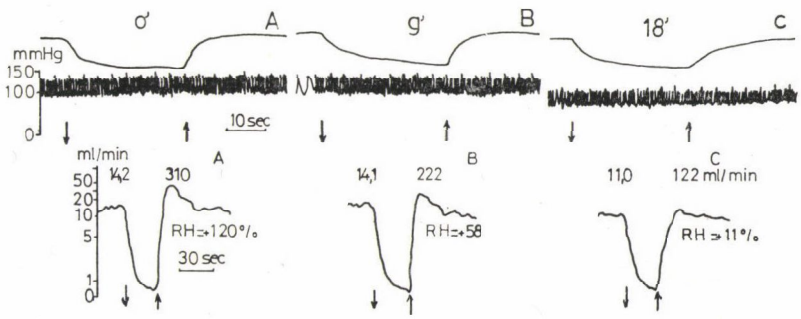
ahol a P_1 és Q_1 az arteriás középnyomás és a coronaria áramlás a vérátfolyás megszakítása előtt, P_2 és Q_2 pedig ugyanezen parameterek értéke a hyperaemiás reakció csúcsán. Az előkísérletekben kidolgozott protokoll szerint a preparátumot a következő terhelő eljárásoknak vetettük alá. A vizsgált területekre korlátozódó intermittáló hypoxiát oly módon hoztuk létre, hogy a perfusiót 30 (ritkábban 60) másodpercre teljesen felfüggesztettük, majd az áramlás ugyanennyi ideig tartó restitutiója után a perfusiót ismét megszüntettük. A terhelés sorozatban 14—27 átlag $\pm$ S. E. = 19,2 $\pm$ 1,3 perc / percig folytattuk, mikor is az alkalmazkodókészség károsodása valamennyi preparátumon bekövetkezett.

E vizsgálatok kiegészítéseként a B kísérleti szériába sorolt hét állaton a teljes bal coronaria áramlást mértük az a. coronaria communis sinistra szájadékába vezetett Eckstein-kanül segítségével. Balon kanült helyezve a sinus coronariusba átfolyó küvettás densitometer segítségével folyamatosan regisztráltuk az O_2-saturatio változásait. Az arteriás O_2 saturatiót Atlas típusú oxymeterrel határoztuk meg. Ezeken az állatokon — eltérően az előbbi szériától — 10 másodperces áramlás megszakításokat alkalmaztunk sorozatban; az intermittáló terhelést 8—12 percig végeztük.

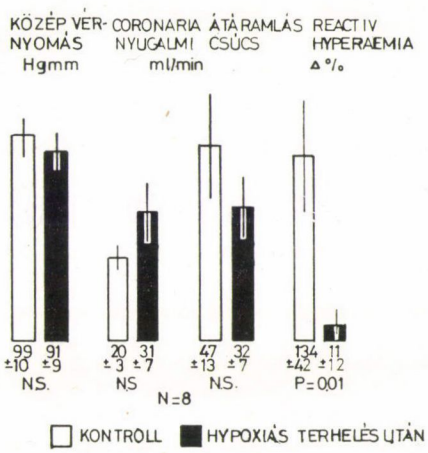
Eredmények

A kísérletekben alkalmazott intermittáló hypoxiás terhelés végstádiumában a coronaria adaptáció részleges vagy teljes megszűnése következett be. Az 1. ábrán látható tipikus kísérletben a kezdetben jól reagáló coronariaág (A) mintegy 9 perces terhelés után kezd kimerülni (B), majd 18 perces túlterhelés után (C) gyakorlatilag képtelen reaktív hyperaemiás válasz létrehozatalára.

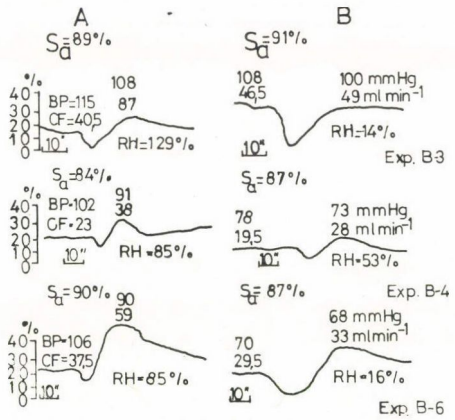
A 2. ábra A kísérleti széria statisztikai értékelését nyújtja. Az arteriás középvérnyomás a kezdeti és a végállapot között csak jelentéktelen mértékben változott. A lokális coronaria áramlás nyugalmi szintje az intermittáló terhelés



1. sz. ábra: A reactiv hyperaemia csökkenése intermittáló hypoxias terhelésre (Exp. A-4), a felső panelek: az áramlás, az elülső leszálló bal coronariaágban és systemás vérnyomás. Az alsó panelek: az áramlási görbe duplikátuma kompenzografon szimultán regisztrálva. (Az áramlás számszerű értéke a jellemző szakaszon fel van tüntetve.) RH: reaktív hyperaemia-többlet. Három, 30 másodperces occlusiót követő hyperaemia látható kontroll állapotban (A), 9 perces (B) és 18 perces (C) terhelés után.



2. sz. ábra: Keringési parameterek kontroll állapotban (fehér oszlopok) és a hypoxias terhelés végállapotában (fekete oszlopok). Átlagértékek S. E., n = 10. A p értékek kétmintás Student-féle t-teszttel számított signifikanciára vonatkoznak.



3. sz. ábra: Densitometerrel regisztrált O_2 saturatiós görbék a sinus coronariusban a bal közös coronaria arteria 10 másodperces occlusiója (10") után. Három, Eckstein-kanülön át perfundált szív. *A* kontroll, *B* hypoxiás terhelés után, BP arteriás középvérnyomás, CF coronaria áramlás. RH reaktiv hyperaemia többlet, S_a arteriás O_2-saturatio.

során valamelyest nőtt, reaktív hyperaemiás csúcsértéke viszont tetemesen csökkent. Csökkent azáltal az erek alkalmazkodási sávja, bizonyítva, hogy az experimentális beavatkozás ezt a vascularis funkciót érintette legjobban. A bal kamrán belül tehát körülírtan egy olyan zóna alakult ki, melynek vérellátása mindaddig, míg a resistencia erek kompenzációs tágulatára szükség nincsen, teljesen kielégítő, mihelyt azonban az érpályának az oxygén-igény növekedését kellene kielégítenie, a vérellátás insufficienssé válik.

A totális bal coronaria keringés autoperfusiójával végzett kísérletek szolgáltatnak támpontot arra, milyen típusú hypoxiás terhelésfokozódást jelent a coronaria occlusio a myocardium számára, ha a physiologiás coronaria alkalmazkodás megszűnik, vagy súlyosan károsodik (3. ábra). Ilyen típusú preparátumon az O_2 extractio a károsított területet biztosan reprezentáló vénás kifolyásban mérhető. A coronaria adaptációs hajlam károsodásakor szignifikánsan csökkent az ép reaktivitású keringésre egyébként jellemző post-occlusiós rebound a vénás saturációban, ugyanakkor elmélyül és elhúzódóbbá lesz a hypoxiás veszélyeztetettséget jelző fokozott vénás kihasználtság fázisa. Ennek következtében nyilvánvalóan megnövekszik az az időtartam, amely alatt a vérellátás kiesése a myocardiumban strukturális változást idézhet elő.

Megbeszélés

Coffman és Gregg (1960), *Eikens és Wilcken* (1973), Olsson (1964) és *Takács és Robbard* (1969) kitűnő kísérleti elemzései alapján jól ismerjük a myocardiumban előidézhető reaktív hyperaemia karakterisztikumát: ismert az is, hogy

hypoxiás (metabolicus) és mechanikus (szűkebb értelemben vett autoregulatorikus) ingerek egyaránt közrejátszanak a fenomen létrejöttében. A resistencia ezekre gyakorolt együttes ingerhatás oly erőteljes a jelenség kiváltásakor, hogy általában már 10—15 másodperces coronaria occlusiót követően maximális vagy közel maximális csúcsáramlás jön létre, így az erek funkcionális állapotának, az éradaptáció szélességének megítélésére a reaktív hyperaemia kiválóan alkalmas. Annál kevésbé érthető, hogy mindeddig kevés figyelmet fordítottak a fenomen változékonyságának egzakt módon való elemzésére, holott az adaptációs mechanizmust túlzottan igénybevevő beavatkozások után annak beszűkülése következetesen fellép. Ez önmagában is meglepő tény, hiszen az erek alkalmazkodása a szöveti anyagcseréhez — különösen a coronariákon — a legalapvetőbb vascularis funkciónak tekinthető. Helyesen jegyzi meg *Stainsby* (1973): „Why does local control of blood flow spontaneously disappear if a preparation is not perfectly prepared of cared for? That a phenomen which seems so essential should be so easily upset seems odd." Minthogy olyan jelenségről van szó, melyet nyilvánvalóan sokszor észleltek, de alaposan alig vizsgáltak, noha a vérellátás bázikus feladatkörével kapcsolatos, a probléma legmegfelelőbb megközelítésének számunkra az tűnt, ha megpróbáljuk azt a semmitmondó általánosságok síkjáról (amire a fenti idézet utalt) a kézzel fogható elemzés körébe vonni megfelelő kísérleti kontroll alatt végzett vizsgálatokban. Bizonyítottuk, hogy erre a célra viszonylag mérsékelt átmeneti hypoxia, azaz a reaktív hyperaemia ismételt kiváltása önmagában alkalmas narkotizált kutyák myocardiumában. A coronaria reaktivitás változása szelektívnek tekinthető, mert a vérnyomás időközben beálló módosulása, valamint az érintett érpálya nyugalmi tónusának változása nem olyan fokú, hogy az a hyperaemiás reakciók eltűnését indokolná. A reaktív hyperaemia hasonló attenuálódását észlelte *Eikens és Wilcker* a fenomén ismételt előidézése után, bár kísérleteikben a változást nem követték addig a mértékig, mint jelen vizsgálatainkban tettük.

Kísérleteink célja az volt, hogy olyan preparátumot dolgozzunk ki, melyen a metabolikus coronaria adaptáció csökkenése a bal kamra egy körülírt területén hozható létre, hogy a myocardium párhuzamosan fellépő finom, ultrastrukturális változásait önkontrollos kísérletekben elemezhessük. Azonos típusú preparátumot a coronaria alkalmazkodás és a kísérő morphológiai változások együttes vizsgálatára korábban még nem alkalmaztak.

Néhány kísérletben (l. 3. ábra) az éralkalmazkodás csökkentését a bal coronaria keringés egészében hoztuk létre: a hypoxiás hatás kiterjedtebb volta indokolhatja, hogy az utóbbi preparátumon a reaktivitás zavara jóval könnyebben kialakul, ami önmagában is bizonyítja, hogy az A szériában valóban az érfunkció lokális károsodása tehető felelőssé a reaktív hyperaemia csökkenéséért, nem pedig a kollateralis átfolyás időközben fellépő átalakulása. Az utóbbi faktor szerepe normál kutyaszíven amúgy is mindenképpen elégtelen a vérellátás adequat pótlására, hasonló típusú coronaria occlusio esetén [*Juhász-Nagy*,

Szentiványi és Grósz (1974).] Ugyanezt bizonyítja a perfundált terület lokális érrezisztenciájának mérsékelt, de következetes fokozódása a hypoxiás terhelés előrehaladtával (2. ábra).

Modellünk viselkedésének magyarázatára tehát a coronariák reaktivitásának megváltozásán kívül más magyarázat aligha megfelelő. A modell a mechanikus érelzáródás összetett tényezőitől mentesen olyan pathofiziológiai feltételeket biztosít, ahol a myocardiális vérellátás károsodásának funkcionális aspektusa tiszta formában mérhető le. A preparátumunk tehát ily módon mint funkcionális angina pectoris modell is alkalmazhatónak látszik.

Összefoglalás

Narkotizált kutyákon a bal kamra mintegy ötödnyi területére korlátozódó intermittáló myocardialis hypoxiát alkalmaztak a perfundált bal leszálló arteria 1/2—1 percig tartó ismételt, alternáló leszorításával és felengedésével. A coronaria érágy rezisztencia szakaszának az O_2 hiányhoz való adaptív kapacitását a reaktív hyperaemiás dilatatio jellemezte. Megállapították, hogy a beavatkozás 15—25 perc alatt a hypoxiás éralkalmazkodás jelentős mérvű attenuálódását eredményezi. A hypoxiával terhes coronariákon olyan sajátos állapot alakul ki, melyben az alkalmazkodás szélessége a csúcshyperaemia és az erek alap (nyugalmi) tónusának együttes csökkenése folytán beszűkül. E focalis vascularis petternt tartós coronaria lekötés nélkül létrehozott új típusú experimentalis angina pectoris modellnek tekintik.

IRODALOM

Coffman, J. D. és *Gregg, D. E.:* American Journal of Physiology **199,** 1143 (1960).
Echstein, R. W., McEachen, J. A., Deming, W. B. és *Newberry, B. W. B.:* Science **113,** 385 (1951).
Eikens, E. és *Wilcken, D. E. L.:* Circulation Research **33,** 267 (1973).
Elzinga, W. E. és *Skinner, D. B.:* Journal of Rhoracic and Cardiovascular Surgery **69,** 217 (1975).
Gould, K. L., Lipscomb, K. és *Calvert, C.:* Circulation **51,** 1085 (1975).
Juhász-Nagy, A. és *Szentiványi, M.:* Archives internationales de Pharmacodynamie et de Thérapie **206,** 19 (1973).
Juhász-Nagy, A. Szentiványi, M. és *Grósz, G.:* Japanese Heart Journal **15,** 289 (1974).
Juhász-Nagy, A. és *Szodoray, P.:* Acta Physiologica Academiae Scientiarum Hungaricae **42,** 275 (1972).
Olsson, R. A.: Circulation Research 14/15. Suppl. **1,** 81 (1964).
Stainsby, W. N.: Annual Review of Physiology **35,** 151 (1973).
Szentiványi, M. és *Juhász-Nagy, A.:* Quarterly Journal of experimental Physiology **48,** 105 (1963).
Takács, L. és *Robbard, S.:* Cardiologia **54,** 37 (1969).

Semmelweis Orvostudományi Egyetem Igazságügyi Orvostani Intézet és Érsebészeti Intézet, Budapest

INTERMITTÁLÓ HYPOXIÁS TERHELÉS HATÁSAI A MYOCARDIUMON. II. ELEKTRONMIKROSZKÓPOS ÉS ELEKTRONMIKROSZKÓPOS CYTOKÉMIAI VIZSGÁLATOK

SOMOGYI ENDRE, az orvostudományok doktora, SÓTONYI PÉTER, az orvostudományok kandidátusa, JUHÁSZ-NAGY SÁNDOR, az orvostudományok doktora és NEMES ATTILA, az orvostudományok kandidátusa

Közlésre érkezett: 1977. VII. 20.

Az akut hypoxia következményeként kialakult szívizom-elváltozások pathomorfológiájával *Büchner* (1932) az elsők között foglalkozott. Az új vizsgáló módszerek alkalmazásával, megfelelő modellek megválasztásával az azóta eltelt évtizedekben ismereteink jelentősen bővültek, mint azt *Büchner—Onishi* (1968), *Dhalla* és *mtsai* (1974), *Ganote* és *mtsai* (1976), *Hatt* és *mtsai* (1970), *Lapp* (1974), *Mitin* (1973), *Poche* (1969), *Shen* és *Jennings* (1972, 1974), *Somogyi* (1971), *Somogyi* és *mtsai* (1967, 1976) eredményei példázzák. Az elektronmikroszkópos és elektronmikroszkópos cytokémiai eljárások bevezetésével a kérdések a funkcionális morfológia oldaláról is megközelíthetők és magyarázhatók. A módszerek tökéletesítése lehetővé tette a methodikai problémák biztos, kritikus ismeretében a korai elváltozások tanulmányozását. Azok a rutin fénymikroszkópos hisztológiai eljárások számára még nem vizsgálhatók, de fluorescens optikai, polarizációs optikai és fénymikroszkópos enzimhisztokémiai eljárásokkal már vizsgálhatók. A pathomorphológiai folyamat időrendi kialakulásával foglalkozó kísérleti tapasztalatok több kérdésben nem egyértelműek, ez aláhúzza azok tanulmányozásának nehézségeit, igazolva a vizsgálatok aktualitását [*Bonucci—Sadum* (1973), *Hoffman* és *Buckberg* (1975), *Feinberg* és *Levitsky* (1975), *Ferrans* (1975), *Hatt* (1974), *Schaper* és *mtsai* (1975), *Zimmer* és *Gerlach* (1974), *Trump* és *mtsai* (1976)]. A szívizom a különböző behatásokra eltérő módon reagál, így a pathomorphologiai folyamat tisztázásának többoldalú megközelítése lehetséges.

Az akut hypoxia ismereteink alapján az elváltozások négy, nevezetesen a károsodás mentes, a reverzibilis anyagcsere-, az irreverzibilis anyagcserekárosodás és a necrosis szakaszát hozza létre. Azok egymástól biokémiai, pathophisiologiai és pathomorphologiai sajátságaik alapján viszonylag jól elhatárolhatók. Az elektronmikroszkópos vizsgálatok számára a második csoport a perspektivikus, egyrészt a korai elváltozások kimutathatósága miatt, másrészt valószínűleg megfelelő kritikával itt tanulmányozható a reverzibilitás—irreverzibilitás átmenetének kérdése is. Természetesen lényeges lenne annak ismerete, hogy melyek azok az első, sejtorganellumokhoz kötött sérülések,

amelyek következménye a már biztos irreverzibilis károsodás. Az akut hypoxia pathomorphologiai folyamatának tisztázása egyedül morphológiai módszerekkel nem lehetséges. A rendelkezésünkre álló methodikákat (biochemiai, phisiologiai, morphologiai) egy kísérleten belül kell alkalmazni, a konklúziót a kapott eredmények összességéből levonni.

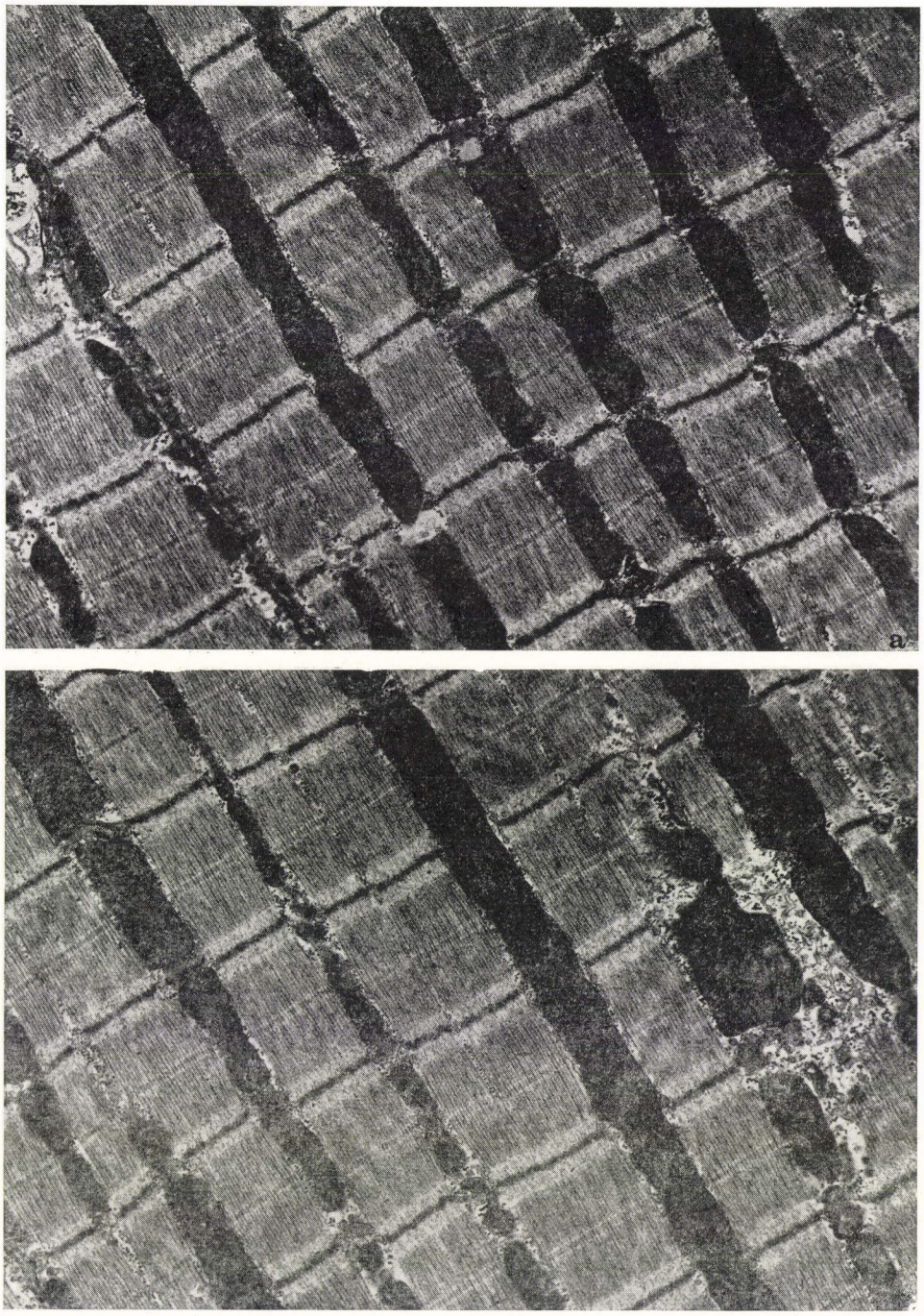
Jelen vizsgálataink célja annak tisztázása, hogy a reaktív hyperaemia felére csökkenése (9 perces terhelés), ill. megszűnése (18 perces terhelés) a károsodás milyen formáját eredményezi.

Módszerek

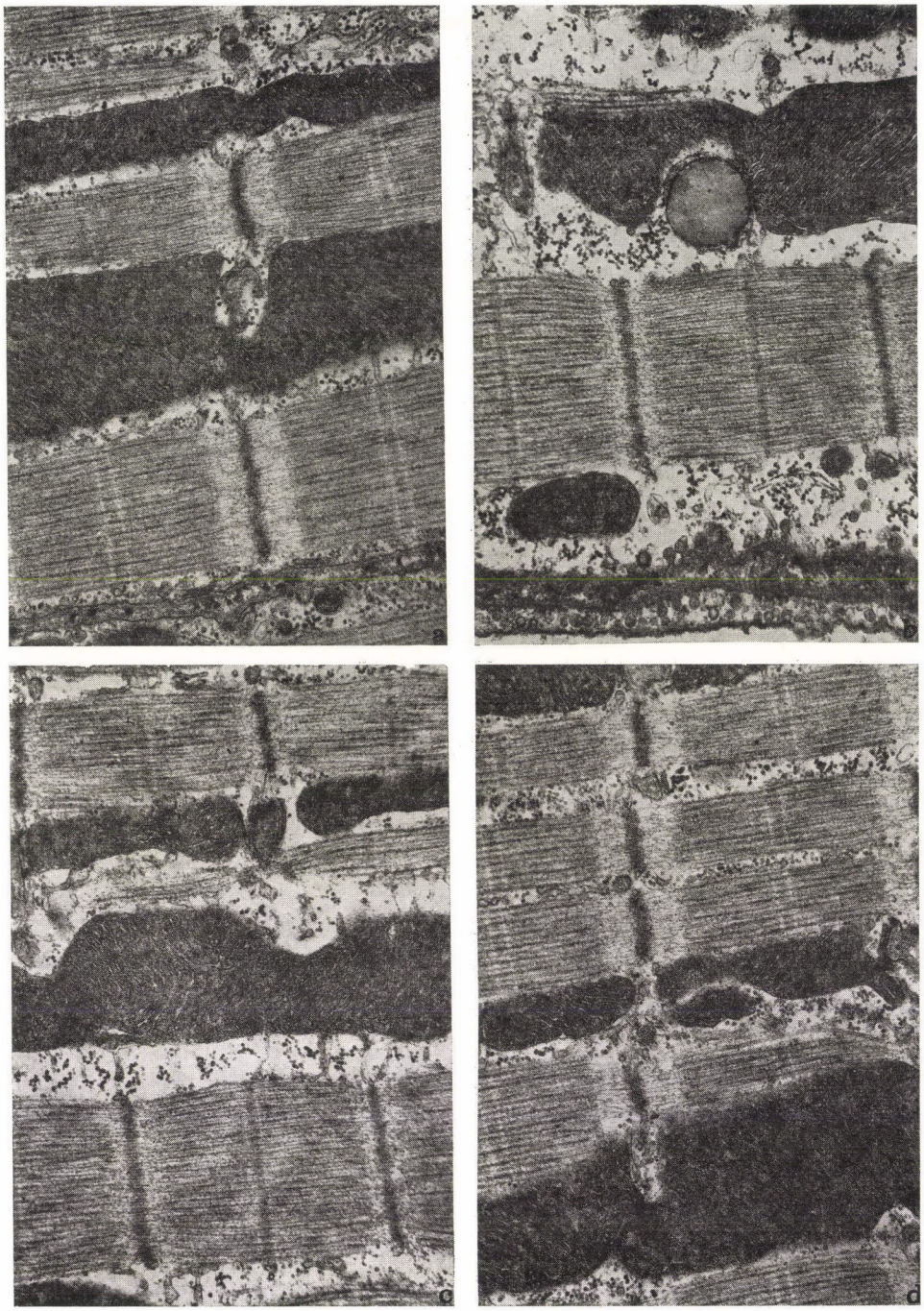
A kísérlet lényegét az I. részben részletesen ismertettük. A rutin elektronmikroszkópos vizsgálatokhoz a megadott időpontokban a coronariaágon keresztül Ringer-oldattal átmosást, majd 120 Hgmm nyomás mellett 2,5% glutaraldehyd (pH 7,2, 0,1 M cacodylat pufferben) oldattal 10 percen keresztül perfusiós fixálást végeztünk. A fárasztott területről kivett szövetrészleteket 30 percig tovább rögzítettük, majd Ringer-oldatos mosás után 1%-os OSO_4 (pH 7,2, 0,1 M cacodylat pufferben) 60 percig után rögzítettük. Alkoholos víztelenítés majd propylen-oxydon keresztül az anyagot Araldítba (Durcupan. ACM. Flucka) beágyaztuk. A félvékony metszeteket a beágyazó anyag eltávolítása után toluidinkékkel festettük meg. Az ultravékony metszeteket uranyl-acetáttal és ólomcitráttal kontrasztoztuk. A vizsgálati anyagot mindig azonos helyről, subendocardialis területről vettük. A succinodehydrogenase reakció *Kerpel-Frónius* és *Hajós* (1968), a cytochromoxydase reakció *Seligman* és *mtsai* (1968), *Sótonyi és mtsai* (1976) módosított módszerével történt. A kalcium kimutatását *Carasso* és *Faward* (1966) eljárásával végeztük. A mitochondrium és sarcoplasmaticus reticulum kalciumtartalmának meghatározása *Mela* és *Chance* (1968), a szöveti ATP, Pkr., laktát *Kübler* (1969) módszerei szerint történt. A vizsgálatokat JEM 100B készüléken végeztük.

Eredmények

A 9 perces intermittáló hypoxiás terhelés kísérleti csoportjában jellegzetes az „óriás mitochondriumok" megjelenése (1. sz. tábla). A mitochondriumok külső, ill. belső membránja ép. A több sarcomer hosszúságú mitochondriumok külső és belső membránjai folytatólagosan követhetők (2. sz. tábla). A sarcotubularis rendszer, glykogentartalom változatlan. Az actin és myosin filamentumok eltérést nem mutatnak. A succinodehydrogenase és cytochromoxydase reakciók értékelhető intenzitásbeli változást nem mutattak. A *Carasso* és *Faward*-módszerrel esetenként a mitochondrium kalciumtartalmának emelkedését figyeltük meg. A reakció módszertani nehézségeinek ismeretében fenntartással kell fogadni az eredményt. A sarcoplasmaticus reticulum



1. Tábla: Az óriás mitochondriumok több sarcomer hosszúságot érnek el (a., b.). 12 000x, 12 000x



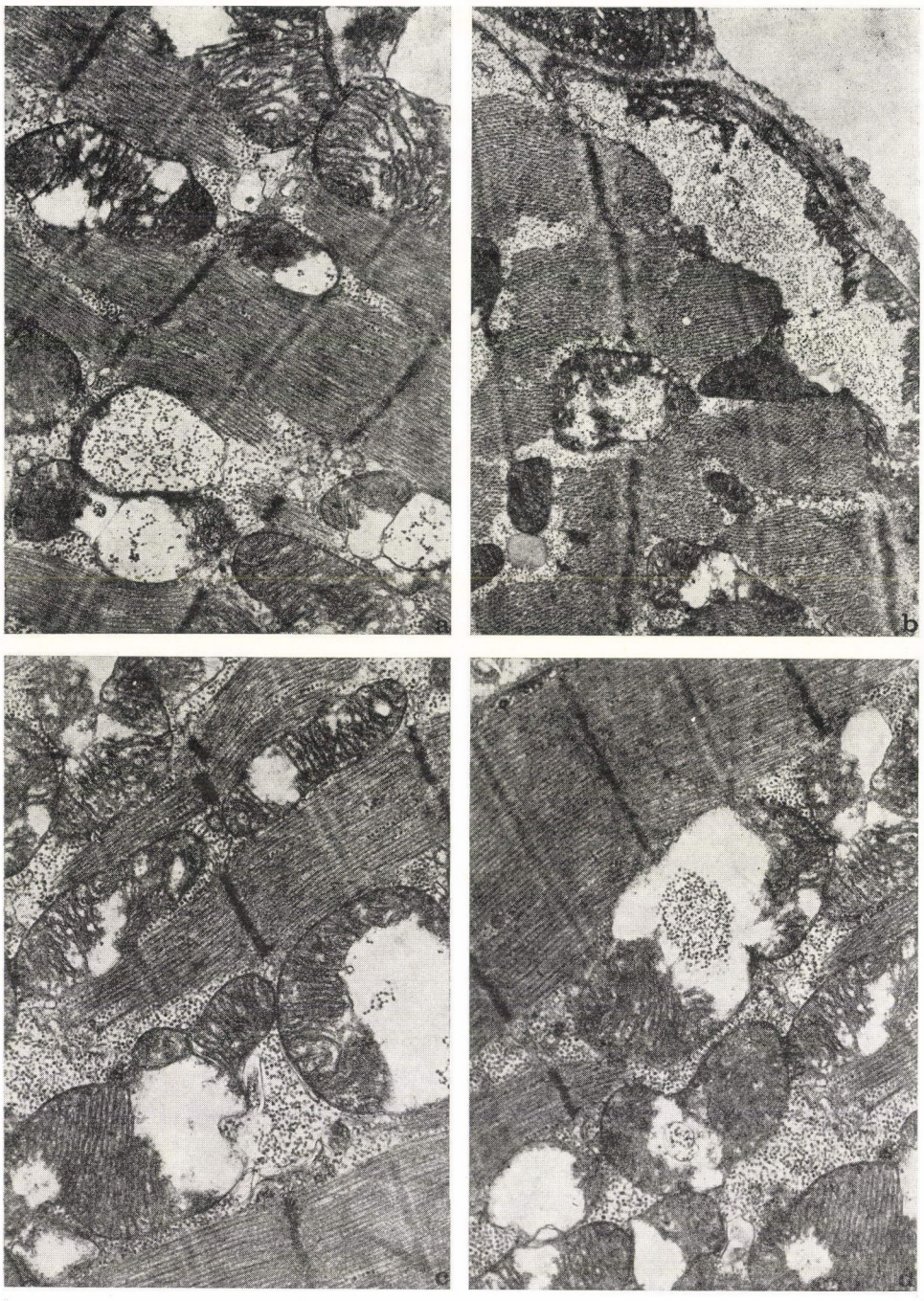
2. Tábla: A mitochondrium külső és belső membránja ép (a., b.). A belső membran folytonossága jól követhető (c., d.). 32 000x, 32 000x, 32 000x, 32 000x

és mitochondrium frakciók kalcium tartalmának változását a spektrophotometriás vizsgálatok nem erősítették meg.

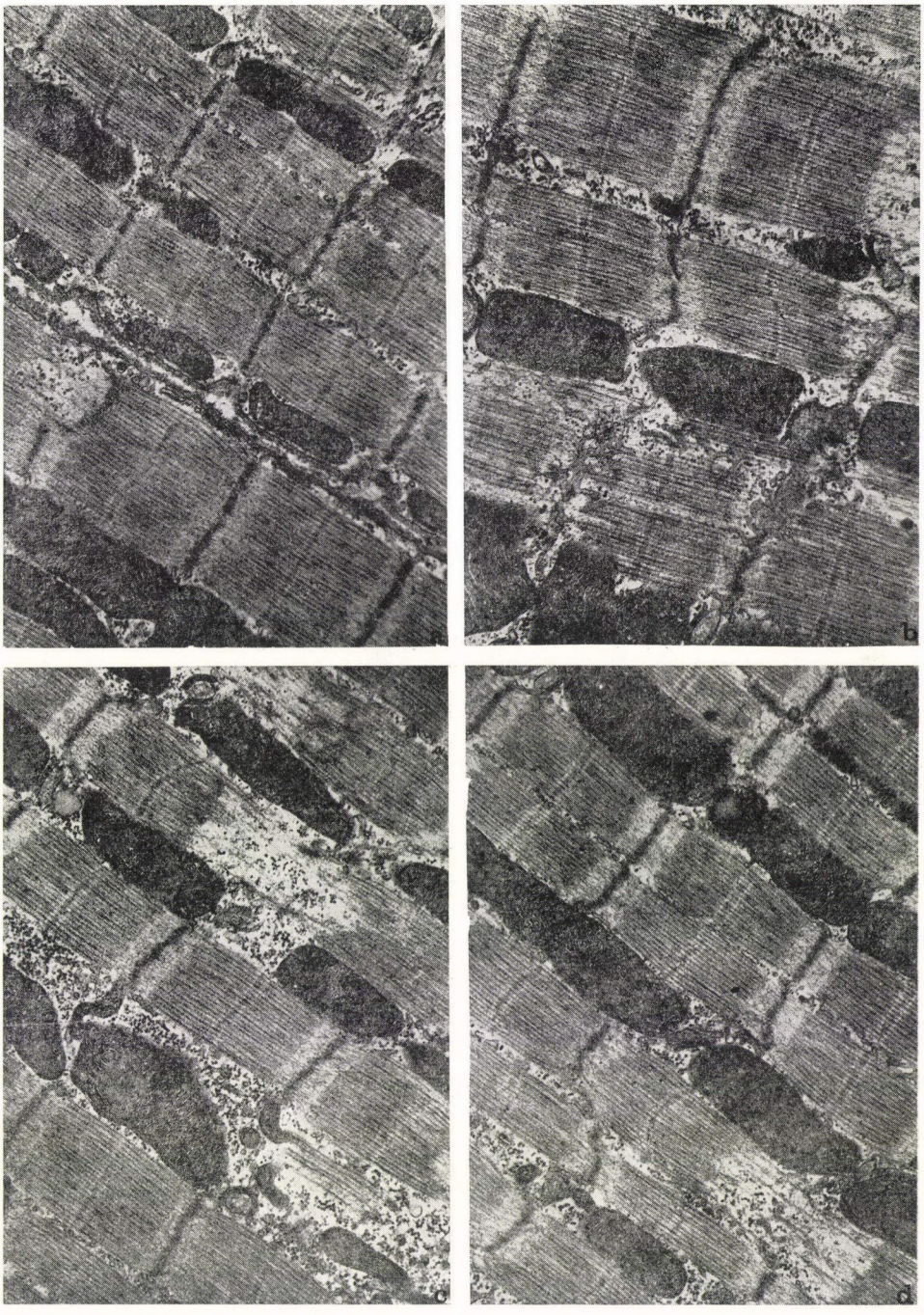
A 18 perces intermittáló hypoxiás terhelés után a reaktív hyperaemia megszűnésével egyidőben sejtorganellumok jellegzetes károsodásai kezdődnek meg. A mitochondriumok belső membránja desintegrálódik, a cytoplasma glykogénje a külső membránt maga előtt tolva „beúszik" a mitochondrium belsejébe (3. sz. tábla). A sarcoplasmaticus reticulumok tágultak, a glykogéntartalom csökken. Jellegzetes filamentáris károsodások alakulnak ki a Z-membranok és a I-csík magasságában. Az elváltozás a sarcomer részleges vagy teljes filamentolysisének felel meg. A folyamat egyaránt megfigyelhető egy-egy vagy több sarcomeren (4. és 5. sz. tábla). A nagyobb feloldású felvételeken a Z-membrán elektronszóró anyagának jelentős csökkenése mellett az I-csíkokban az átalakult aktin filamentumok láthatók (6. sz. tábla). A spektrophotometriás vizsgálattal a mitochondriumok kalcium akkumulációja kifejezett. Az enzymcytokémiai reakciók azokon a területeken estek ki, ahol bekövetkezett a mitochondriumok szerkezeti destrukciója (7. sz. tábla). A 18 perces terhelés után megindul a szöveti ATP, Pkr. tartalom csökkenése és a laktát koncentráció emelkedése. A terhelés idejétől függően jellegzetes értékváltozások alakulnak ki (8. sz. tábla).

Megbeszélés

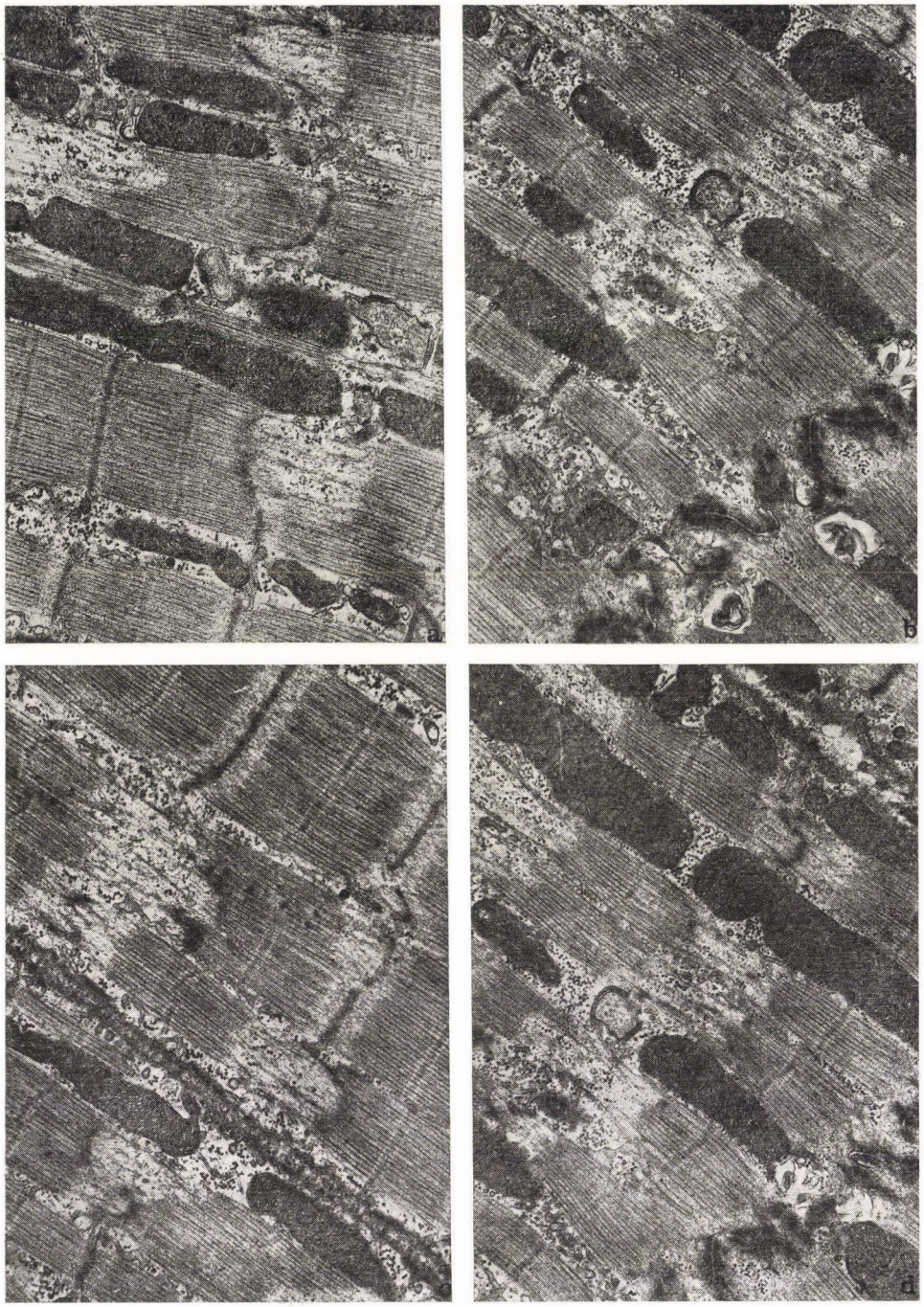
Az intermittáló hypoxia is alkalmas modellnek látszik a korai szívizomelváltozások vizsgálatára. A hypoxiás terhelés idejétől függően, egymástól jól eldifferenciálható funkció- és struktúra-károsodások alakulnak ki. Az experimentális tapasztalatok szerzésének egyik célja a klinikai gyakorlat számára is hasznosítható információ nyerése. Az intermittáló hypoxiás terhelés az angina pectoris egyik kísérleti modelljének tekinthető. Az angina pectoris morphologiai következményeivel *Feinberg—Levitsky* (1975), *Ferrans* (1975), *Ganote* és *mtsai* (1976), *Schaper* és *mtsai* (1975), *Whallen* és *mtsai* (1974) foglalkoztak, tisztázva a tartós hypoxiás terhelés következményeit. A reaktív hyperaemia felére csökkenése, ami 9 perces intermittáló hypoxiás terhelés után bekövetkezik, a mitochondriumok megnagyobbodását eredményezi anélkül, hogy a külső vagy a belső membran destrukciója létrejönne. A folyamatot kompenzációs jelenségnek tartjuk. A mitochondrium valószínűleg „aktív felület" növelésével igyekszik kiegyenlíteni a hypoxiás terhelés kezdeti szakaszában kialakuló energetikai változást. Tapasztalataink szerint reverzibilis állapot. A mitochondrium megnagyobbodás tényét, annak okát *Chikamon* (1968), *Kjeldsen* és *mtsai* (1972), *Mulch* és *mtsai* (1974), *Mitin* (1974), *Partin* és *mtsai* (1972) eltérően értelmezi. Anyagunkban a műtermék, mint lehetőség, teljes biztonsággal kizárható. Az elektronmikroszkópos enzymcytokémiai reakciók az épnek megfelelők. A mitochondrium és sarcoplasmaticus frakció kalciumtartalma változatlan.



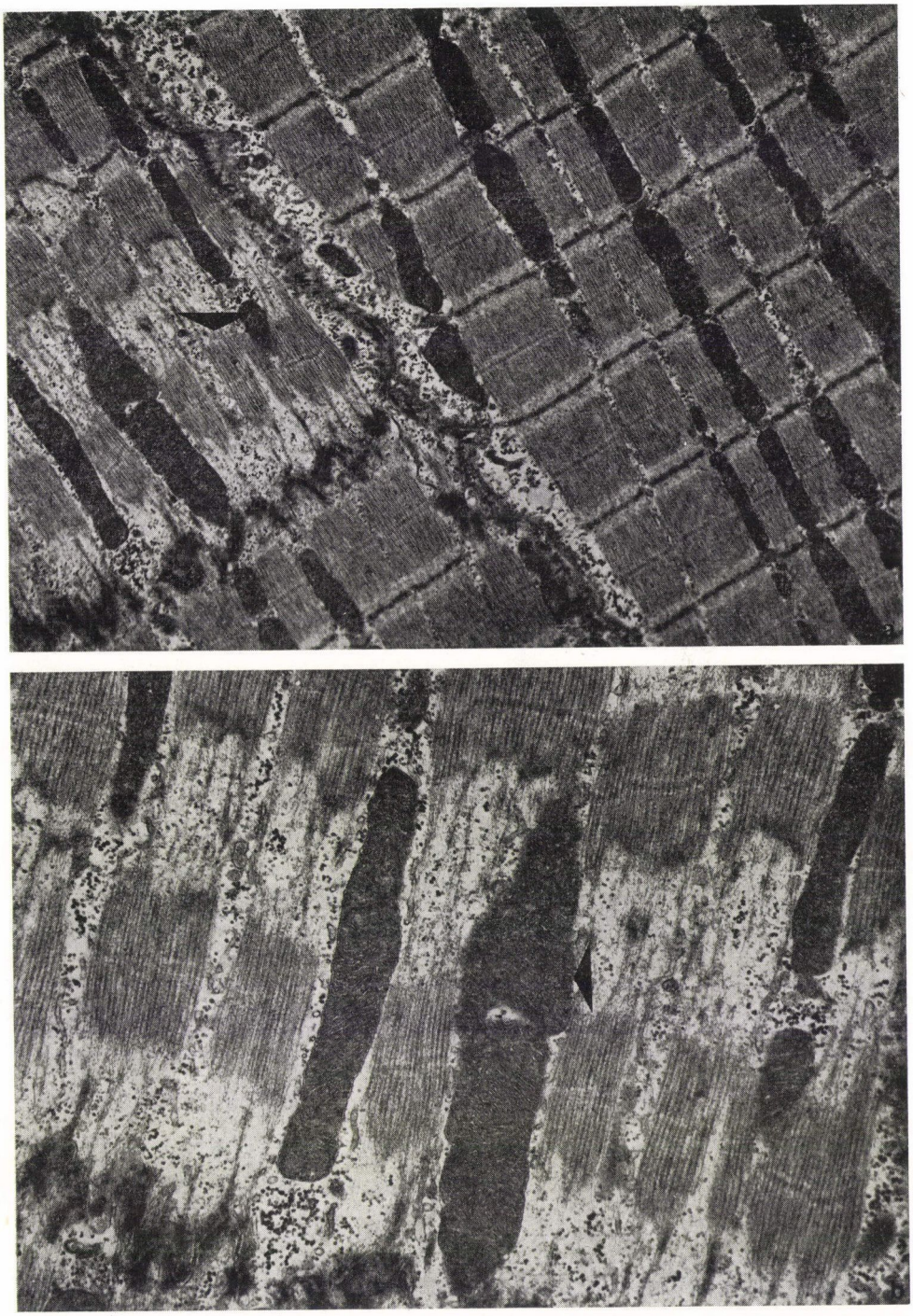
3. Tábla: A cytoplasma a sérült mitochondrium membranon keresztül bejut a mitochondriumba a glycogennel együtt (a., b.). A cytoplasma glycogenje a sérült belső membran magasságában a külső membrant benyomja, majd azzal együtt bejut a mitochondriumba. 18 000x, 18 000x, 20 000x, 20 000x



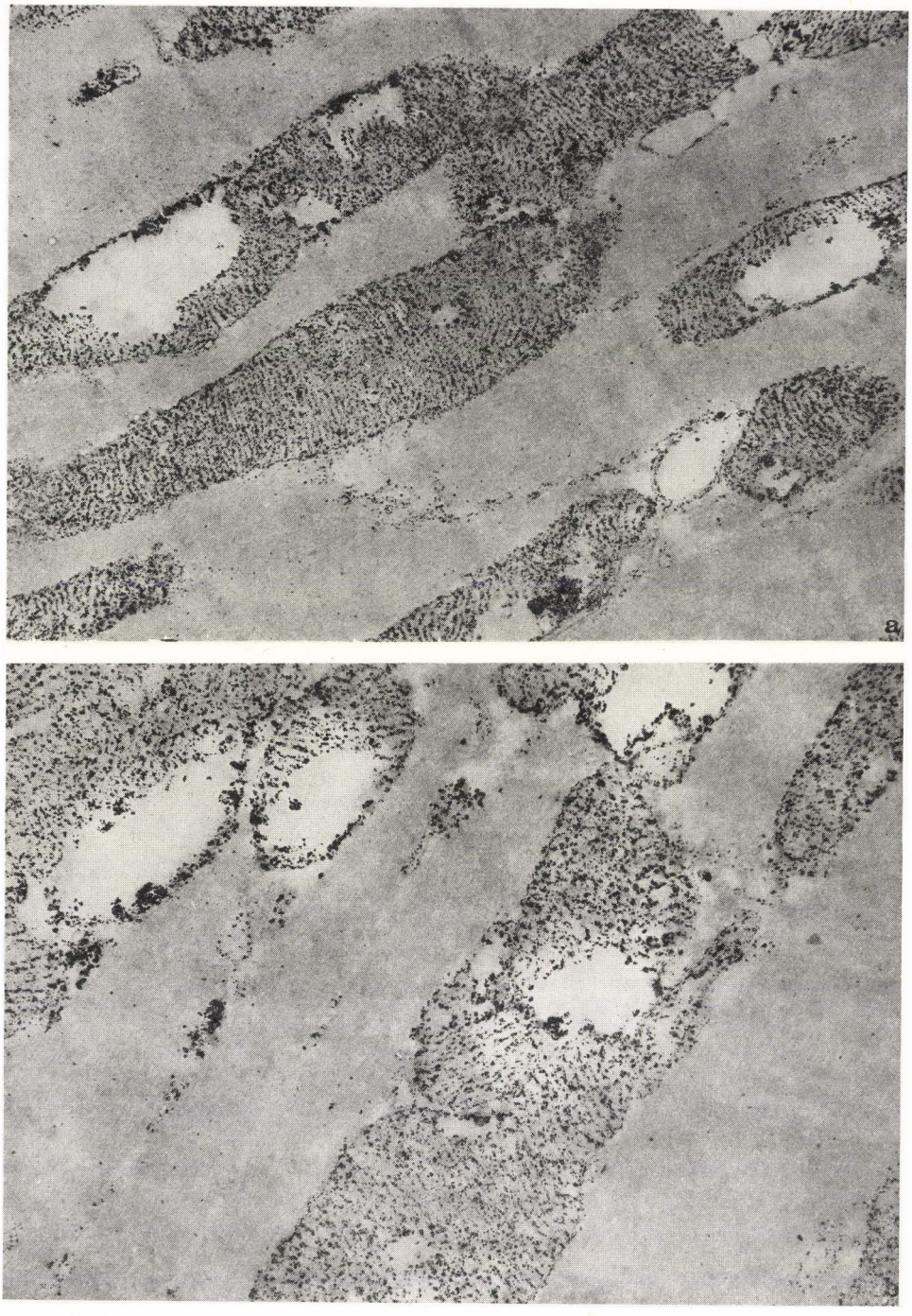
4. Tábla: A filamentumok károsodása az I-csík magasságában jellegzetes, a Z-membran kihúzott elektronszóró anyaga csökkent, ill. eltűnt (a., b., c., d.). 16 000x, 16 000x, 16 000x 16 000x



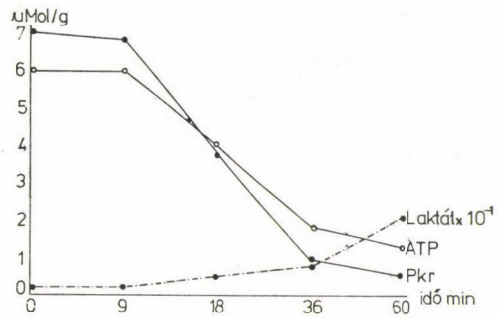
5. Tábla: Az I-csík és Z-membran területében létrejött elváltozások több sarcomert érintve egyszerre alakulnak ki. 16 000x, 16 000x, 16 000x, 15 000x



6. Tábla: Az elváltozások egy területen összefüggően disszeminált necrosis képét hozzák létre (a.). A nagyobb feloldású képen a relaxalt sarcomerekben jól látható az actin filmanetumok szerkezeti károsodása (b.). 19 600x, 26 800x



7. Tábla: A cytochrom-oxydase reakció a sérült területen kiesett. 32 000x, 40 000x



8. Tábla: A grafikon szemlélteti, hogy 18 perces terhelés után az ATP, Pkr csökken, míg a lactát értéke emelkedik.

Kvantitatív biokémiai vizsgálatok, mint enzym- és nucleinsav tartalom meghatározás valószínűleg előbbre vihetik annak tisztázását, hogy a morphológiai változáshoz milyen kezdeti funkcionális destrukció társul. A cytokémiai reakciók kvantitatív következtetések levonását nem teszik lehetővé. A reaktív hyperaemia megszűnésével egyidőben 18 perces intermittáló hypoxiás terhelés után esetenként megkezdődik a mitochondrium külső és belső membránjának sérülése. A folyamattal együttjárhat a glykogén szemcséknek az extramitochondrialis térből a mitochondriumokba való bejutása. A Z-csíkok elektronszóró anyagának csökkenése, az I-csíkokban az aktin filamentumokat érintő filamentolytikus károsodással együtt jelenik meg. A folyamat két, majd több sarcomerre kiterjedve gócos disseminált necrosist eredményez. Az elváltozásokat még nem követi hyperkontrakciós-hyperrelaxaciós másodlagos rostkárosodás. Az enzymcytokémiai reakciók a mitochondriumokban részlegesen esnek ki. A mitochondrium és sarcoplasmaticus membránkárosodás jelzője a kalcium tartalom növekedése, ill. csökkenése is. A hypoxiás terhelés az oxydatív phosphorillatio folyamatát is érinti, az ATP, a Pkr. tartalom csökkenésében és a laktát növekedésében jut kifejezésre.

Az intermittáló hypoxia modelljével viszonylag kis területre lokalizálva, lehetséges a szívizom-elváltozások időrendbeli kialakulásának tanulmányozása. A modellt alkalmasnak tartjuk arra, hogy vizsgáljuk azokat a tényezőket, amelyek késleltetik, vagy esetleg megakadályozzák a disseminált necrosisok kialakulását. Az elváltozások jól reprodukálhatók, kritikusan vizsgálható a reverzibilitás, irreverzibilitás kérdése.

Összefoglalás

Az intermittáló hypoxiás terhelést reaktív hyperaemia felére csökkenése, illetve megszűnése követi. A 9 perces terhelés után a mitochondriumok megnagyobbodása alakul ki megtartott membranszerkezet mellett. A 18 perces

terhelés az I-csíkban egy vagy több sarcomerre lokalizálható, a vékony filamentumokat érintő károsodást hoz létre, ezzel egyidőben csökken a Z-membran elektronszóró anyaga. A mitochondriumok belső membranrendszerének a destrukciója, az enzimcytokémiai reakciók részleges kiesésével jár. A biokémiai vizsgálatok az oxydativ phosphorillatio károsodását igazolták. A folyamatban a Ca^{++} sarcoplasmaticus és mitochondriális eloszlás változásnak bizonyított szerepe van. Az elváltozások jól reprodukálhatók. Az intermittáló hypoxia az angina pectoris morphologiai vizsgálati modelljének is tekinthető.

IRODALOMJEGYZÉK

Bonucci, E. és *Sadum, A.*: Am. J. Path. **71,** 167 (1973).
Büchner, F.: Beitr. poth. Anat. **89,** 644 (1932).
Büchner, F. és *Onishi, S.*: Der Herzmuskel bei akuter Koronarieninsuffiziens inelectron mikroscopischen Bild. Urban und Schwarzenberg München—Berlin—Wien (1968).
Carasso, N. és *Favard, P.*: J. Microsc. **5,** 759 (1966).
Chikamon, J.: Jap. Circulat. J. **32,** 1743 (1968).
Dhalla, N. S., Olson, R. és *Barnhost, E.*: Myocardial Metabolism. Urban and Schwarzenberg. München—Berlin—Wien. (1974)
Feinberg, H. és *Levitsky, S.*: Ann. Thorac. Surg. **20,** 106 (1975).
Ferrans, V. J.: Ann. Thorac Surg. **20,** 11 (1975).
Ganotte, C. E., Worstell, J. B. S. és *Kaltenbach, J. P.*: Amer. J. Path. **84,** 327 (1976).
Hatt, P. Y., Berjal, G., Moravec, J. és *Swynghedauw, B.*: J. Molec. Cell. Cardiol. *I.* 235 (1970)
Hatt, P. Y.: Cardiol. **56,** 73 (1974).
Hoffman, J. I. és *Buckberg, G. D.*: Vasc. Surg. **8,** 115 (1974).
Kerpel-Frónius, S. és *Hajós, F.*: Histochemie. **14,** 343 (1968).
Kjeldsen, K., Strup. D. és *Wanstrup. J.*: Atherosclerosis. **16,** 67 (1972).
Kübler, W.: Verh. dtsch. Ges. Kreisl. forsch. **30,** 211 (1964).
Lajos, T. Z., Cerra, F. B., Montes, M. és *Siegel, J. M.*: Ann. Thorac. Surg. **17,** 20 (1974).
Lapp, H.: Med. Welt. **25,** 258 (1974).
Mela, L. és *Chance, B.*: Biochemistry **7,** 4059 (1968).
Mitin, K., C.: Elektronmikroszkopicseszkij analiz izmenyennje szerca pri infarkte. Medicina Moszkva (1974).
Mulch, J., Schaeper, P., Walter, F. és *Mehrlein, W.*: Thorox. Vasc. Chir. **22,** 571 (1974).
Partin, J. S., Benzing, G. és *Partin, J. C.*: J. Molec. Cell. Cardiol. **4,** 345 (1972).
Poche. K.: Dtsch. Med. Wschr. **37,** 851 (1969).
Róna, G., Boutet, M., Hüttner, I. és *Peters, M.*: Pathogenesis of isoproterenol induceol myocardial alterations. Functional and morphologic correlates. Ed: Dhalla. Recent Advences in Studies on Cardiae Structure and Metabolism. Vol. 3. Baltimore Univ. Park. Press. (1973)
Schaper, W., Schaper, J., Palmowski, J., Thiedemann, V. és *Mehrlein, F.*: J. Cardiovasc. Surg **16,** 268 (1975).
Shen, A. C. és *Jenning, R. B.*: Am. J. Path. **67,** 417 (1972).
Shen, A. C. és *Jennings, R. B.*: Am. J. Path. **67,** 441 (1974).
Seligman, A. M., Karnovsky, M. J., Wasserkrug, M. L. és *Hanker, J. S.*: J. Cell. Biol. **38,** (1968)
Somogyi E., Sótonyi, P., Rózsa, Gy., Nevelős, A. és *Varga, T.*: Zacchia. **42,** 1 (1967).
Somogyi E.: Az elektromos áram szövetkárosító hatásának vizsgálata. Doktori értekezés (1971).
Somogyi, E., Balogh, I., Nemes, A. és *Sótonyi, P.*: The possibilities of electron microscopic tracer techniques in the demonstration of hypoxic heart muscle membrane. V. Int. Congr. Histo-Gytochem. Abstract. Bucharest. (1976)
Sótonyi, P., Somogyi, E., Balogh, I. és *Nemes, A.*: The evaluation of electron microscopic cytochromoxidase reaction in experimental heart muscle hypoxie. V. Int. Congr. Histo. Cytochem. Abstract. Bucharest. (1976)
Whalen, D. A., Hamilton, D. G., Ganote, G. E. és *Jennings, R. B.*: Am. J. Pathol. **74,** 381 (1974)
Zimmer, H. és *Gerlach, E.*: Circ. Res. **35,** 536 (1974).
Trump, B. F., Mergner, W. J., Kahng, M. W. és *Saladino, A. J.*: Circulation **53,** 1 (1976).

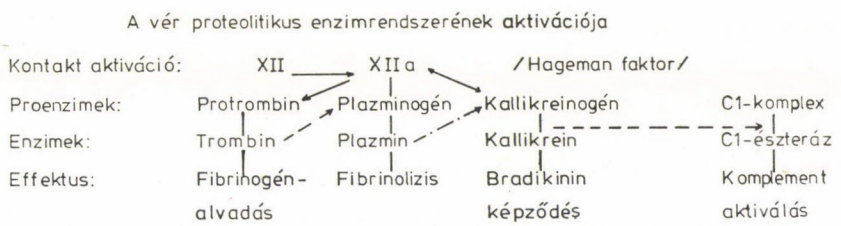
Orvosi Akadémia Farmakológiai és Toxikológiai Intézet,
Erfurt, Német Demokratikus Köztársaság

FARMAKOLÓGIAI JELENTŐSÉGŰ SZINTETIKUS SZERINPROTEINÁZ-GÁTLÓK KIDOLGOZÁSA

MARKWARDT FRANZ

Közlésre érkezett: 1977. X. 7.

A proteolitikus enzimek nemcsak a táplálék fehérjéit bontják le, hanem fontos szerepet töltenek be a szöveti fehérjék mobilizálásában, valamint a farmakológiailag aktív biogén peptidek és peptidhormonok felszabadításában is. A modern biokémia tanúsága szerint a vérben lejátszódó számos biológiai folyamat, mint a véralvadás, a fibrinolízis, a kininogenezis és a komplement aktiválás lényegében analóg reakcióláncokon keresztül valósul meg, melyeket specifikus proteolitikus enzimek irányítanak. A reakció elve az, hogy a vérben keringő proenzimek aktív enzimekké (trombinná, plazminná, kallikreinné és C_1^--észterázzá) aktiválódnak, melyek a soron következő reakcióban, proteolitikus aktivitásuknak megfelelően, a végtermék keletkezését vagy felszabadulását eredményezik. E proteolitikus rendszerek közvetlen vagy közvetett összefüggésben állnak egymással és így a vérben keringő egyik proteáz aktiválódása gyakran a másik aktiválódását is maga után vonja. Így a XII. faktor (Hageman-faktor), melyet a felszíni kontaktus aktivál, nemcsak a protrombin aktivátor keletkezését eredményezi, hanem a kallikreinogént és a plazminogént is aktiválja. Ha figyelembe vesszük, hogy a plazmin is aktiválni tudja a kallikreinogént és a komplement rendszert, akkor világossá válik, hogy a példaként idézett reakciók túlhaladják az egyszerű analógia kereteit (1. ábra). Ha e normális körülmények között jól kiegyensúlyozott rendszerek egyikében túlzott aktiváció következtében hiba támad, úgy súlyos zavarok jelentkezhetnek, thromboembolia, vérzés, gyulladásos reakciók vagy shock formájában. Miután e hiperproteolitikus folyamatok patogenetikai jelentősége világossá vált, az



1. ábra. A vér proteolitikus enzimrendszerének aktivációja

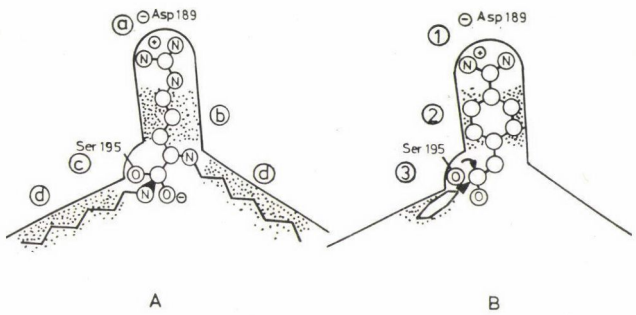
érintett enzimrendszerek kémiai befolyásolásának érdekessége is megnőtt. Az enzimek aktív centrumával reagáló és így az enzimaktivitás biológiai regulációjába beavatkozó, például a genetikusan kontrollált fehérjeszintézist represszáló inhibitorok nagy perspektívákat nyitottak meg.

Az ezekből fakadó farmakológiai feladat olyan gátlószerek kidolgozása volt, melyek a szervezeten belül képesek bénítani a reakciókban szereplő enzimeket, és így befolyásolni tudják az érintett patogenetikai folyamatokat. E problémát kezdetben a természetben előforduló inhibitorok izolálásával és farmakológiai elemzésével próbáltuk megoldani: ilyenek az orvosi piócából nyert specifikus trombin inhibitorok (hirudin) (Werle és mtsai 1968, Markwardt 1972) vagy a szarvasmarha szerveiből kivonható polivalens inhibitorok (aprotinin) (Markwardt és mtsai 1970, Markwardt és mtsai 1971, Bhattacharyya és mtsai 1976). Tekintettel az előállítás nehézségeire és a parenterális alkalmazás hátrányaira, e nagy molekulasúlyú polipeptidek és a szervekből kivonható inhibitorok használata eleve korlátozott.

Döntő haladást jelentett ezért a proteolitikus enzimek szintetikus kismolekulasúlyú gátlószereinek kidolgozása (Glusa és mtsai 1974, Lohmann és mtsai 1964, Hauptmann és Markwardt 1977). Az antiproteolitikumok kifejlesztésének feltétele e gátlószerek receptoraiként szereplő proteinázok szerkezetének és működési mechanizmusának felderítése volt.

A vérben keringő és az adott probléma szempontjából releváns enzimek a tripszin típusú szerinproteinázok csoportjába tartoznak. Ezek észter-proteolitikus aktivitású endopeptidázok, melyek katalitikus aktivitása az aktív centrumban található szerinnek tulajdonítható: a szerin β-hidroxil csoportja intermedier kovalens kötést alkot a szubsztrát molekulával. Az enzim specificitását a szubsztráthoz kapcsolódó központ szerkezeti konformációja határozza meg. Ez egy hidrofób recesszusból áll, melyet apoláris aminosav-oldalláncok alkotnak, és amelynek fenekén egy aszparaginsav disszociált karboxil csoportja helyezkedik el. Ez a karboxil csoport reagál a szubsztrát-fehérjében levő lizin vagy arginin bázikus csoportjaival, ionos kötést alkotva. A szubsztrát kötődését tovább erősítik a szubsztrát apoláris oldalláncai és a hidrofób tasak közötti interakciók, valamint az aktív enzimfelszín más áreáival alkotott hidrogén hidak. Így az enzim képes a szubsztrátot oly módon kapcsolni magához, hogy a hasítandó kötés a reaktív szeringyökkel kerüljön kontaktusba. Az intermedier enzim-szubsztrát komplexből az első hasítási termék felszabadulása útján egy acil-enzim keletkezik, majd hidrolízis (deacilezés) után az enzim ismét szabaddá válik és újabb szubsztrát molekulával reagálhat (2. ábra A).

Elő lehet állítani olyan inhibitorokat, melyek kovalens vagy nem-kovalens kötésbe lépnek az enzim aktív centrumával, oly módon, hogy a szubsztrát acilező komponensét utánozzák. Ilyen vegyületek homológ sorainak vizsgálata azt mutatta, hogy a hatékonysághoz, a szükséges sztérikus konformáción túl, az alábbi szerkezeti feltételeknek kell teljesülniük (2. ábra, B).



2. ábra. Szerinproteináz kölcsönhatása szubsztráttal (A) és szintetikus inhibitorral (B)

1. Az ionos kapcsolatok kialakulásához szükséges bázikus csoport jelenléte.

2. Az enzim szubsztrát-kötő tasakjával való hidrofób kölcsönhatásokat biztosító szerkezeti elemek jelenléte.

3. Egyéb szerkezeti elemek, melyek az enzimfelület egyéb áreáival való járulékos kötések és kölcsönhatások útján növelik az inhibitorok aktivitását és specificitását.

A biokémiai vizsgálatok alapján így hatékony inhibitorokat sikerült identifikálni.

A különböző típusú inhibitorok vizsgálatával megállapítottuk, hogy a vérben keringő szerinproteinázok aktivitásának kémiai kontrolljára a kompetitív gátlók, különösen az aromás amidino-vegyületek a legalkalmasabbak. A leghatékonyabb inhibitorok farmakodinámiai és farmakokinetikai vizsgálata során a 4-amidinofenil-piroszőlősav (APPA) bizonyult a legalkalmassabb eszköznek az in vivo kifejtett antiproteolitikus aktivitás tanulmányozására. Az inhibitor hatékonysága a különböző enzimrendszerek vonatkozásában a K_1 értékekkel jellemezhető. Az enzimgátló már ebben a stádiumban hasznos farmakológiai modelljéül szolgálhat az ilyen természetű vegyületeknek és segítségével felbecsülhető e gyógyszercsoport várható terápiás hatása (1. táblázat).

Véralvadásgátlók

Minthogy az intravascularis véralvadás a cardiovasculáris betegségek életveszélyes szövődménye, illetve sokszor éppen kóroka, a proteináz gátlók kidolgozását először a véralvadásban szereplő szerinproteinázok gátlásával megvalósuló antikoaguláns hatásuk motiválta (Markwardt 1970, Markwardt és Landmann 1972, Okamoto és Hijikata 1975, Markwardt 1971).

Az antikoaguláns hatás elemzéséhez mindenekelőtt meg kell vizsgálni, hogy a benzamidin-származék szelektív trombin-inhibitor-e, vagy olyan széles-

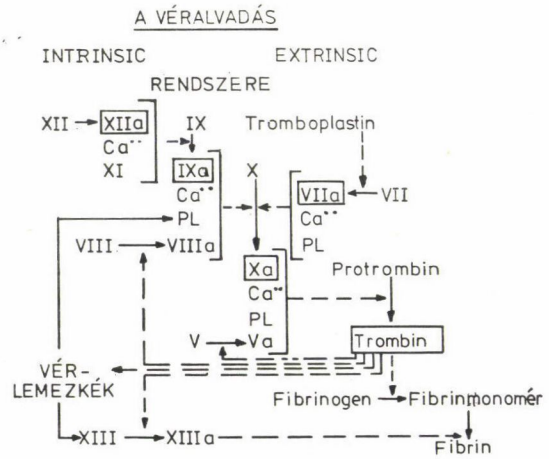
1. táblázat

A vérben keringő szerinproteinázok
Fiziológiai és patogenetikai szerepük és gátlóik farmakológiai jelentősége

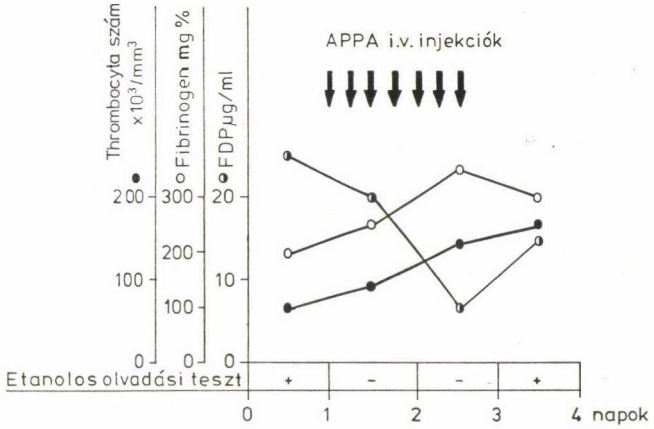
Rendszer	Enzimek	Fiziológia	Patológia	Farmakológia
Véralvadás	Trombin VIIa, IXa, Xa és XIIa faktor	Vérzéscsillapítás	Hypercoagulatio Thrombosis	Anticoagulánsok Antithrombotikumok
Fibrinolízis	Plazmin és aktivátorai	Thrombolysis	Hyperfibrinolysis Vérzés	Antifibrinolytikumok Alvadásgyorsítók
Plazma kininképzés	Kallikrein	Szövetek vérellátása	Shock Gyulladás	Shock terápia Gyulladásgátlók
Komplement	C_1-eszteráz	Immunreakciók mediálása	Immun complex betegségek	Antikomplementhatás Immunszupresszív szerek

spektrumú inhibitor, mely több véralvadási faktort gátol. Ez nem valószínűtlen, minthogy az aktivált faktorok proteolitikus enzimeknek tekinthetők (3. ábra). A trombinon és a Xa. faktoron kívül négy további faktornak (a VII., IX., XI. és XII. faktornak) van reaktív szerincsoportja. Továbbá a gátlószer antikoaguláns hatása nemcsak a trombin-fibrinogén reakció gátlásán alapszik, hanem a véralvadásban és thrombosisban szereplő egyéb trombinkatalizálta reakciók (a trombin okozta thrombocyta-aggregatio, a protrombin aktivációs fázis és a fibrin stabilizáció) gátlásán is.

A cél orálisan adható és gyorsan ható antikoaguláns vegyület kidolgozása volt, melynek ily módon több előnye volna a konvencionális alvadásgátlókkal



3. ábra. **A véralvadási rendszer sémája**
Bekeretezett faktorok: benzamidin-származékokkal gátolható szerinproteinázok



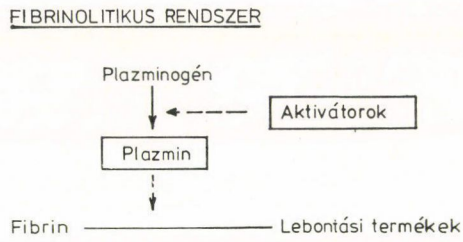
4. ábra. APPA.HCl (1 mg/kg p. dosi) hatása a krónikus disszeminált intravaszkuláris véralvadásra

szemben. Néhány gátlószer, mint az APPA is, már a kísérleti és klinikai farmakológiai kivizsgálás stádiumában van. E trombin-gátló in vivo antithrombotikus hatását bizonyítja, hogy képes megelőzni a thrombusképződést. Kísérleti állatokban APPA adásával sikerült kivédeni a trombininfúzió letális hatását, az experimentális thrombosis kialakulását és a trombin okozta disszeminált intravascularis véralvadás létrejöttét (Markwardt és Klöcking 1972, Okamoto és Okamoto 1962).

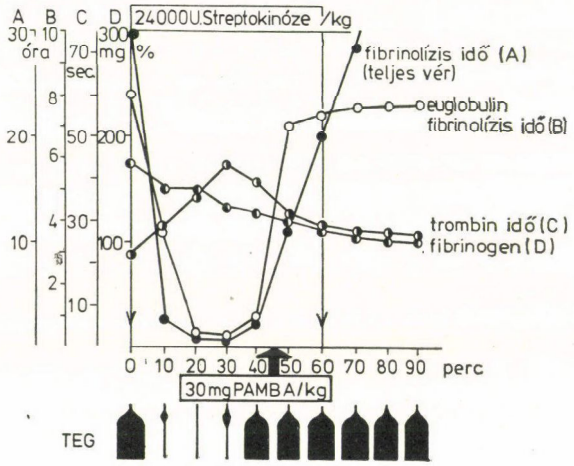
E véralvadásgátló farmakológiai és klinikai farmakológiai vizsgálata alapján terápiás kísérletekre is sok került. E csoportban csak olyan betegek szerepeltek, akiknél rövid kezelési periódus után lehetett hatásra számítani, azaz elsősorban krónikus disszeminált intravaszkuláris véralvadásban szenvedők. Mint a 4. ábra mutatja, APPA-kezelés hatására a fibrinogénszint és a thrombocytaszám normalizálódott, a fibrin monomer komplexek és a degradációs termékek pedig eltűntek a vérből (4. ábra).

A fibrinolízis gátlói

A fibrinolitikus folyamatok jelentőségének felismerése az életveszélyes hemorrhágiás állapotokban mintegy 10 évvel ezelőtt intenzív kutatásokat indított meg olyan szintetikus gátlószerek után, melyek képesek beavatkozni a fibrinolitikus reakciókba (Markwardt és mtsai 1966). A fibrinolízis terápiás célú befolyásolása kielégítően megoldódott a szintetikus antifibrinolitikumok kidolgozásával, mint az ε-aminokapronsav (EACA), az aminometilciklohexánkarboxilsav (AMCA) (Markwardt és mtsai 1974) és a p-aminometilbenzoesav (PAMBA) (Trautschold és mtsai 1967, Markwardt és mtsai 1972). A szintetikus



5. ábra. A fibrinolitikus rendszer sémája. Bekeretezett faktorok: benzamidin-származékokkal gátolható szerinproteinázok



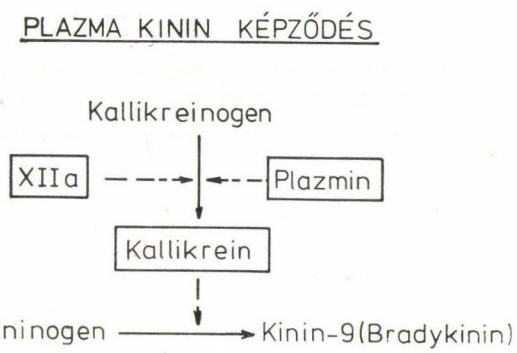
6. ábra. p-aminometilbenzoesav (PAMBA) hatása a streptokinázzal előidézett fibrinolízisre nyúlon

inhibitorok hatásmódja a plazminogén-aktiválás és a plazmin-hatás gátlása (5. ábra).

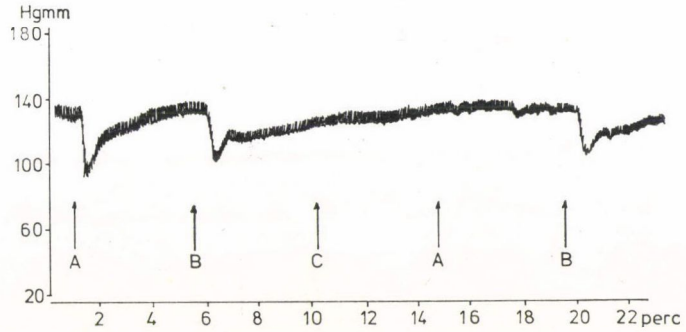
A plazmin aktivitás gátlása megakadályozza a sebet fedő fibrinréteg feloldódását és alvadásgátló bomlástermékek megjelenését, és így a hyperfibrinolysis okozta kórkép kézben tartható (6. ábra).

A kininrendszer inhibitorai

Anélkül, hogy világos képünk volna a kininrendszer fiziológiai szerepéről, annyit tudunk, hogy a plazma kininek korlátlan felszabadulása szerepet játszhat bizonyos kórfolyamatok kifejlődésében. Ez teszi szükségessé a kininrendszer farmakológiai kontrollját. Minthogy mindeddig nem sikerült specifikus kinin-antagonistákat találni, a kininfelszabadulás kémiai regulációja vált fontossá. Az utóbbi évek kutatásai azt mutatták, hogy a kallikrein hatásai in vivo megelőzhetők a szintetikus szerinproteináz gátlókkal (Markwardt 1972,



7. ábra. A kininrendszer sémája. Bekeretezett faktorok: benzamidin-származékokkal gátolható szerinproteinázok



8. ábra. APPA hatása a szerum-kallikrein (SK) és a pancreas-kallikrein (PK) vérnyomáscsökkentő effektusára nyúlon A — SK (3 KU/kg i. v.), B — PK (2 KU/kg i. v.), C — APPA (1,0 mg/kg i. v.)

Markwardt 1974). Ez lehetővé tette bizonyos betegségek és bizonyos shockos és gyulladásos állapotok regulátoros befolyásolását, olyan állapotokét, melyekben a plazma kininek kallikrein okozta felszabadulása oki jelentőségűnek látszik. A kininrendszer kölcsönhatásainak lehetőségeit a 7. ábra mutatja.

Az APPA hatását a kininfelszabadulásra simaizom preparátumokon és vérnyomáson vizsgáltuk. Mint a 8. ábra mutatja, a gátlószer csak szérum-kallikrein ellen hatékony, mely a véralvadási és fibrinolitikus folyamatok során aktiválódik. Az eltérő specificitással rendelkező pancreas-kallikreinnel szemben az inhibitor hatástalan (8. ábra).

A komplement-rendszer inhibitorai

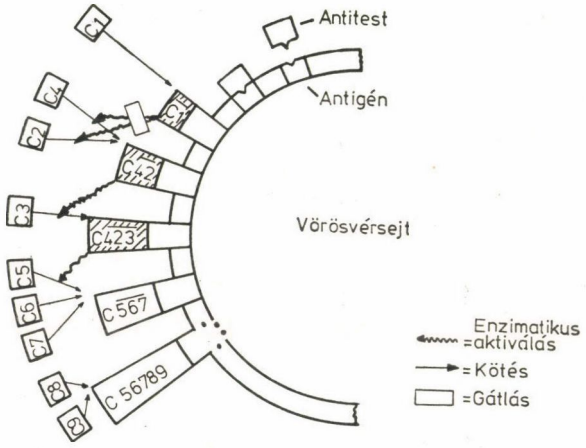
A komplement-rendszer a biológiai membránok extracelluláris effektor és modulátor szisztémáját képviseli. Nemcsak az antigén—antitest reakciók primer mediátora, hanem különböző membrán vonatkozású funkciói is érvé-

nyesülhetnek számos kórfolyamatban. A komplement rendszer elemeit és aktivációs mechanizmusát tekintve több vonatkozásban analógiát mutat a véralvadás, a fibrinolízis és a kininképzés rendszerével (9. ábra). A rendszer 11 különböző protein, illetve glikoprotein komponensből áll. Funkcionálisan három részre osztható:

— a felismerő egység a C1 komplexum három szubkomponensével (C1q, C1r és C1s);

— az aktivációs egység, mely a C2, C3 és C4 komponensből áll

— a membrán-támadó egység a C5-től C9-ig terjedő komponensekkel.

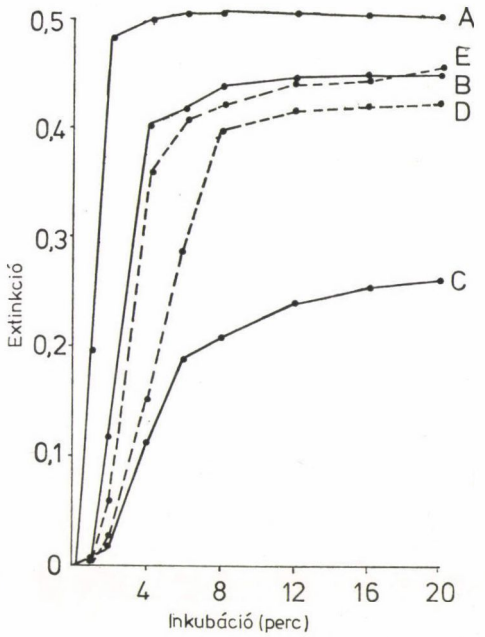


9. ábra. A komplement-rendszer sémája

A három proenzim (C1r, C1s és C2) specifikus limitált proteolízis útján aktiválódik. A C1r aktív szubkomponens aktiválja a C1s-t az aktív észter-proteolitikus $C1_s$ enzimmé, az úgynevezett C_1-eszterázzá, melynek bizonyos szerinproteinázokkal közös tulajdonságai vannak. Komplement aktiválás során legalább négy peptid szabadul fel, köztük két anaphylatoxin. Az aktivációt tripszin, plazmin és kallikrein is beindíthatja. A vérben levő különböző enzimrendszereknek ez a kölcsönös összefüggése arra a feltevésre vezet, hogy a rendszerek bármelyikének kóros aktivációja maga után vonja a komplement-rendszer aktiválódását is, és így szerinproteináz gátlókkal a komplement-rendszerre is lehet farmakológiai hatásokat kifejteni. A kezdeti vizsgálatok például azt mutatták, hogy a szenzibilizált vörösvértestek komplement-függő hemolízise szintetikus inhibitorokkal kivédhető (Markwardt és mtsai 1966) (10. ábra).

Az antiproteolitikumok kifejlesztése eredetileg a vérben lejátszódó proteolitikus események befolyásolására irányult, mivel ezek patogenetikus jelentőségének ismeretében a farmakológiai beavatkozás célja pontosan megfogalmazható. A munka azonban kiterjeszthető a szervezet egyéb szerinprotei-

názaira is. Felmerülhet például a tripszin hatás gátlásának gondolata, amikor az enzim kóros körülmények között a pancreas állományában aktiválódik (Markwardt és mtsai 1974). Szóba jöhet a spermában az akrozin enzim gátlása is, azé az enzimé, mely proteolitikus aktivitása révén lehetővé teszi a petesejtbe való behatolást (Markwardt 1963).



10. ábra. Az immunhemolízis időbeli lefolyása. A — 100% komplement aktivitás, B — 50% komplement aktivitás, C — 25% komplement aktivitás, D — A + 10^{-3} M APPA, E — A + + 5 · 10^{-4} M APPA

A szintetikus inhibitorok annak függvényében válhatnak a terápia eszközeivé, ahogy hatásuk szelektivitása nő, alkalmazásuk biztonsága javul és ahogy farmakokinetikai tulajdonságaikat sikerül a terápiás célkitűzésekhez adaptálni. E vegyületek új gyógyszercsoportot alkothatnak, és közös néven antiproteolitikumoknak vagy szintetikus kismolekulasúlyú szerinproteinázgátlóknak nevezhetők. E példák új gyógyszerek olyan célirányos kifejlesztésének lehetőségét demonstrálják, melynek koncepciója eltér a konvencionális eljárásoktól. A farmakológiai problémát maga a kóros állapot, illetve a kóros állapot patogenezisének feltárása, pontosabban patobiokémiája veti fel. A probléma a hatásszerkezet összefüggések tisztázásával molekuláris biológiai síkról indul és vezet a specifikus farmakodinámiai kutatásokat biztosító állatkísérletekhez. Esetleges behatolását a klinikai orvostudományba az emberen végzett farmakokinetikai és kompatibilitási vizsgálatok tehetik lehetővé.

Összefoglalás

A modern biokémia tanúsága szerint a vérben lejátszódó számos biológiai folyamat, mint a véralvadás, a fibrinolízis, a kininogenezis és a komplement aktiválás lényegében analóg reakcióláncokon keresztül valósul meg, melyeket specifikus proteolitikus enzimek irányítanak. Ha e normális körülmények között jól kiegyensúlyozott rendszerek egyikében túlzott aktiváció következtében hiba támad, úgy súlyos zavarok jelentkezhetnek, thromboembolia, vérzés, gyulladásos reakció vagy shock formájában. Ez farmakológiai szempontból olyan gátlószerek kidolgozásának gondolatát veti fel, melyek bénítják a fenti reakciókban részt vevő enzimeket, és így alkalmasak lehetnek az érintett kórfolyamatok befolyásolására. Biokémiai módszerekkel igen aktív gátlószereket sikerült identifikálni, melyek farmakodinámiai és farmakokinetikai tulajdonságait, továbbá antiproteolitikus aktivitását állatkísérletekben vizsgáltuk. Mindezek eredményeként a gátlószerek egy része klinikai vizsgálatra került, sőt egyes vegyületeket már terápiás célokra alkalmaznak. Ezek a vegyületek új gyógyszercsoportot alkothatnak, és közös néven antiproteolitikumoknak vagy szintetikus kismolekulasúlyú szerinproteináz-gátlóknak nevezhetők.

IRODALOM

Bhattacharyya, A. K., Zanevald, L. J. D. Dragoje, B. M. Schumacher G. F. B. és *Travis J.:* J. Reprod. Fert. **47,** 97 (1976).
Glusa, E., Markwardt F. és *Perlewitz:* J. Farmakol. i. Toksikol. **37,** 70 (1974).
Hauptmann, J. és *F. Markwardt:* Biochem. Pharmac. **26,** 325 (1977).
Lohmann, K., Markwardt F. és *Landmann H.:* Thromb. Diath. haemorrh. **10,** 424 (1964).
Markwardt, F.: Blutgerinnungshemmende Wirkstoffe aus blutsaugenden Tieren. Fischer, Jena (1963).
Markwardt, F., Klöcking, H. P. Haustein K.-O. és *Perlewitz J.:* Acta biol. med. germ. **16,** 15 (1966).
Markwardt, F., Klöcking H.-P. és *Landmann H.:* Thromb. Diath. haemorrh. **15,** 561 (1966).
Markwardt, F. és *Richter M.:* Pharmazie **23,** 620 (1969).
Markwardt, F.: in: Proteolytic Enzymes, [Eds G. E. Perlmann és L. Lorand] Academic Press, New York p. 924 (1970).
Markwardt, F., Klöcking H.-P. és *Nowak G.:* Thromb. Diath. haemorrh. **24,** 240 (1970).
Markwardt, F.: Nova Acta Leopoldina **36,** 47 (1971).
Markwardt, F., Drawert J. és *Walsmann P.:* Acta biol. med. germ. **26,** 123 (1971).
Markwardt, F.: Folia haematol., Leipzig **98,** 381 (1972).
Markwardt, F. és *Landmann H.:* in: Ergebnisse der experimentellen Medizin, Vol. 9. Volk und Gesundheit, Berlin p. 125 (1972).
Markwardt, F.: Thromb. Diath. haemorrh. **27,** 99 (1972).
Markwardt, F. és *H.-P. Klöcking:* Thrombos. Res. **1,** 243 (1972).
Markwardt, F., Klöcking H.-P. és *Landmann H.:* Fibrinolytika und Antifibrinolytika. Fischer, Jena (1972).
Markwardt, F., Klöcking H.-P. és *Nowak G.:* Thromb. Diath. haemorrh. **24,** 240 (1970).
Markwardt, F., Walsmann P. és *Hoffmann J.:* Acta biol. med. germ. **32,** 433 (1974).
Markwardt, F., Drawert J. és *Walsmann P.:* Biochem. Pharmac. **23,** 2247 (1974).
Okamoto, S. és *Hijikata A.:* Drug Design **6,** 143 (1975).
Okamoto, S. és *Okamoto U.:* Keio J. Med. **11,** 105 (1962).
Trautschold, I., Werle E. és *Zickgraf-Rüdel G.:* Biochem. Pharmac. **16,** 59 (1967).
Werle, E., Trautschold, I. Haendle H. és *Fritz H.:* Ann. N. Y. Acad. Sci. **146,** 464 (1968).

Semmelweis Orvostudományi Egyetem Gyógyszertani Intézet, Budapest

A NEUROKÉMIAI INGERÜLETÁTVITEL PRESZINAPTIKUS SZABÁLYOZÁSA

VIZI E. SZILVESZTER, az orvostudományok doktora

Közlésre érkezett: 1977. X. 25.

Neuron és szinapszis

Ramon Y Cajal, spanyol neuroanatómus mutatta ki elsőként, hogy az idegrendszert morfológiailag egymástól független anatómiai egységek, neuronok alkotják. Ez a felfedezés képezte a neuron-elmélet alapját, melyet aztán számtalan támadás ért. Mivel a központi idegrendszer funkcionálisan egységet képez, jogosan merül fel a kérdés, hogyan válik a szinte végtelen számú neuronból (10^{10}) egyetlen koordináltan működő egység? Mi biztosítja a neuronok között a kapcsolatot? Sherrington szinapszisnak nevezte el (synapto görög szó, s azt jelenti: szorosan kapcsolódni) azt a morfológiai és funkcionális egységet, ami a neuronok között a kapcsolatot biztosítja. A dendriteken és a sejttesten nagy mennyiségű szinapszist lehet találni. Ez biztosítja az agyműködés szempontjából oly fontos konvergencia és divergencia lehetőségét. Tehát, hogy az esetleg több ezer neurontól kapott ingert (információt) csak egy neuron vezesse tovább, most már mint egy summációs ingert, vagy egyetlen inger révén informálni lehessen több neuront. Mivel minden neuronhoz átlagban 1000 szinapszis kapcsolódik, így $1000 \times 10^{10} = 10^{13}$ a szinapszisok száma.

A szinapszisban az ingerület tovaterjedése kémiai úton történik: a transzmitter vagy mediátor anyag a preszinaptikus membránból Ca^{2+} jelenlétében akciós potenciál (AP) depolarizációjának hatására felszabadul és a szinaptikus résen keresztül eljutva a posztszinaptikus membránig, kifejti a hatását (ionok iránt megváltoztatja a membrán permeabilitását) és tovaterjedő akciós potenciált generál.

Az elmúlt évtizedben az ingerület különböző átvivő anyagainak felfedezése után a neurobiológusok figyelme joggal fordult a szinapszisokban lezajló elemi jelenségek vizsgálata felé. Idegrendszerünk, agyunk rendkívül bonyolult és főleg plasztikus működését a szinapszisokban lezajló ingerületi és gátló folyamatok biztosítják. A modern biokémiai, farmakológiai, elektrofiziológiai és morfológiai módszerek tették lehetővé a jelenségek celluláris szintű vizsgálatát.

A neurokémiai transzmisszió elméletének első úttörői Elliot (1904) és Dixon (1906) voltak. Elliot már 1904-ben feltételezte, hogy a szimpatikus idegek ingerlésekor olyan kémiai anyag szabadul fel, amely az adrenalin hatásá-

val azonos. Dixon viszont kimutatta, hogy a paraszimpatikus idegek ingerlésekor muszkarinszerű anyag szabadul fel, és ez okozhatja a bél összehúzódásait. Mindezt akkor állították, amikor egyértelműen azt vallotta a tudományos világ, hogy idegingerléskor elektromos áram keletkezik, és ez vezetődik tova a szinapszison keresztül.

A neuro-kémiai ingerület áttevődés első direkt bizonyítéka 1921-ben született, amikor Otto Loewi felfedezte, hogy a vagus ideg ingerlésekor a békaszív oldata leállít egy másik szívet is. Tehát idegingerlésre egy olyan anyag szabadul fel, amelynek hatása van az effektor sejtekre.

Sir Henry Dale acetilkolinnal (ACh) végzett farmakológiai kísérletei lehetővé tették, hogy a Vagusstoffot a szervezet különböző területein azonosítsák az acetilkolinnal. A 30-as években London egyik öreg kórházának laboratóriumában, Hamsteadben Sir Henry Dale és a köré csoportosult kutatók (Gaddum, Brown, Feldberg, Vogt) igazolták, hogy az ACh mediátor anyag a ganglionban, a neuromuszkuláris junctióban és a központi idegrendszerben.

A noradrenalin mediator szerepét von Euler igazolta. A 40-es években világ tudományos közvélemény többsége a minden kétséget kizáró bizonyítékok ellenére sem volt hajlandó elfogadni a kémiai mediáció jelenségét, és változatlanul az elektromos ingerületátvitelt fogadta el. 30 évnek kellett eltelnie, hogy a tekintélyelven alapuló tudományos meggyőződés megváltozzon és elfogadják a neurokémiai mediáció tanát. De jellemző módon ehhez is az kellett, hogy Sherrington tanítványa Eccles, aki az elektromos áttevődés egyik szószólója volt, saját maga is beismerje tévedését, és ő maga 1949 és 1954 között elektrofiziológiai bizonyítékokat szolgáltatva a kémiai mediáció tanához, elfogadja azt, illetőleg elfogadtassa másokkal. Az ötvenes évek elején Eccles, majd Katz és munkatársainak munkája nyomán vált csak általánosan elfogadottá a szinapszis kémiai mediációja.

AZ IDEGRENDSZER INTEGRÁLT MŰKÖDÉSÉT BIZTOSÍTÓ GÁTLÓ JELENSÉGEK

Postszinaptikus gátlás jelensége

A neurokémiai transzmisszió gátolhatósága a biológiai szempontból hasznos működést teszi lehetővé. A preszinaptikus membránból felszabaduló transzmitter anyag a posztszinaptikus membrán ionok iránti permeabilitását megváltoztatja és izgató posztszinaptikus potenciált (EPSP, *E*xcitatory *P*ost-*S*ynaptic *P*otential) vált ki. Ez a hatás főleg a Na^+ permeabilitás fokozásával van összefüggésben. Ugyanakkor néhány transzmitter anyag hatására szelektíven a K és Cl iránti permeabilitás növekszik, és gátló posztszinaptikus potenciál (IPSP, *I*nhibitory *P*ost-*S*ynaptic *P*otential) keletkezik.

A különböző funkciót betöltő neuronok, izgató és gátló tulajdonságúak, a végkészülékből felszabaduló transzmitter anyagaik révén fejtik ki hatásaikat a következő neuronra vagy neuronokra, az effektor sejtekre. A két ellentétes hatás harcából az erősebb kerül ki győztesként és eldönti, hogy az ingerület tovahalad-e, a biológiai válasz létrejön, az effektor sejten vagy sem. Ez tulajdonképpen a neurokémiai ingerületátvitel posztszinaptikus szabályozása.

Preszinaptikus gátlás jelensége

A posztszinaptikus gátlásnál a gátló hatás az effektor sejten érvényesül: csökkenti, vagy teljesen meggátolja az izgató transzmitter depolarizáló hatását.

A preszinaptikus gátlásnál viszont a posztszinaptikus membrán érzékenysége változatlan marad, viszont a preszinaptikus membránból felszabaduló transzmitter mennyisége lecsökken. Dudal és Kuffler (1961) folyami rák neuromuszkuláris junkcióján észlelte először, hogy γ-aminovajsav (GABA) hatására a kvantalis tartalom csökken le. Kísérleteikben elektrofiziológiai módszert alkalmazva indirekte következtettek a transzmitter felszabadulás csökkenésére, Eccles, Eccles és Magni (1961) a szemitendinozus izom idegének ingerlésekor a gastrocnemius soleus motoneuronján az EPSP gátlását észlelte, anélkül, hogy a hozzátartozó idegsejten nyugalmi potenciálváltozás lépett volna fel. A gátlás kb. 200 msec-ig tartott. Eccles szerint (1973) „presynaptic inhibition is explained by the following sequence of events. Impulses on the presynaptic inhibitory fiber depolarize the presynaptic terminal, for one, two or four stimuli to the presynaptic inhibitory input. As a consequence of this depolarization, the action potential of impulses in the presynaptic terminal is diminished in size, which entails a depression of output of transmitter." Véleménye szerint a GABA a preszinaptikus gátló transzmitter.

Kolinerg és noradrenerg idegrendszer kölcsönhatása,
A preszinaptikus gátlás neurokémiai bizonyítása

A neurokémiai transzmisszió fiziológiai és farmakológiai vizsgálata a központi idegrendszer területén mindmáig megoldatlan probléma. Ennek az oka valószínűleg az, hogy nagyon nehéz a központi idegrendszerben olyan funkcionális egységeket izolálni, melyekben a rendelkezésre álló módszerekkel homogén természetű transzmissziós funkciókat mérhetünk. Mérőmódszereink durvasága, a központi idegrendszer komplexitása olyan akadályok, amelyeket ma még nehéz legyőzni. Sajnos, az ma még csak álom, hogy egyetlen szinapszisból mérjük a felszabaduló transzmitter mennyiségét. Ez lehetetlen a szinapszis nagysága és a felszabaduló transzmitter anyag mennyiségét mérő módszerek relatív érzéketlensége miatt. Az elektrofiziológia legmodernebb eszközei — gondolok itt a pre- és posztszinaptikus membrán jelenségeinek egyidejű intracellularis

regisztrálására — már lehetővé tették a mediáció minőségi elemzését egyetlen szinapszisban is, sőt indirekte a felszabaduló transzmitter anyag mennyiségére történő következtetéseket. Azonban ezen módszerek mellett és fontos kiegészítésük képpen a transzmitter anyagok mennyiségének direkt mérése is fontos feladat, amelynek segítségével direkt módon megismerhetjük a mediátor anyag felszabadulásának törvényszerűségeit.

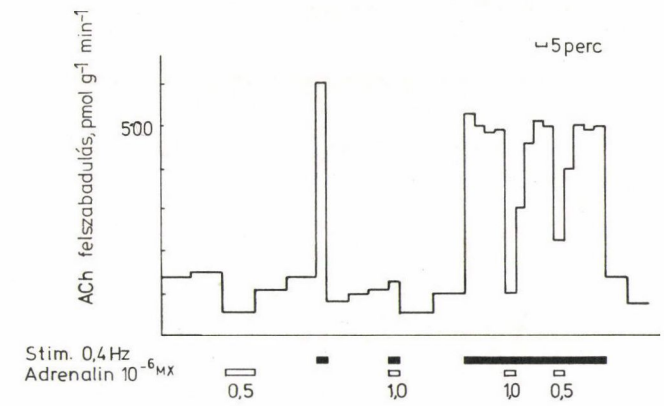
NORADRENALIN PRESZINAPTIKUS GÁTLÓ HATÁSA

Általánosan elfogadott az a nézet, hogy a vegetatív idegrendszer a paraszimpatikus, kolinerg és a szimpatikus, noradrenerg része ellentétes funkciót tölt be.

Az Auerbach-plexus éppen egyszerűsége miatt a fiziológusoknak már évtizedek óta kedvelt területe a gastrointestinalis traktus neurokémiai transzmissziójának vizsgálatában. Bayliss a századforduló táján kimutatta, hogy a thoracolumbális szimpatikus ideg ingerlése gátolja a bél motilitását. Finkelman (1930) klasszikus munkájában bizonyította, hogy a bélhez vezető szimpatikus ideg ingerlésekor egy adrenalinszerű anyag szabadul fel — ma már tudjuk, hogy a noradrenalin —, s ez gátolja a bél ritmikus aktivitását. McDougal és West (1952, 1954) azt találta, hogy az adrenalin és a noradrenalin már alacsony koncentrációban gátolja a tengerimalac ileum perisztaltikus reflexét.

Miután kimutatták, hogy az adrenalin és a noradrenalin gátolja a bélsimaizom-sejtek elektromos aktivitását (Bozler, 1940; Bülbring, 1954 és Bülbring és Kuriyama, 1963) általánosan elfogadottá vált, hogy a kettős beidegzésű szerveknél az egyik transzmitter anyag hatását a másik úgy ellensúlyozza, hogy az effektor sejteken ellenkező hatást vált ki. Így a gastrointestinalis traktus területén az ACh depolarizációt, kontrakciót okozó hatását a szimpatikus idegből felszabaduló noradrenalin hiperpolarizációt és relaxációt okozó hatása ellensúlyozza. Ezzel az elképzeléssel részben ellentétes mechanizmust vetett fel az a felfedezés, hogy a noradrenalin (NA), illetve az adrenalin (A) koncentrációtól függően gátolni tudja az axonális ingerlésre felszabaduló ACh mennyiségét (Vizi, 1968; Paton és Vizi, 1969) a tengerimalac ileum hosszanti simaizom — Auerbach-plexus (Paton és Vizi, 1969) izolált készítményből. Az 1. ábrán látható, hogy az A $0{,}5 \times 10^{-6}$ (3×10^{-7}g/ml, illetőleg 10^{-6} M($0{,}6 \times 10^{-6}$g/ml) koncentrációban csökkenti a nyugalmi ACh felszabadulást, illetőleg a 0,4Hz ingerlés hatására felszabaduló ACh mennyiségét. Ez azt jelenti, hogy a szimpatikus ideg átvivő anyaga preszinaptikusan gátolja a paraszimpatikus ingerület szinaptikus tovaterjedését.

Noradrenalin és adrenalin az ACh nyugalmi felszabadulását is gátolja (Vizi, 1968; Paton és Vizi, 1969) (1. táblázat). Az adrenalin molárisan számolva kb. háromszor hatékonyabbnak bizonyult, mint a noradrenalin. Dopamin



1. ábra. Adrenalin ACh felszabadulást gátló hatása Auerbach-plexusból. Tengerimalac ileum hosszanti simaizom preparátum. Krebs-oldat, 37°C. Ezerin szulfát, 2 μg/ml. Field-ingerlés, 10 V/cm, 1 ms, 0,4 Hz. ACh meghatározás lásd Paton és Vizi (1969) módszerét.

1. táblázat

Katecholaminok gátló hatása az ACh nyugalmi felszabadulására tengerimalac ileum hosszanti simaizom-Auerbach-plexus kolinerg végkészülékeiből. Vizi (1968), Paton és Vizi (1969) adatai. Krebs-oldat, 95% O_2 + 5% CO_2. Ezerin szulfat, 2 μg/ml ACh meghatározás Paton és Vizi (1969) módszerével

	n	Concentráció $\times 10^{-6}$ M	Expozíciós idő (perc)	ACh felszabadulás csökkenése %-ban (S.E.M.)	P
(−)-noradrenalin	1	0,3	20	3,0	
(−)-noradrenalin	5	0,6	20	16,7±4,0	< 0,05
(−)-noradrenalin	6	3,0	20	56,8±2,5	< 0,01
(−)-noradrenalin	5	9,0	20	68,5±4,6	< 0,01
(−)-noradrenalin	3	27,0	20	69,1±8,3	< 0,01
(±)-adrenalin	6	0,3	20	29,4±3,7	< 0,01
(±)-adrenalin	5	1,48	20	65,1±7,0	< 0,01
(±)-adrenalin	6	3,0	20	71,2±5,7	< 0,01
(±)-adrenalin	3	9,0	20	70,6±3,8	< 0,01
(±)-isoproterenol	3	6	20	10,4±6,8	> 0,5
dopamine	3	10	20	12,0±3,0	> 0,5
dopamine	3	100	20	41,0±3,3	< 0,02
phentolamine	3	2,64	25	−12,4±4,3	> 0,05
phentolamine	3	2,64	25	3,6±1,4	> 0,5
+(−)-noradrenaline		9,0	20		
phentolamine	3	2,64	25	1,8±0,6	> 0,5
+(−)-adrenaline		3,0	20		
BAY-1470	5	0,1	20	68,1±3,1	< 0,01

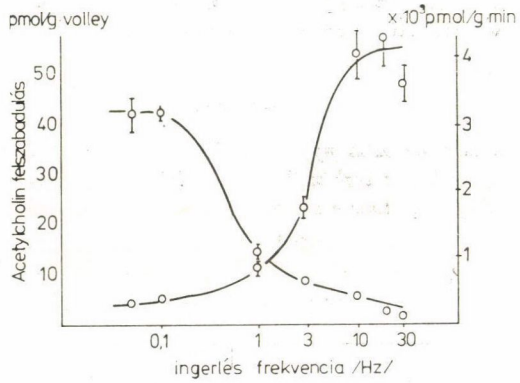
csak lényegesen nagyobb koncentrációban gátolja az ACh felszabadulását (2. táblázat). Az α-receptor-gátló Phentolamin — bár önmaga nem befolyásolta az ACh nyugalmi felszabadulását — gátolta a noradrenalin, az adrenalin, valamint a dopamin ACh felszabadulást csökkentő hatását. Így arra a következte-

2. táblázat

Katecholaminok 50%-os gátlást okozó koncentrációi (ID50) 0,1 Hz-cel ingerelt hosszanti simaizom-Auerbach-plexus preparátumon

	ID50 (M)	Relatív hatékonyság
noradrenalin	10^{-6}	1
adrenalin	3×10^{-7}	3,3
dopamin	6×10^{-5}	0,017

A kísérletekhez noradrenalin hydrogentartarátot (msúly: 337,3), adrenalin HCl (msúly: 219,7) és dopamin HCl-t (msúly: 203,7) használtunk.
Az ID50 értéket 10—15 pontból adódó dózishatás görbéből interpolálással számítottuk ki.



2. ábra. Az acetylcholin felszabadulás frekvencia függősége. Módszer: lásd 1. ábra, 0,05 és 0,1 Hz-nél 60 ingert, 1, 3, 10, 20 és 30 Hz-nél 1200 ingert alkalmaztunk. Az értékek 4—10 kísérlet átlaga. Az egy időegységre jutó ACh-felszabadulást (0——0) pmol $g^{-1}min^{-1}$-ben, az egy inger által felszabadított ACh mennyiségét (0—0) pmol g^{-1} $volley^{-1}$ben (módszert l. Paton és Vizi, 1969) fejeztük ki.

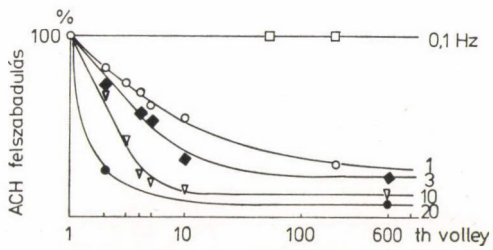
tésre juthatunk, hogy a katecholaminok gátló hatása α-receptoron érvényesül. Ezt bizonyítja az a tény is, hogy a β-receptor izgató izoproterenol (10^{-5}M) hatástalannak bizonyult és a tiszta α-receptor izgató tulajdonságokkal rendelkező BAY—1470 (Kroneberg és mtsai, 1967) már 10^{-7} M koncentrációban 68,1 $\pm$ 3,1%-kal csökkentette az ACh nyugalmi felszabadulását.

Megállapítottuk (Knoll és Vizi, 1970; 1971) (2. ábra), hogy az egyetlen ingerre felszabaduló ACh mennyisége (volley output) a frekvenciával fordított arányban áll: minél nagyobb az ingerlés frekvenciája, annál kisebb az egyetlen inger által felszabadított ACh mennyisége. A noradrenalin gátló hatása is fordított arányban áll az ingerlés frekvenciájával (Vizi, 1968; Paton és Vizi, 1969; Knoll és Vizi, 1970; 1971; Kosterlitz és mtsai 1970). Amíg a noradrenalin 3×10^{-6} M koncentrációban 0,1 Hz-es ingerlésnél 84%-kal csökkentette az egy

3. táblázat

Noradrenalin gátló hatása az axonális ingerléssel kiváltott ACh felszabadulására. Tengerimalac ileum hosszanti simaizom-Auerbach-plexus preparátum (Paton és Vizi, 1969). Krebs-oldat, 95% O_2 + 5% CO_2. Ezerin szulfát, 2 μg/ml.

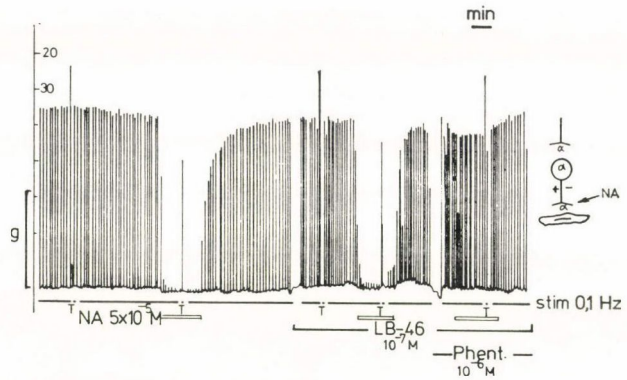
Ingerlés frekvencia	Shock szám	Ingerlés időtartama	Össz ACh felszabadulás pmol/g · min (S.E.M.)	Volley output pmol/g volley	Volley output pmol/g volley (−)-Noradrenalin 3×10^{-6} M	% gátlás
0,05 Hz	60	20 min	305,9±31,6	42,5±6,2	6,78±0,37	84,0
0,1 Hz	60	10 min	401,5±23,8	42,9±1,8	7,33±0,44	83,0
1,0 Hz	1200	20 min	840,7±67,8	10,9±0,7	6,41±0,33	41,7
3,0 Hz	1200	6,6 min	1724,5±209,5	8,9±0,4	6,96±0,40	22,5
10,0 Hz	1200	2,0 min	4051,3±358,9	6,4±0,4	6,78±0,44	−10,5
20,0 Hz	1200	1,0 min	4285,7±515,0	3,4±0,3	3,22±0,26	5,4
30,0 Hz	1200	40 s	3589,7±238,1	1,9±0,1	2,10±0,11	−11,5



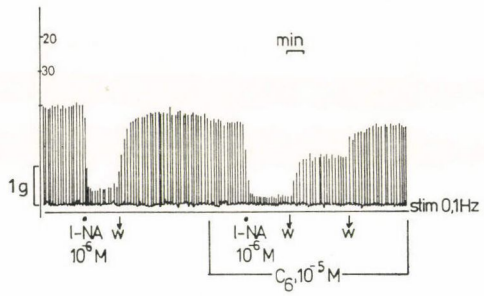
3. ábra. Az egy ingerre jutó ACh-felszabadulás ingerszám függése különböző frekvenciáknál. Auerbach-plexus preparátum. Az első inger által felszabadított ACh mennyisége: 42,6 pmol/g volley. Knoll és Vizi (1971) adatai.

ingerre jutó ACh mennyiségét, 10 Hz-es tartós ingerlésnél noradrenalin a már egyébként is lecsökkent volley-outputot nem tudta tovább csökkenteni. A noradrenalin és az adrenalin hatása egy adott frekvencián koncentráció-függőnek bizonyult. Érdekes megfigyelés, hogy a noradrenalin vagy az adrenalin gátló hatása oly mértékben érvényesül, hogy a különböző frekvenciával kiváltott (<10 Hz) ACh-felszabadulást a 10 Hz-es tartós ingerlés által okozott egy ingerre felszabaduló ACh felszabadulás szintjére csökkenti le (6,4 pmol/g volley). Ez a jelenség látható tulajdonképpen a 3. táblázatban, valamint a 3. ábrán.

A NA csak a 10 Hz-es állandó ingerlés kiváltotta ACh-felszabadulás szintjére tudja lecsökkenteni az egy ingerre jutó ACh mennyiségét. Ez persze azt is jelenti, hogy a NA magas frekvenciájú ingerlésnél is hatékony (Knoll és Vizi, 1971), csak éppen a legelső ingerek által felszabadított ACh-t tudja gátolni, amely nagyobb, mint a tartós ingerléssel kiváltott ACh-felszabadulás (3. ábra). A NA tehát gátolja a magas frekvenciával, de rövid ingervonattal kiváltott ACh-felszabadulást.



4. ábra. Noradrenalin neurokémiai transzmissziót gátló preszinaptikus hatása. NA a field ingerléssel kiváltott kontrakciókat gátolja. Tengerimalac hosszanti simaizom—Auerbach-plexus preparátum. Krebs-oldat, 37°C, 3,5 ml szervfürdő. Field-ingerlés: 1 ms; 10 V/cm: T = 10 Hz és 10 inger. Izometriás regisztrálás. Phent. = phentolamin. LB-46 (Visken). β-receptor gátló.



5. ábra. Noradrenalin gátló hatása a kolinerg neurokémiai transzmisszióra. Izolált tengerimalac hosszanti simaizom preparátum. 0,1 Hz, 1 ms, 10 V/cm(szupramaximális) ingerlés. Krebs-oldat, 37°C, 95% O_2 + 5% CO_2. *a)* Hexamethonium, C_6, nem befolyásolja a NA gátló hatását.

Ha a cholinesteraset nem gátoljuk meg ezerinnel, akkor a field ingerléssel felszabadított ACh-ra a tengerimalac ileum hosszanti simaizom-Auerbach-plexus preparátum kontrakcióval válaszol. A kontrakciók atropinnal, tetrodotoxinnal teljesen felfüggeszthetők, amely arra utal, hogy idegi eredetű ACh okozza a kontrakciót. A kontrakciók nagysága egyébként a neurokémiai ingerületátvitel mértékét jellemzi. Hexamethonium a kontrakciókat nem befolyásolja, ami viszont azt bizonyítja, hogy posztganglionaris, preeffektoriális axon ingerlést alkalmazunk. Amíg a 0,1 Hz-es ingerléssel kiváltott kontrakciókat (4. ábra) a NA 5×10^{-6} M koncentrációban teljesen gátolja, a 10 Hz és 10 ingerrel kiváltott kontrakciót csak 30%-kal csökkenti. A hatás α-receptoron érvényesül, mivel phentolamin e hatást teljesen felfüggeszti és a β-receptor gátló LB-46 nem befolyásolja. NA e gátló hatása a preeffektoriális végkészüléken érvényesül (5. ábra), mivel hatását hexamethonium (C_6) se befolyásolja.

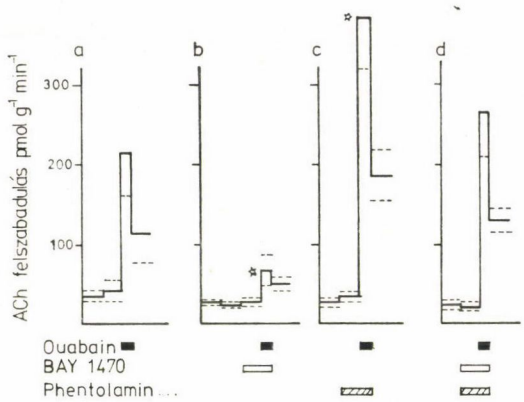
A NA-nak ez a hatása koncentráció függőnek bizonyult: 10^{-7} M-ban már 15%-ban gátolja az 0,1 Hz-es ingerléssel kiváltott kontrakciókat. Az adrenalin molárisan számolva 3-szor hatékonyabb. NA kontrakciót gátló hatása függ az ingerlés frekvenciájától és az alkalmazott ingerszámtól is (Knoll és Vizi, 1971). Az α-receptor bénító phentolamin egyértelműen gátolta a katecholaminok gátló hatását. Az antagonizmus azonban nem bizonyult kompetitívnek (Vizi, Rónai és Knoll, 1974; Vizi, Rónai, Hársing és Knoll, 1977).

1. Vegetatív ganglion

A katecholaminok ganglionáris transzmissziót gátló hatása már régóta ismert. A gátló hatást elektrofiziológiai módszerrel (Marazzi, 1939; Lundberg, 1952; McIsaac, 1966; De Groat és Volle, 1966; Christ és Nishi, 1969) mutatták ki. Christ és Nishi (1971) a katecholaminok e hatását preszinaptikusnak jelölte. Elképzelhető, hogy fiziológiailag az interneuronokból (Joó és mtsai 1971) felszabaduló adrenalin vagy NA preszinaptikusan gátolja az ACh-felszabadulást. Ezt támogatja az az adat is (Csillik és mtsai 1967), hogy nagymennyiségű adrenerg végkészülék van a macska ganglion cervicale superiusában. Eccles és Libet (1961) szerint viszont a chromaffin sejtekből felszabaduló A posztszinaptikusan befolyásolja a transzmissziót a ganglionban. Preganglionáris ingerlésre ACh mellett, ahogy azt Lissák már 1939-ben kimutatta, A/NA is felszabadul. Kísérleteinkben (Dawes és Vizi, 1973) izolált ganglion cervicale superiuson igazoltuk, hogy a katecholaminok α-receptoron keresztül csökkenteni, illetőleg gátolni tudják a felszabaduló ACh mennyiségét, így elképzelhető, hogy a katecholaminok preszinaptikusan a ganglionban is modulálják a kolinerg transzmissziót.

2. Neuromuscularis junctio

Dale, Feldberg és Vogt (1936) ma már klasszikusnak számító munkájában igazolta, hogy az ACh a transzmitter a neuromusculáris junctióban. Emmelin és McIntosh (1956) megerősítette Dale-ék eredményeit. Krnjević és Mitchell (1961), valamint Bowman és Hemsworth (1965) megállapították az ACh-felszabadulás direkt mérésével, hogy a felszabaduló ACh mennyisége az idő függvényében állandóan csökkenő tendenciát mutat. A „safety margin" itt meglehetősen nagy, 6—10, azaz 6-szor, 10-szer nagyobb mennyiségben szabadul fel az ACh, mint amennyi szükséges a neurokémiai transzmisszióhoz (Waud és Paton). Kuba (1970) elektrofiziológiai módszerrel kimutatta, hogy NA-nak itt nincs preszinaptikus gátló hatása, tehát a felszabaduló ACh mennyiségét nem befolyásolja. Sőt kimutatták, hogy a végkészülék α-receptorainak izgalma az ACh quantalis növekedéséhez vezet (Bowman és Raper, 1967).



6. ábra. α-adrenoceptor izgatás acetylcholin felszabadulást gátló hatása. Patkány izolált agykéregszelet. Krebs-oldat, 37°C, ezerin szulfát (2 μg/ml). ACh-meghatározás: Paton és Vizi (1969) módszere. BAY-1470 (50 μg/ml) szelektív α-receptor izgató. Ouabain, 2×10^{-5}M. Phentolamin, 10^{-6}M.

3. *Agykéreg*

Morfológiailag Fuxe, Hamberger és Hökfeld (1968) igazolta, hogy az agykéregben jelentős számú noradrenalint tartalmazó axon található. A locus ceruleus-ból kiinduló noradrenalint tartalmazó neuronok az agykéreg kolinerg rostjainál végződnek, bár axo-axonális szinapszist nem képeznek. Kimutattuk, hogy patkányagykéreg izolált szeletéből ouabainnal kiváltott ACh-felszabadulást a NA részben meggátolja (Vizi, 1972). A 6. ábrán látható, hogy az agykéreg kolinerg neuronjaiból felszabaduló ACh-felszabadulás α-receptor izgatásával csökkenthető. Phentolamin 10^{-6}M koncentrációban önmagában is fokozta az ouabainnal kiváltott ACh felszabadulását: a felszabadulás 218,8 pmol/g.min-ről 413,2 pmol/g.min-re emelkedett. Ez arra utal, hogy valószínűleg az endogén NA felszabadulva állandóan befolyásolja, gátolja az ACh felszabadulását.

A preszinaptikus gátlás fiziológiai jelentőségének bizonyítása

Azt a megállapításunkat (Vizi, 1968; Paton és Vizi, 1969), hogy az exogén NA, ill. A gátolni tudja az Auerbach-plexusból az ingerléssel kiváltott ACh felszabadulását, mások is megerősítették. Beani és mtsai (1969) izolált tengerimalac colonon, Tacca és mtsai (1970) izolált emberi taenia colin, Kosterlitz és mtsai (1970) tengerimalac ileum hosszanti simaizmán, Kazić (1971) egész ileumon is azt találta, hogy a katecholaminok (NA, A) gátolják az ACh felszabadulását a végkészülékből.

Eddigi kísérleteinkben viszont csak azt bizonyítottuk, hogy az exogén, a kívülről a szervfürdőhöz hozzáadott, noradrenalin hogyan befolyásolja a gazdag neuronhálózattal rendelkező Auerbach-plexus ACh felszabadulását.

Hogy a NA-nak ezt a gátló hatása valóban fiziológiás jelentőségű, bizonyítani kell. Tehát azt, hogy az endogén — a noradrenerg rostokból származó NA — felszabadulva olyan helyi koncentrációt tud elérni, amely gátolni képes az ACh-felszabadulást.

További kísérleteinkben azt igazoltuk, hogy az ACh-felszabadulás, így a kolinerg neurokémiai transzmisszió állandó szimpatikus, tehát noradrenerg ellenőrzés alatt áll: a felszabaduló NA modulálja a kolinerg transzmissziót.

Vegetatív idegrendszer

Szimpatikus idegrendszer ingerlésének gátló hatása az ACh felszabadulására. Kísérleteinkhez Finkelman (1930) módszerét használtuk azzal a módosítással, hogy a Krebs-oldathoz 2 μg/ml ezerinszulfátot adtunk, az ACh elbontásának megakadályozására. Ilyen körülmények között — ezerin jelenlétében — természetesen nem volt mód a funkció regisztrálására. Az izolált bélkacshoz futó, az artériát kísérő szimpatikus ideget ingerelve a felszabaduló ACh mennyisége szignifikánsan lecsökkent, a nyugalmi ACh-felszabadulás 32,0 ± 4,0 pmol/g-min-ről 18,6 ± 1,46 pmol/g. min-re ($n = 4$; $p < 0{,}01$). A csökkenés 42%-os. Ez a kísérleti adat arra utal, hogy a szimpatikus ideg ingerlésének hatására felszabaduló noradrenalin gátolni képes az ACh-felszabadulást. Finkelman-preparátumon a szimpatikus idegingerlés gátolja az indirekt ható (Vizi és mtsai 1971, 1972) gasztrointesztinalis hormonok által, továbbá a field ingerléssel kiváltott kontrakciót. α-receptor bénítóval, phentolaminnal ez a gátlás felfüggeszthető. Ezek az adatok arra utalnak, hogy a szimpatikus ideg ingerlésére felszabaduló transzmitter anyag, a NA elegendő magas koncentrációt ér el a kolinerg végkészülék közelében, hogy ott az ACh felszabadulását gátolni tudja anélkül, hogy az ACh hatását a simaizom befolyásolná. Gillespie és Khoyi (1977) nyúl colonon is igazolta, hogy a szimpatikus idegingerlés gátolja a paraszimpatikus ingerlés hatását anélkül, hogy az exogén ACh hatását befolyásolná.

Noradrenerg tónus csökkentésének ACh felszabadulását fokozó hatása. Amennyiben igaz az a feltételezésünk, hogy az Auerbach-plexus, tehát egy kolinerg transzmissziójú neuronhálózat állandó jelleggel a szimpatikus noradrenerg idegrendszer befolyása alatt áll, akkor a noradrenerg dominancia csökkenésével a kolinerg transzmissziónak fokozódnia kell s fokozott ACh-felszabadulást kell eredményeznie. Az egy ingerre jutó felszabaduló ACh-mennyiség a rezerpinnel előkezelt állatokból vett hosszanti simaizom — Auerbach-plexus preparátumból lényegesen magasabb, mint a kontroll kísérletben. Egyébként az a tény, hogy 10 Hz-es ingerlésnél a rezerpin előkezelés nem emeli meg a felszabadítható ACh mennyiségét, arra utal, hogy a nagyfrekvenciás ingerlésnél az endogén

szimpatikus kontroll nem játszik szerepet az ACh-felszabadulás modulálásában. A rezerpin kezelt preparátumon noradrenalin 10^{-6}M koncentrációban a 0,3 Hz-es ingerléssel felszabadított ACh mennyiségét 164,4 $\pm$ 2,4 ng/g.min-ről 67,1%-kal csökkentette. Rezerpin előkezelés egyébként a nyugalmi felszabadulást is fokozta 35%-kal (Paton és Vizi, 1969). Guanetidin — amelyről szintén ismert, hogy adása után pár órával a noradrenalin-felszabadulás lecsökken, fokozta a felszabaduló ACh mennyiségét izolált preparátumon is. 15 mg/kg guanetidinnel előkezelt (6 h, s. c.) tengerimalacból kivett ileum hosszanti simaizom — Auerbach-plexus preparátumból az ACh-felszabadulás szignifikánsan magasabb volt (450 $\pm$ 18,5 pmol/g. min), mint a kontroll állatokból vett Auerbach-plexusból (280,7 $\pm$ 13,6 pmol/g. min ($n = 5$; $p < 0{,}01$). Ezek az adatok nagyon jól összhangban vannak azokkal a klinikai megfigyelésekkel, hogy rezerpin (Rausedyl) vagy quanetidin (Sanotensin) kezelés alatt gyakori mellékhatás a diarrhea, azaz a fokozott bélműködés.

Az α-receptor bénító phentolamin is fokozza az ACh felszabadulását az Auerbach-plexusból (Paton és Vizi, 1969). Ez a hatás is arra vezethető vissza, hogy az endogén NA preszinaptikus gátló hatása függesztődik fel — receptorgátló jelenlétében. Petri és mtsai (1971) kutatásai nyomán ma már eredményesen kezelik a paralyticus ileust α-gátlókkal.

Központi idegrendszer

Igazoltuk (Vizi, 1972), hogy a kolinerg transzmisszió noradrenerg modulációja a központi idegrendszer területén is érvényesül. Ezekből a kísérletekből mindenesetre arra lehet következtetni, hogy az agykéreg neuronhálózataiban működő kolinerg transzmisszió is modulálható noradrenalinnal. A kérdés azonban jogosan merül fel: vajon normális fiziológiás körülmények között a perifériához hasonlóan a noradrenerg idegrendszer, amely a központi idegrendszeren belül is feltehetően fontos funkciót tölt be, hogyan befolyásolja, modulálja a kolinerg transzmissziót. Amennyiben a kolinerg transzmisszió, az acetilkolin felszabadulás állandó jelleggel a NA befolyása alatt áll, akkor a NA-neuronok aktivitásának csökkentése az ACh fokozott felszabadulásához kell hogy vezessen.

Agykéreg. Az ouabain 2×10^{-5}M koncentrációban 18,3 $\pm$ 1,3 pmol/g. min-ről 210,6 $\pm$ 13,4 pmol/g. min-re fokozta az ACh felszabadulását izolált agykéregszeletben (Vizi, 1975) 6—OH—Dopaminnal előkezelt állaton a nyugalmi felszabadulás 26,5 $\pm$ 1,8 pmol/g. min volt. Ouabain ezt a felszabadulási sebességet 310,4 $\pm$ 16,3 pmol/g. min-re növelte (4. táblázat). Az ouabain ACh-felszabadulást fokozó hatása lényegesen jobban érvényesül α-receptor gátló jelenlétében. Phentolamin 10^{-6}M koncentrációban fokozta az ouabain ACh felszabadító hatását. Mivel minden valószínűség szerint agykéregből a membrán ATPáz gátlása az ACh mellett noradrenalin-felszabaduláshoz is vezet,

4. táblázat

Acetilkolin felszabadulása noradrenalin, illetve dopamin szegénnyé tett patkány izolált agykéregszeletből

	Acetilkolin (S.E.M.)		
	tartalom, nmolg/g	felszabadulás*, pmol/g ·min	
		nyugalmi	+ Ouabain 2×10^{-6} M
Cortex	4,82±0,55 (4)	18,3±1,3 (6)	210,6±13,4 (10)
Cortex (6-OH-Dopamin előkezelt)	—	26,5±1,8 (3)	310,4±16,3 (5)

*Gyűjtési periódus, 10 perc. Krebs-oldat. Ezerin szulfát, 2 μg/ml. 40—200 ng súlyú szeletek. Kísérletek száma zárójelben

amint azt vas deferens preparátumon igazoltuk (Vizi, 1975), feltételezhető, hogy az ouabain által felszabadított noradrenalin egyben gátolja az ACh felszabadulását.

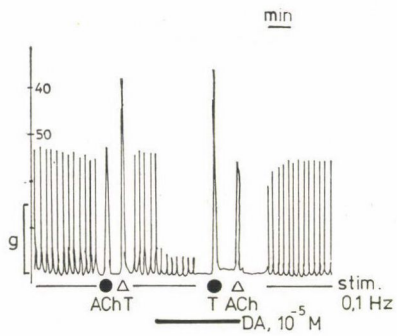
Noradrenalin „negatív feedback" gátló hatása (öngátlás). NA felszabadulva gátolni tudja a saját felszabadulását is (Starke, 1972; Langer és mtsai 1971; Vizi és mtsai 1973) α-receptoron keresztül. Ennek a negatív „feedback" szabályozás fontos szerepet játszik a NA-felszabadulás modulációjában. A szabályozás hatékonyságát igazolja az a tény, hogy α-receptor gátlók hatására nagymértékben megnő a felszabaduló NA mennyisége. NA-nak ezt a hatását az idegrendszer területén igazolták.

A DOPAMIN PRESZINAPTIKUS GÁTLÓ HATÁSA

Dopamin acetylkolin-felszabadulást gátló hatása.

Auerbach-plexus. Korábbi munkánkban kimutattuk, hogy a dopamin 1 μg/ml koncentrációban szignifikánsan nem befolyásolja a nyugalmi és a 0,3 Hz ingerléssel kiváltott ACh felszabadulását (Paton és Vizi, 1969). Későbbi vizsgálatainkban azonban világossá vált, hogy a dopamin is gátolni tudja az ACh felszabadulását az Auerbach-plexusból, csak éppen lényegesen nagyobb koncentráció szükséges hozzá. 50 μg/ml ($2{,}0\times10^{-4}$M) koncentrációban a nyugalmi felszabadulást lecsökkentette 134,5 ± 16,7 pmol/g. min-ről 65,4 ± 6,0 pmol/g-min-re ($n = 5, < 0{,}01$).

Dopamin a NA-hoz hasonlóan gátolja az ingerléssel kiváltott kontrakciókat tengerimalac izolált hosszanti simaizom készítményen (7. ábra). A hatás preszinaptikus: nagy frekvenciával és exogén ACh-val kiváltott kontrakciókat



7. *ábra.* Dopamin (DA) kolinerg neurokémiai transzmissziót gátló hatása ingerelt tengerimalac hosszanti simaizom preparátumon. Krebs-oldat, 37 °C. Field ingerlés. Izometriás regisztrálás. T = 10 Hz, 20 shock.

5. táblázat

Acetilkolin felszabadulása noradrenalin, illetve dopamin szegénnyé tett patkány bazalis ganglion szeletből

	Acetilkolin (S.E.M.)		
	tartalom, nmolg/g	felszabadulás*, pmol/g · min	
		nyugalmi	+ Ouabain 2×10^{-6} M
Bazalis ganglion**	8,62±1,0 (4)	24,6±3,1 (8)	97,1±16,5 (4)
Bazalis ganglion (6-OH-Dopamin előkezelt)	12,4±3,63 (4)	52,8±6,3 (4)	815,2±160,9 (4)

* Gyűjtési periódus, 10 perc. Krebs-oldat. Ezerin szulfát, 2 μg/ml. 40—200 ng súlyú szeletek. Kísérletek száma zárójelben

** 6-OH-Dopamin (100 μg) aszkorbinsav oldatban lett oldva és 10 μl-ban lett intracerebrálisan adva Noble (1967) módszerével.

nem befolyásolja. E gátlás phentolaminnal nem kompetitive jelleggel felfüggeszthető (Vizi, Rónai, Hársing és Knoll, 1977).

Nucleus caudatus. A központi idegrendszerben a nucleus caudatus (Bertler és Rosengren, 1959 és Karlsson, 1969) tartalmazza a legnagyobb menynyiségben a dopamint. McLennan és York (1966), valamint Vogt (1969) viszont azt is bebizonyította, hogy a nucleus caudatusból dopamin szabadul fel. Ugyanakkor kimutatták, hogy a nucleus caudatusba dopamint tartalmazó neuronok futnak be a substantia nigrából (Anden és mtsai 1967). Az 5. táblázat mutatja, hogy az ouabain szignifikánsan megemelte az ACh-felszabadulást a bazalis ganglionból is, és ez a hatása noradrenalinban, ill. dopaminban szegény (6—OH—dopaminnal előkezelt) bazalis ganglionban még jobban érvényesül: az előbbi esetben az ACh felszabadulás 24,6 ± 3,1-ről 97,1 ± 16,5 pmol/g.-minre, illetve 52,8 ± 6,3-ról 815,2 ± 160,9 pmol/g.min-ra emelkedett.

Dopamin „noradrenalin-felszabadulást" gátló hatása.

Dopamin 1/10—1/100 NA hatékonysággal rendelkezik, mint α-receptor izgató. Sok szövetféleségben a NA-nal azonos erősségű a NA-felszabadulás gátlásban (Enero és Langer, 1975, Stärje és Brundin, 1975). Chlorpromazin gátolja a dopaminnak ezt a hatását (Enero és Langer, 1975), ami valószínűsíti, hogy hatását dopamin receptoron fejti ki.

Dopamin öngátló hatása (negatív feedback).

Westfall és mtsai (1976) kimutatták, hogy a dopamin gátolja a (^{3}H)-dopamin felszabadulását patkány izolált striatumából. Ez arra utal, hogy a dopaminerg nigrostriatalis rostokon dopamin receptor van, ennek izgatása dopamin felszabadulás csökkenéséhez vezet.

ACETYLKOLIN PRESZINAPTIKUS GÁTLÓ HATÁSA

ACh gátló hatása NA-felszabadulásra.

Lindmar, Löffelholz és Muscholl (1968) kimutatta, hogy az ACh magas koncentrációban ($2{,}1 \times 10^{-4}$M) csak kis mértékben fokozza a noradrenalin felszabadulását perfundált nyúl izolált szívpreparátumán; atropin jelenléte viszont megtízszerezte a noradrenalin felszabadulását. Mivel az atropin nem befolyásolta a nikotin receptoron ható DMPP hatását ($3{,}1 \times 10^{-5}$M), így felmerült az az elgondolás, hogy a noradrenalin felszabadulása nikotin receptoron keresztül fokozható, muszkarin receptoron keresztül gátolható. Muscholl és mtsai (Löffelholz és Muscholl, 1969; Fozard és Muscholl, 1972) kimutatták, hogy az ACh, dózistól függően ($5{,}5 \times 10^{-8}$—$5{,}5 \times 10^{-6}$M) gátolja a perfundált nyúlszívhez vezető szimpatikus ideg posztganglionáris rostjainak ingerlése által (10 Hz) kiváltott noradrenalin felszabadulását. Kirpekar és mtsai (1972) igazolták, hogy a muszkarin receptort izgató karbakol gátolja a noradrenalin felszabadulását. Nyúlfül-artériából ^{3}H-noradrenalin felszabadulását az ACh gátolta (Allen és mtsai 1972; Steineland és mtsai 1973). Vanhoutte (1976) egyértelműen igazolta, hogy az ACh-nak a vascularis simaizomra kifejtett hatásában komoly szerepet játszik az ACh-nak noradrenerg végkészüléken kifejtett preszinaptikus gátló hatása is. Eltérően a NA ACh-felszabadulást gátló hatásától a magas K-koncentrációval kiváltott noradrenalin-felszabadulást is gátolni tudja a muszkarin receptorok izgalma (Dubey és Muscholl, 1973).

Acetylkolin „negatív feedback" gátló hatása.

Az acetylkolin feedback szabályozásának gondolata a noradrenalinhoz hasonlóan vetődött fel. Azt találták ugyanis, hogy az atropin fokozza az elektro-

mos ingerléssel vagy magas K-val (25—47 mM) kiváltott ACh-felszabadulást, mind egész agyból (Mitchell, 1963; Szerb, 1964; Szerb és mtsai 1970), mind izolált agykéregszeletből (Molenaar és Polak, 1970; Bourdois és mtsai 1971). Dudar és Szerb (1969) ezekből a kísérletekből arra a következtetésekre jutottak, hogy az agykéregben egy olyan kolinerg gátló neuron van, amely része egy feedback körnek és az atropin ennek a működését a muszkarin receptorok gátlásával szüntetné meg. Így a gátlás gátlástalanítása fokozott acetylkolin felszabadulást eredményezne, és ennek hatása jelentkezne az atropin jól ismert központi idegrendszeri hatásainál. Polak (1965) ezzel szemben feltételezte, hogy a gátlás egy lokális feedback mechanizmus: a felszabadult acetylkolin gátolja saját felszabadulását. Később kimutatták (Polak, 1971), hogy az oxotremorin gátolja az atropin acetylkolin felszabadulást okozó hatását. Az atropinnak az ACh-szintézisre kifejtett esetleges direkt ingerlő hatást kizárták (Molenaar és Polak, 1970), így a fokozott acetylkolin-felszabadulást másodlagosan követő szintézis fokozódás (Paton és mtsai 1971) nincs direkt összefüggésben az atropin hatásával.

Az esetleges feedback szabályozás felfüggesztése atropinnal csak indirekt bizonyítékot jelentett a szabályozás igazolására vonatkozóan. Illés, Somogyi, Vizi és Knoll (1972) kimutatták, hogy az oxorotremorin, amely a muszkarin receptor tiszta agonistája, gátolja az acetylkolin nyugalmi felszabadulását tengerimalac ileum Auerbach-plexusában. Ugyanezt a hatást izolált agykéregszeleten nem sikerült kimutatni (Vizi és Knoll, 1972). A kísérletekben a szerzők minden esetben AChE bénítót használtak, hogy meghatározzák az összes acetylkolin mennyiségét, amely felszabadul. Ilyen körülmények között természetszerűleg a szervfürdőben felhalmozódó magas extracellularis ACh-szint már önmagában befolyásolhatja feedback gátlás révén az acetylkolin felszabadulását (Szerb, 1976; Kilbinger, 1977).

Somogyi és Szerb (1972), továbbá Szerb és Somogyi (1973) az előbb említett probléma elkerülése miatt olyan mérési módszert dolgoztak ki, amelynek segítségével az ingerlésre felszabaduló ACh mennyiségét ^{3}H—cholin efflux fokozódásával mérni lehetett. Ilyen kísérleti körülmények között az ACh-meghatározáshoz az AChE bénításra nem volt szükség. Kísérleteikben az AChE-bénítás hiánya esetén az atropin nem fokozta az ACh felszabadulását. Ha a AChE-bénítva volt, akkor az atropin igen jelentős mértékben fokozta az ACh-felszabadulást reprezentáló 3H-cholin effluxot (Szerb és Somogyi, 1973; Bourdois, Mitchell, Somogyi és Szerb, 1974). Később Szerbnek sikerült olyan kísérleti feltételeket teremteni, ahol az atropin fokozta az ACh felszabadulását AChE-bénítás nélkül is. Ennek ellenére valószínűnek látszik, hogy a jelenségnek csak farmakológiai jelentősége van. Vizi (1973) kimutatta, hogy fizosztigmin jelenlétében a szervfürdőhöz hozzáadott, exogén acetylkolin csökkenti az acetylcholin felszabadulását. Ez az adat is azt bizonyítja, hogy az acetylcholin gátolni tudja saját felszabadulását.

Haubrich és mtsai (1972), valamint Trabucchi és mtsai (1975) kimutatták, hogy muszkarin receptor izgató, arecolin és az oxotremorin, továbbá a fizosztigmin csökkenti az agykéregben az acetylcholin, turnoverét ugyanakkor a szöveti acetylcholin tartalom megemelkedett. Az acetylcholin turnover sebességének csökkenése lényegében felfogható a feedback gátlás másodlagos hatásaként. Ehhez azonban további bizonyítékok szükségesek.

Ezekből a kísérletekből arra lehet következtetni, hogy a feedback gátlás muszkarin receptoron keresztül érvényesül, tehát csak olyan szinapszisokban feltételezhető, hogy ez a modulációs rendszer működik, ahol preszinaptikusan a végkészüléken muszkarin receptorok vannak (agykéreg, Auerbach-plexus) olyan szinapszisokban, ahol preszinaptikusan nincs muszkarinszerű receptor, ez a moduláció nem érvényesül.

ADENOZIN ÉS ADENIN NUKLEOTIDOK PRESZINAPTIKUS GÁTLÓ HATÁSA

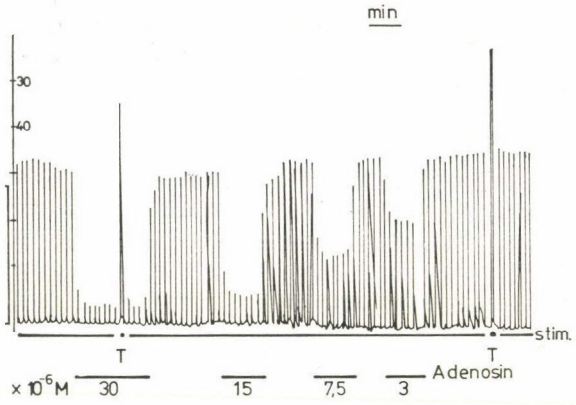
1. *Adenin nukleotidok ACh-felszabadulást gátló hatása.*

Már 1929-ben Drury és Szent-Györgyi leírták, hogy az adenozin gátolja altatott macskán a belek mozgását. Burnstock (1972) összefoglalójában annak a véleményének adott hangot, hogy a bélben egy olyan gátló funkciót betöltő neuron is létezik, amely se nem kolinerg, se nem adrenerg. Elektrofiziológiailag és biokémiailag bizonyították (Burnstock 1972), hogy a gátló transzmitter anyag egy purin alkaloida, valószínűleg az ATP. Meg kell jegyezni, hogy Kuchii és mtsai (1973) kétségbevonták a purin alkaloidok szerepét a bélmozgások gátlásában. Burnstock (1972) szerint az adenosin vagy az ATP hatását a simaizomzaton fejti ki.

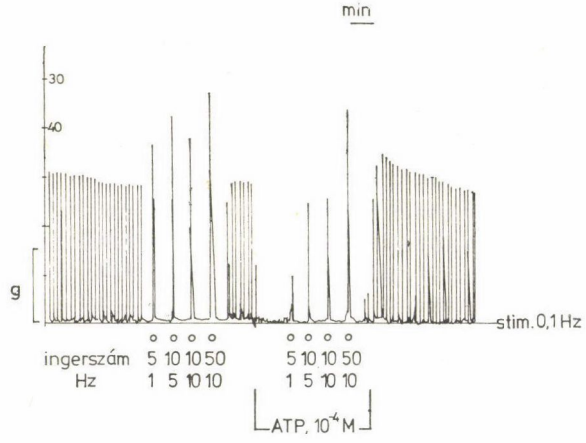
Vegetatív idegrendszer

Megállapítottuk (Vizi és Knoll, 1976), hogy az adenozin, AMP, ADP és az ATP 10^{-6}—5×10^{-5}M koncentrációban szignifikánsan csökkenti az ACh felszabadulását. Adenozin (4×10^{-5}M) szignifikánsan gátolta az Auerbach-plexusban a ganglionok izgatásával ACh-t felszabadító (Vizi és mtsai 1972) cholecystokinin hatását. A teophylline ($1{,}7 \times 10^{-4}$M) az adenin nukleotidoknak ezt a hatását teljesen felfüggeszti. Theophyllin, amely az adenozin receptorokat gátolja (McIlwain, 1972), fokozta az Auerbach-plexusból a kis és nagy frekvenciával kiváltott ACh-felszabadulást (0,1 és 10 Hz). Az ATP hatását a Krebs-oldat Ca^{2+}-tartalmának emelése nem befolyásolta. Ez kizárja annak a lehetőségét, hogy az ATP a Ca belépést gátolva fejtené ki hatását.

Az adenin nukleotidok ACh-felszabadulást gátló hatását természetszerűleg ezerin jelenlétében kellett vizsgálnunk, mivel direkt bizonyítékokat kívántunk



8. ábra. Adenozin kolinerg neurokémiai transzmissziót gátló hatása. Tengerimalac izolált hosszszanti ileum hosszanti simaizom-Auerbach-plexus preparátum. Krebs-oldat, 37°C, 95% O_2 + + 5% CO_2. T = 10 Hz 10 shock. Az adenozin koncentráció függően gátolta az 0,1 Hz-es (stim.) ingerlés által kiváltott kontrakciókat.



9. ábra. ATP kolinerg neurokémiai transzmissziót gátló hatása. Tengerimalac ileum izolált hosszanti simaizom-Auerbach-plexus preparátum. Krebs-oldat, 37°C, 95% O_2 + 5% CO_2. Field-ingerlés. ATP frekvencia és shockszám függően gátolta a transzmissziót.

kapni az ACh-felszabadulást illetően. Azonban, hogy meggyőződjünk arról, hogy befolyásolják-e a nukleotidok az autonom idegrendszer területén a kolinerg transzmissziót, mint előző kísérleteinkben most is ingerelt hosszanti simaizom-Auerbach-plexus preparátumot használtunk és a kontrakciókat izometriásan regisztráltuk. Az adenozin (10^{-6}—3×10^{-5}M), az AMP, ADP és az ATP 10^{-6}—10^{-4}M koncentrációban gátolták a 0,1 Hz-es ingerléssel kiváltott kontrakciókat anélkül, hogy az affektor sejt érzékenységét jelentősen befolyásolták volna (8. és 9 ábrák). A 9. ábrán bemutatjuk, hogy az ATP 10^{-4} M koncentráció-

ban teljesen gátolta az 0,1 Hz-es ingerléssel kiváltott kontrakciókat anélkül, hogy a 10 Hz 50 shockkal kiváltott kontrakciót befolyásolta volna. Ez arra utal, hogy a posztszinaptikus membrán érzékenysége nem változik ACh iránt. Az adenin nukleotidok ismételt adása esetén nem észleltük a tachyphylaxia jelenségének kialakulását. Ugyanakkor azonban megfigyelhető volt, hogy 10^{-4}M-nál nagyobb koncentráció esetén a simaizom összehúzódott.

A guanozin trifoszfát még 2×10^{-4}M koncentrációban sem befolyásolta a 0,1 Hz-cel kiváltott kontrakciókat. Ciklikus AMP dibutirát sója 10^{-4}M koncentrációban sem befolyásolta a kontrakciókat. Nagyobb koncentrációban azonban (10^{-3}M) gátolta mind a 0,1 Hz-es ingerléssel, mind az exogén ACh-val kiváltott kontrakciókat, ami arra utal, hogy a posztszinaptikus membrán érzékenységét is befolyásolja. Miután kimutattuk (Vizi és mtsai 1971; 1972), hogy a gastrin, illetőleg a cholecisztokinin mint enterális hormonok fontos szerepet játszanak a bél motilitásának fenntartásában, megvizsgáltuk, hogy az adenozin nukleotidok hogyan befolyásolják a cholecisztokinin által kiváltott kontrakciókat. A nukleotidok 10^{-6}—10^{-5}M koncentrációban, az alkalmazott koncentrációtól függően, gátolták a cholecisztokinin által kiváltott kontrakciókat.

Központi idegrendszer. Agykéreg

Az adenozin és az ATP nem befolyásolták az ACh nyugalmi felszabadulását patkány izolált agykéregszeletéből. Ugyanakkor viszont teophyllin $1{,}7 \times 10^{-7}$M koncentrációban szignifikánsan emelte az ACh-felszabadulást, $23{,}97 \pm 2{,}18$ pmol/g. min-ről $32{,}7 \pm 1{,}8$-re (6. táblázat). Az adenozin egyébként nem csökkentette a membrán ATPáz gátlással kiváltott ACh-felszabadulást sem.

6. táblázat

Adenozin és ATP hatása az ACh felszabadulásra patkány izolált agykéregszeleten

	Gyűjtési periódus (min)	ACh felszabadulás pmol/g · min (S.E.M.)	Szignifikancia P
1. —	10	23,97±2,18 (8)	
2. Adenozin 3×10^{-5} M	10	18,97±2,8 (3)	2 : 1 < 0,01
3. ATP, 10^{-4} M	10	19,2±3,1 (3)	3 : 1 n.s.
4. Teophyllin, $1{,}7 \times 10^{-4}$ M	10	32,7 ±1,8 (4)	4 : 1 < 0,01
5. Morphin 3×10^{-5} M	10	19,0 ±2,1 (3)	5 : 1 n.s.
6. BAY-1470, 10^{-5} M	10	21,8 ±1,1 (3)	6 : 1 n.s.
7. Ouabain, 2×10^{-5} M	10	218,3 ±58,2 (3)	7 : 1 < 0,01
8. Ouabain, 2×10^{-5} M Adenozin, 3×10^{-5} M	10	165,6 ±21,8 (3)	8 : 7 n.s.

Zárójelben a kísérletek száma. Krebs-oldat. Ezerin szulfát, 2 μg/ml. 95% O_2 + 5% CO_2. Szervfürdő: 3,5 ml.37 °C.

2. Adenin nukleotidek noradrenalin felszabadulást gátló hatása

Hedquist és Fredholm (1976) kimutatta, hogy adenozin már 10^{-6}M koncentrációban gátolja a NA felszabadulását szimpatikus végkészülékből. Hasonló következtetésre jutott Enero és Saidman (1977) is. Kísérleteikben tritiummal jelzett NA-t használtak.

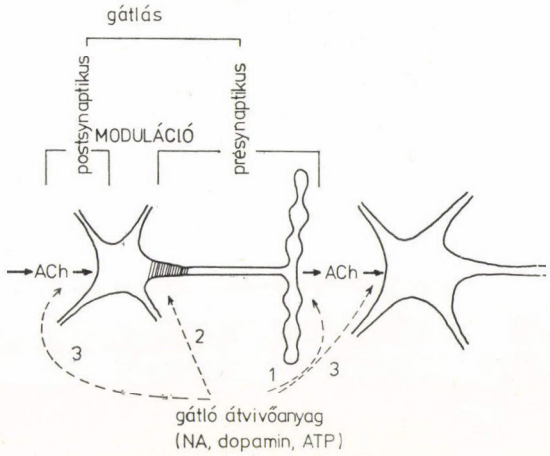
Felmerül most a kérdés, van-e fiziológiai jelentősége az adenozin és az adenin nukleotidok ACh-, illetve NA-felszabadulást gátló hatásának. Ha elfogadjuk Burnstock (Su és mtsai 1971; Burnstock és mtsai 1970; Burnstock, 1972) véleményét, hogy a gastrointestinális traktus területén purinerg rostok találhatók, amelyekből ATP vagy hasonló nukleotida szabadul fel és ebből gyorsan adenozin keletkezhet, akkor jogos feltételezni, hogy a kolinerg transzmisszió preszinaptikus szinten érvényesülő noradrenerg gátlása mellett létezik egy purinerg moduláció is. Miután kimutatták azt is, hogy adenozin szabadul fel az agykéreg ingerlésekor (McIlwain, 1972), így most már az ATP-receptor gátló teophyllin ACh-felszabadulást fokozó hatását agykéregből úgy értékelhetjük, hogy az állandó purinerg kontroll alól szabadul fel az ACh-felszabadulás. Dougles és Poisner (1966) kimutatták, hogy a szimpatikus végkészülékből a noradrenalin mellett ATP is felszabadul. Whittaker és mtsai (1972) az ACh-t tartalmazó vezikulákban jelentős mennyiségű ATP-t mutattak ki. Israel és mtsai (1976) ATP-felszabadulást észleltek a *Torpedo marmorata* ideg ingerlésekor. White (1977) szentjánosbogár luciferin-luciferase enzim segítségével ATP-felszabadulást mért szinaptoszomából. Így plauzibilisnek látszik az a feltételezés is, hogy az ATP vagy hasonló nukleotida a valódi transzmitterrel együtt felszabadulva gátolja a vele felszabaduló átvivő anyag felszabadulását. Másik lehetőség, hogy a purinerg rostból szabadul fel, és gátolja a közelében levő neuronból a transzmitter felszabadulását.

Az adatok alapján plauzibilisnek látszik az a feltételezés, hogy az adenin nukleotidok vagy a végkészülékből, vagy egy „purinerg" rostból felszabadulva modulálják a neurokémiai transzmissziót. Phillis és Kostopoulos (1976) eredményei megerősítik elképzeléseinket, nevezetesen a központi idegrendszerben is az adenozin gátló funkciót tölt be. Kísérleteikben igazolták, hogy különböző adenozin származékok gátolják az agykéreg neuronjain az elektromos aktivitást. Így elképzelhető, hogy az adenozin vagy valamelyik más adenin nukleotida mind a perifériás mind a centrális idegrendszer területén modulátor szerepet játszik: gátolja a transzmitter felszabadulását, így a mérhető elektromos aktivitást is. E jelenség fiziológiai értelmezése, illetve bizonyítása még hátralevő, megoldandó feladat.

A kérdés most már csak az, hogy h o l é s h o g y a n hat az adenozin, illetőleg a hozzá hasonló nukleotida. A noradrenalin hatásához való hasonlósága miatt önként adódik a lehetőség, hogy feltételezzük, hogy a membrán ATPáz

izgatják. Biokémiailag ki is mutatták, hogy az ATP fokozza az ATPáz aktivitását (Robinson, 1973; Yoshida és mtsai 1969).

Felmerül egy olyan lehetőség is, hogy a nukleotidok a cAMP szint növelésével gátolják a felszabadulást, amint azt McAfee és Greengard (1972) feltételezik. Ilyen elgondolás szerint a teophyllinnek, egy foszfodieszteráz gátlónak csökkentenie kellett volna az ACh-felszabadulást. Az eredmény, amit kaptunk, ezzel ellentétes volt; teophyllin növelte az ACh-felszabadulást és gátolta a nukleotidok hatását.



10. ábra. Gátló transzmitterek: Noradrenalin, adenin nukleotidák (ADP, ATP és adenozin) és a dopamin hatáshelyének sémás ábrázolása. 1. Végkészüléken; 2. axon hillock táján; és 3. az effektor sejten. Preszinaptikus az 1. és a 2., posztszinaptikus a 3. lehetőség.

A hatás helyét illetően a 10. ábra mutatja elképzeléseinket. Mivel „field" ingerlést használtunk, így a preeffektoriális axonból felszabaduló ACh gátlása feltétlenül a noradrenalinhoz hasonló preszinaptikus gátlásra utal (1). Mivel a ganglionok izgatásával ható cholecisztokinin hatását teljesen felfüggesztette, így elképzelhető, hogy az axonális inputot valahol az axon hillock táján gátolja, ahol az akciós potenciál is generálódik (2). Az adenin nukleotidok ACh-felszabadulást gátló hatását illetően tulajdonképpen azonos következtetésre jutottak Moritoki és mtsai (1976), akik izolált egész ileumon azt találták, hogy a methylxantinok (10^{-5}—10^{-3}M) fokozzák a transzmurális ingerlésre a választ úgy, hogy közben az exogén ACh és hisztamin kontrakciót okozó hatását csökkentették. Ez a hatás preszinaptikus jellegére utal. Megmérve az egy ingerre jutó felszabaduló ACh mennyiségét, azt találták, hogy a vizsgált methylxantinok közül (theobromin, coffein, teophyllin és imidazol) a theobromin fokozza a legjobban az ACh-felszabadulást, 0,26 ng/g. volley-ról 1,04 ng/g. volley-ra.

NEURONÁLIS PEPTIDEK PRESZINAPTIKUS GÁTLÓ HATÁSA

Lipotropin fragmensei, a β—LPH—(61—91) vagy β-endorphin, a β—LPH—(61—65), vagy methionin-enkephalin gátolják az ACh felszabadulását a Auerbach-plexus kolinerg végkészülékéből. Knoll (1976) kimutatta, hogy az enkephalinok gátolják a noradrenalin felszabadulását. A preszinaptikusan elhelyezhető peptid receptorok érzéketlennek mutatkoztak opiátok (pl. morphin) iránt. Ami azért érdekes, mert az enkephalinokat opioid peptideknek hívjuk éppen azért, mert például ACh-felszabadulást gátló hatásukat preszinaptikus opiát receptoron keresztül fejtik ki a nucleus caudatus interneuronjain (Vizi, Hársing és Knoll, 1977). Knoll kísérleteiből nagyon valószínűen az következik, hogy a morphin és hasonló opiátok csak néhány szinapszisban tudnak olyan receptorokra agonista hatást kifejteni, amelyek az endogén β-endorphinok, enkephalinek iránt érzékeny. Valószínűleg a vérnyomás perifériás szabályozásában szerepet játszó endogén kis molekulasúlyú anyag, az angiohypotensin, amelyet Knoll fedezett fel 1977-ben, az endogén neuronális peptideknél is szelektívebb hatású. Az arteria pulmonalis neuro-effektoriális transzmisszióját gátolja preszinaptikus támadásponttal, ugyanakkor egyéb noradrenerg szinapszisban hatástalan.

Loh és mtsai (1976) kimutatták, hogy az enkephalinok gátolják a dopamin felszabadulását. Taube és mtsai (1976) a NA-felszabadulás gátlását észlelték az occipitalis cortex területén. β-endorphin, valamint az enkephalinok a n. caudatus területén gátolva a dopamin felszabadulását szignifikánsan fokozták az ACh felszabadulását (Vizi és mtsai 1977). Ebben az esetben a gátló transzmitter, a dopamin-felszabadulás gátlása a kolinerg transzmisszió fokozódásához vezetett.

ÖSSZEFOGLALÁS

A preszinaptikus gátlás fiziológiai jelentősége

Az elmúlt években neurokémiai módszerekkel igazolódott, hogy az egyik transzmitter úgy gátolja illetőleg csökkentheti a másik hatását, hogy gátolja, illetőleg csökkenti annak felszabadulását. A preszinaptikus gátlás véleményünk szerint egy nagyon gazdaságos formája a kémiai ingerületátvitel modulálásának.

A gasztrointesztinális traktus területén a vegetatív idegrendszer két alapvető transzmitterének a noradrenalinnak és az acetilkolinnak az egymással ellentétes hatását eddig úgy magyarázták, főleg Bülbring és iskolájának (lásd Furness és Costa, 1974) kutatási eredményeinek a hatására, hogy azok az effektor, a simaizom sejten vetélkednek egymással. Az ACh depolarizál és kontrakciókat okoz, a NA hiperpolarizál és relaxációt okoz. A simaizom sejt

aktuális állapota a transzmitter anyagok effektor sejten kifejtett hatásának az eredőjeként fogható fel.

Kísérleti eredményeink ezt a felfogást cáfolják, és érdekes, hogy tulajdonképpen Lord Lister (1858) több mint százéves elképzeléseinek adnak hitelt és szolgáltatnak direkt neurokémiai bizonyítékokat: „The inhibitory influence does not operate directly on the muscular tissue, but on the nervous apparatus by which its contractions are, under ordinary circumstances, elicited."

Az endogén eredetű NA is képes az ACh-felszabadulás csökkentésére, így fiziológiás jelentőségűnek tekinthető a NA-nak, a szimpatikus idegrendszer transzmitterének preszinaptikus gátló hatása a paraszimpatikus neurokémiai transzmisszióra, az ACh felszabadulására. Ezen koncepció alapján például a paralyticus ileus, legalábbis részben, úgy magyarázható, hogy a fokozott szimpatikus kisülés fokozott NA-felszabadulást okoz és az Auerbach-plexus α-receptorainak izgatásával az ACh-felszabadulás gátlását, ezáltal a bélmotilitás csökkentését okozza (7.a táblázat). A klinikai gyakorlatban először Petri és mtsai (1971) vezették be az alfa-receptor bénító hatással is rendelkező fenotiazinokat (Trisedyl) az ileus kezelésére.

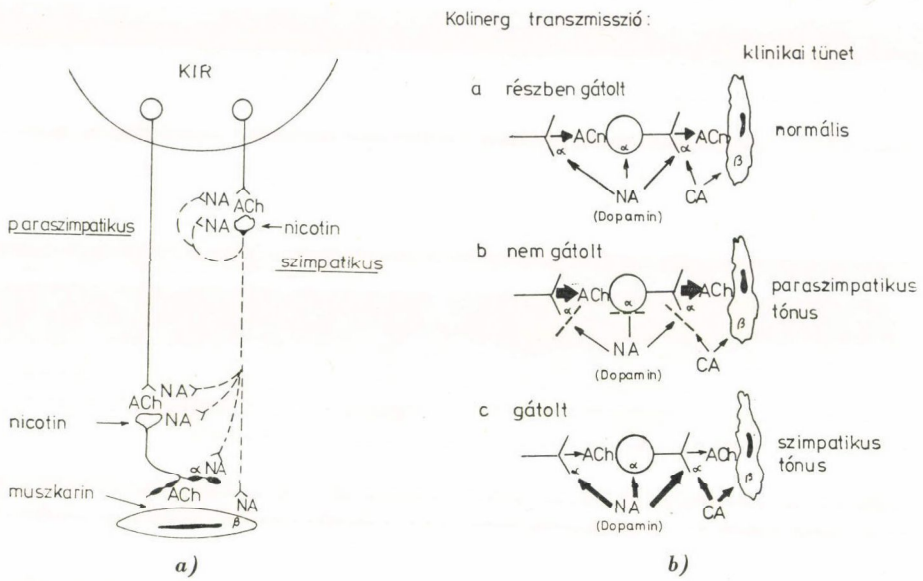
7. a. táblázat

Kolinerg és noradrenerg idegrendszer kölcsönhatása az Auerbach-plexus területén.

	noradrenerg — transzmisszió	
	csökkentett	fokozott
Auerbach-plexus (vékonybél)	diarrhea	obstipáció paralytikus ileus
	fokozott	csökkentett
	Kolinerg-transzmisszió	

A noradrenerg idegrendszer állandó gátló hatása, mint egy „fék" érvényesül a kolinerg transzmisszión (11. ábra). Az α-receptoron keresztül érvényesülő gátlás felfüggesztése fokozott transzmitter (ACh) felszabaduláshoz vezet. Klinikailag ez a gasztrointesztinális traktus területén fokozott bélműködéssel jelentkezik. Ez a jelenség érvényesül (Petri és mtsai, 1971) a gasztrointesztinális traktus szimpatikus innervációjának csökkentésénél (reserpin, α-gátlók; phentolamin, Trisedyl). Fokozott szimpatikus innervációnál az ACh-felszabadulás csökken (pl. műtét alatt, stressben), és a bélmozgás teljesen gátlódik (pl. paralyticus ileus) (7.b táblázat).

Felmerül a kérdés, hogy hol van a NA-nak a hatása. Mivel a NA az axonális ingerlés hatását (12. ábra) is gátolja, így a preszinaptikus végkészülken való hatását bizonyítottnak vehetjük. Hatása frekvencia függetlenné válik, tehát nagy frekvenciával való ingerlésnél is érvényesül, ha preganglionárisan ingerlünk és a posztganglionáris végkészülésből felszabaduló ACh hatását mér-



11. ábra. Noradrenerg és kolinerg vegetatív idegrendszer kölcsönhatása (A). Fiziológiás körülmények között a szimpatikus idegből felszabaduló noradrenalin állandó jelleggel gátolja az acetylkolin felszabadulását (B) és így modulálja a kolinerg transzmissziót (a). Ha a szimpatikus ideg funkciója lecsökken, vagy gyógyszerrel gátoljuk a NA felszabadulását (Rausedyl, Sanotensin), vagy az α-receptoron a hatását (Regitin, Tolazolin, Trisedyl) a kolinerg ideg felszabadul a gátlás alól és az ACh-felszabadulás fokozódik és a paraszimpatikus tónus válik dominenssé (b). Ha a szimpatikus ideg funkciója endogén okok miatt fokozódik, az ACh-felszabadulás gátlódik, a kolinerg transzmisszió lecsökken és szimpatikus dominancia keletkezik (c). A keringő katecholaminok (CA) is feltételezhetően modulálhatják a kolinerg transzmissziót.

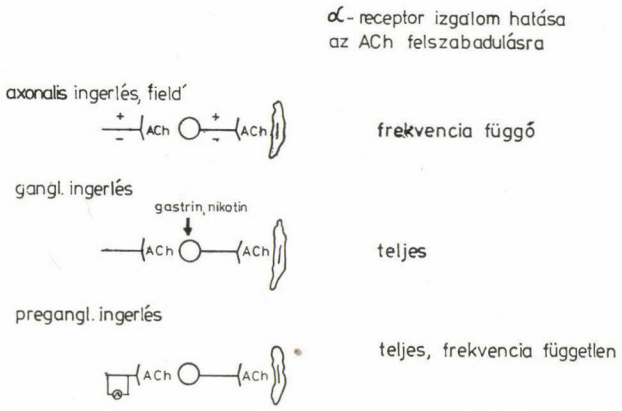
7. b. táblázat

Noradrenerg idegrendszerre ható gyógyszerek és mellékhatásaik

	hatás	klinikai mellékhatás
Tolazolin	α-gátló	diarrhoea
Regitin (Phentolamin)	α-gátló	diarrhoea
Trisedyl	α-gátló	diarrhoea
Sanotensin	NA-felszabadulást csökkentő	paraszimpatikus tünetek, diarrhoea
Rausedyl	NA-tartalom és felszabadulást csökkentő	paraszimpatikus tünetek, diarrhoea, bradycardia

jük (12. ábra). Ez az adat arra utal, hogy a NA valószínűleg az AP generalizálódását gátolja (10. ábra). Ez a hatás a NA membrán ATPáz izgató hatásával van valószínűleg összefüggésben (Vizi, 1977).

Az Auerbach-plexus kolinerg transzmissziójának gátlásában a dopamin 60-szor gyengébb hatásúnak bizonyult, mint az NA. Dun és Nishi (1974) elektrofiziológiailag igazolta, hogy dopamin gátolja a neuronok kiváltott poten-



12. ábra. Noradrenalin kolinerg transzmissziót gátló hatásának frekvencia és ingerlés függősége (Vizi, 1975). Axonális (tér) ingerlésnél frekvencia függő; kis frekvenciánál (3 Hz) gátol (Vizi, 1968; Paton és Vizi, 1969); ganglionáris ingerlésnél teljesen gátolja az ACh felszabadulását (Vizi, 1973), mint ahogy preganglionáris ingerlésnél azaz, ha a neurokémiai transzmisszióba legalább egy szinapszis közbe van kapcsolva és csak a második szinapszisban mérjük a hatást (Vizi, 1975).

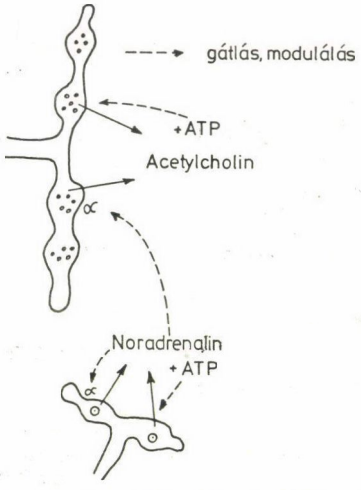
ciáljait. Hirst és Silinsky (1975) az iontoforetikusan adott NA és dopamin hatását submucosus-plexus gátló szinaptikus potenciáljával hasonlónak találták és a dopamin vagy más katecholamin gátló szerepét valószínűsítették. NA és az adrenalin preszinaptikus gátló hatását elektrofiziológiailag is megerősítették (Nishi és North, 1973; Hirst és McKirdy, 1974a, b, Hirst és Silinsky, 1975). Ezek az adatok is megerősítik elképzelésünket, hogy az Auerbach-plexus területén a NA a gátló transzmitter, és ez a hatása főleg preszinaptikusan érvényesül.

Muscholl és mtsai kimutatták, hogy az ACh, valamint a paraszimpatikus ideg ingerlése is gátolni tudja a NA felszabadulását. Így az általunk leírt jelenséggel együtt tehát, hogy a NA gátolja az ACh-felszabadulást, egy sajátos kölcsönhatás van a kétféle idegrendszer között: a transzmitterek preszinaptikusan gátolják egymás felszabadulását.

Ehhez a kétoldalú modulációhoz kapcsolódik az a jelenség is, hogy a NA saját felszabadulását is gátolni képes α-receptoron keresztül (Starke, 1971; 1972; Farnebo és Hamberger, 1971; Kirpekar és Puig, 1971; Langer és mtsai, 1971; Vizi és mtsai, 1973). A 13. ábra vázlatosan mutatja a kolinerg-adrenerg idegrendszer kapcsolatát.

A neurokémiai transzmissziónak ez a preszinaptikus modulálása lényegesen gazdaságosabb, mint ahogy azt eddig hittük, amikor az effektor sejteken való ellentétes hatással magyaráztuk a vegetatív idegrendszer területén a kétféle transzmitter anyag ellentétes hatását.

Érdekes, hogy valamennyi preszinaptikus gátlás receptoron keresztül érvényesül és a gátlás mértéke frekvencia és shock-szám függő, mind a kolinerg (Knoll és Vizi, 1970; 1971), mind a noradrenerg (Vizi és mtsai, 1973) neuronokon.



13. ábra. Kolinerg-noradrenerg idegrendszer kölcsönhatása. NA gátolja az ACh felszabadulását (Vizi, 1968; Paton és Vizi, 1969; Vizi és Knoll, 1971); ACh gátolja a NA felszabadulását (Löffelholz és Muscholl, 1969); NA gátolja a saját felszabadulását (l. Starke, 1972). Ha a vesikulából szabadul fel a transzmisszió során az átvivő anyag, akkor feltételezhető, hogy ATP is vagy más adenin nukleotida szabadul fel és ez gátolni tudja a vele felszabaduló ACh (Vizi és Knoll, 1976) vagy NA (Hedqvist és Fredholm, 1976) további felszabadulását.

A kérdés jelentőségét bizonyítja, hogy Rochette és Bralet (1975) kimutatták, hogy a α-receptor izgató clonidine gátolja az 5-HT „turnover"-jét, csökkenti a 5-hidroxyindolecetsav ürülést, ami a felszabadulás gátlásának a jele. Ez azt jelenti, hogy a neurokémiai ingerületátvitel preszinaptikus és valószínűleg az axon hillock táján érvényesülő modulációja általános jelenség.

További kísérleteinkben igazoltuk, hogy a központi idegrendszer területén a NA és/vagy a dopamin játszhat ilyen modulatív szerepet.

Ezt bizonyítaná az az észlelésünk, hogy az α-receptor (NA, BAY—1470) izgatása csökkenti az ouabainnal kiváltott ACh felszabadulását patkány agykéregben. Noradrenerg rostok szelektív (6—OH—dopaminnal) roncsolása viszont fokozza az ACh felszabadulását, ami azt jelenti, hogy a központi idegrendszer területén is a kolinerg transzmisszió állandó „fékezés" alatt áll, modulálva van.

Felvetettük annak a lehetőségét is, hogy adenin nukleotidok is modulálják a kolinerg transzmissziót. A vegetatív idegrendszer területén ez nagyon valószínűnek látszik, de a központi idegrendszerben még további bizonyítékokkal kell ezt az elképzelést igazolni. Mindenesetre Phillis és Kostopoulos (1976) feltételezi, hogy az adenozin transzmitter szerepet tölt be az agykéregben.

Noradrenalin preszinaptikus gátló hatása a központi idegrendszerben

Kísérleteinkben azt találtuk, hogy a dopamin csökkenti az ACh felszabadulását a bazális ganglion preparátumból is. Mivel az *in vivo* 6—OH dopamin

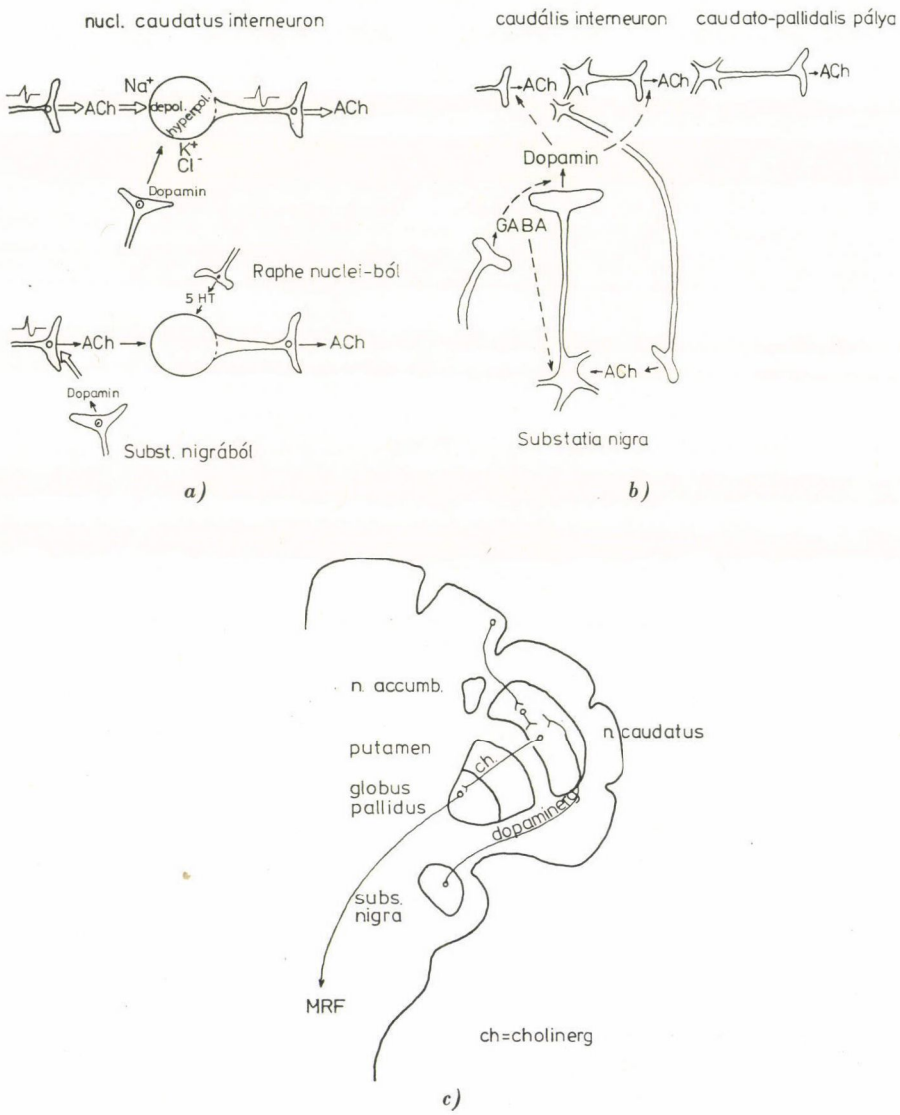
előkezelés az *in vitro* ACh-felszabadulás szignifikáns fokozódásához vezetett, így könnyen elképzelhető, hogy a dopaminerg rostok, amelyek a substantia nigrából indulnak el és a corpus striatumban végződnek, ott preszinaptikusan modulálják, gátolják a kolinerg neurokémiai transzmissziót (14. b ábra). Véleményünk szerint a dopaminnak ez az állandó gátló — moduláló hatása a corpus striatum kolinerg neuronjaira biztosítja az extrapiramidalis rendszer normális funkcióját. Ennek a sajátos egyensúlyi állapotnak a megbomlás vezet Parkinsonkórhoz (Barbeau, 1968). Ehringer és Hornykiewitz (1960) azt találta, hogy a dopamin tartalom alacsony elhunyt parkinsonos betegek neostriatumában. A klinikai megfigyelések szerint az L-dopa kezelés (Barbeau, 1968; Birkmayer és Hornykiewitz, 1961) vagy a kolinerg transzmisszió gátlása atropinnal az extrapiramidális rendszer megbetegedésének javulásához vezet. Trabucchi (1975) kimutatta, hogy az 1-Dopa, tehát a dopamin prekurzora gátolja a corpus striatumban az ACh turnoverjét. A turnover gátlás felfogható úgy is, hogy az ACh-felszabadulás volt gátolva, hiszen az ACh szintézise függ a felszabadulás mértékétől (Paton, Vizi és Zar, 1970).

A 14. ábra mutatja sémásan elképzelésünket, hogy a substantia nigra pars compactéjából származó dopamint tartalmazó nigrostriatum rostok hogyan befolyásolják a nucleus caudatusban helyet foglaló kolinerg transzmissziót.

Állatkísérletben kimutatták, hogy az antipsychotikus vegyületek, mint pl., a Chlorpromazin vagy a Haloperidol fokozzák a catecholaminok metabolizmusát: a vérben megjelenő és a vizeletben kiürülő metabolitok mennyisége megnő anélkül, hogy a raktárak katecholamin tartalma megváltozna (Carlsson és Lindqvist 1963).

Sedwall és mtsai (1974) emberben is hasonló jelenséget észlelt. Ezt a jelenséget sokáig nem tudták megmagyarázni, hiszen a metabolitok megjelenése fokozott felhasználás, tehát fokozott funkció eredményeként fogható fel. Ugyanakkor jólismert, hogy a Chlorpromazin vagy a Haloperidol, illetőleg bármelyik származékuk mind a periférián, mind pedig a központi idegrendszerben a katecholaminok (Noradrenalin, Dopamin) receptorait gátolják. Azaz gátolják a noradrenerg, illetőleg dopaminerg idegrendszer funkcióit. Ma már tudjuk, hogy a kolinerg idegekhez hasonlóan (Vizi, 1968; Paton és Vizi 1969; Vizi 1976) a noradrenerg végkészüléken is vannak noradrenalinra, illetőleg a dopaminerg végkészüléken (Nigrostriatalis pálya) dopaminra érzékeny receptorok, amelyeknek izgatása alfa, illetőleg dopamin receptoron keresztül a végkészülék transzmitter anyagának felszabadulásának csökkenéséhez vezet. Ezen autoreceptorok (Carlsson 1975) gátló szerepet töltenek be, és a folyamatosan felszabaduló Noradrenalin, illetőleg Dopamin egyben gátolja saját felszabadulását is. Az antipsychotikus vegyületek posztszinaptikus gátló hatásuk mellett preszinaptikusan is gátolják az autoreceptorokat, és így tulajdonképpen fokozott transzmitter felszabadulást okoznak, bár posztszinaptikus gátló hatásuk miatt

a neurokémiai transzmissziót, az idegingerület tovaterjedését, tehát a funkciót gátolják. A fokozott transzmitter felszabadulás a metabolitok mennyiségének fokozott megjelenéséhez vezet, de ez ebben az esetben nem a fokozott funkció-



14. ábra. Dopaminerg-kolinerg kölcsönhatás a striatum területén (c) ch = kolinerg ideg. A nigrostriatalis neuronból felszabaduló dopamin (valószínűleg „synapse á distance") gátolja a nucleus caudatus kolinerg interneuronjaiból az ACh felszabadulását (Vizi és mtsai, 1977). GABA gátolja a dopaminerg neuron aktivitását. Hogy hatása a dopaminerg végkészüléken vagy a sejt testen (dendriten) vagy mindkettőn van, még nem tisztázott (b). Preszinaptikus hatás: gátolja az ACh felszabadulását (Vizi, Rónai és Knoll, 1975; Vizi és mtsai, 1977), posztszinaptikus hatás: fokozza a Cl permeabilitást, gátolja az ACh hatását az effektor sejten, receptoron (a).

8. táblázat

A dopaminerg és kolinerg transzmisszió összefüggése a striatum és a limbikus rendszer területén.

	Dopaminerg transzmisszó	
Dopaminerg neuron	fokozott	csökkent
Substantia nigra — n. caudatus	Huntington-chorea	Parkinson-kór
A-10 — limbikus rendszer	psychosis	depresszió (?)
	csökkent	fokozott
	Kolinerg-transzmisszió	

nak az ismérve. Egyébként a Dopamin fokozott felszabadulása a nigrostriatalis dopaminerg rostokban Huntington-choreához, a limbikus rendszerben pedig psychosishoz vezet (8. táblázat).

Valószínűleg ez az oka annak, hogy a Parkinson-kór kezelése során L-dopa (Dopaflex) adására esetenként psychosis lép fel (Goodwin és munkatársai 1971). A szervezetbe bevitt l-Dopa fokozottabb mennyiségben alakul át Dopaminná, de nemcsak a striatum területén, ahol a csökkent dopamin felszabadulást volna hivatott ellensúlyozni, hanem a limbikus rendszerben is, és ez viszont psychosishoz vezet. Antipsychotikus vegyületeink döntő többsége nemkívánatos mellékhatásként Parkinson-syndromát váltanak ki, mivel hatásuk nem szelektív nem csak a limbikus rendszerre korlátozódik. Ezzel ellentétben a Sulpiride, Clozapine (Leponex) és a Thioridazine (Melleril) szelektívebb hatású. Ezekről a vegyületekről kimutatták (Bartholini, 1976), hogy főleg a N. accumbens, azaz a limbikus rendszerben a homovanillinsav koncentrációját (Dopamin metabolitja) emelik. Így ezek a vegyületek a Parkinson-betegségekre prediszponált psychotikus betegek kezelésére inkább alkalmasak, kevesebb mellékhatást okoznak.

A 9. táblázat összefoglalóan mutatja az antipsychotikus vegyületek hatását.

A preszinaptikus gátlásnak két formája van:

1. Az ún. „preszinaptikus kölcsönhatás". Az egyik végkészülékből származó transzmitter anyag gátolja a közelében levő másik neuronból a transzmitter felszabadulását. Így gátolja például a noradrenerg vagy dopaminerg neuronból felszabaduló noradrenalin, illetőleg dopamin a közelében levő kolinerg neuronból az acetylcholin felszabadulását.

2. Az ún. „negatív feedback" gátlás. Például a noradrenalin vagy az acetylcholin gátolja saját felszabadulását.

A kérdés most már az, hogy a preszinaptikus gátlás két formája közül melyiknek mi a szerepe és jelentősége.

9. táblázat

Összefüggés néhány antipsychotikus vegyület homovanillinsav ürítésre kifejtett és a Parkinson syndromát okozó hatása között

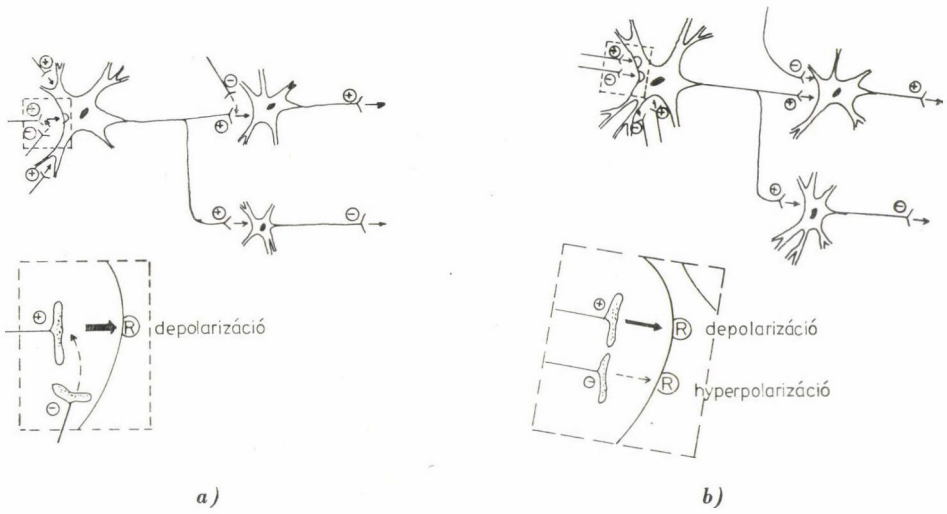
	Homovanillinsav emelkedés		Parkinson syndroma
	striatum	limbikus	
	területen		
Fenotiazinek (Hibernal, Tisercin)	+	+	+
Haloperidol	+	+	+
Leponex (Clozapine), Sulpiride, Thioridazine (Melleril)	−	+	− +

+, okoz
−, nem okoz
− +, elvétve okoz

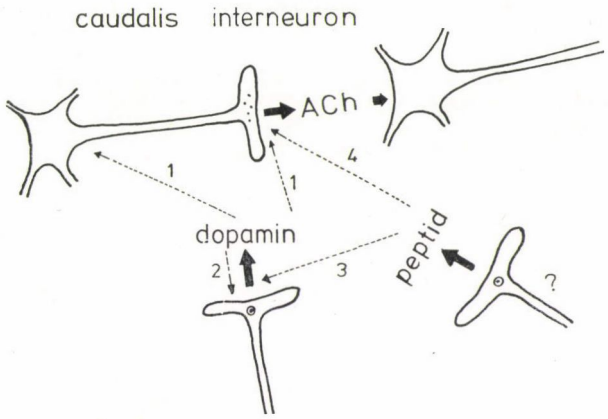
A „negatív feedback" gátlásnak a szerepe a neurokémiai transzmisszió modulálásában valószínűleg aránylag kicsi. Az éppen felszabaduló transzmitter legnagyobb koncentrációban közvetlenül a preszinaptikus végkészüléknél van. Innét diffúzióval terjed és éri el a szinaptikus rés másik oldalát, vagy mint synapse „a distance" szabadon végződik. Öngátló hatását ebben az esetben a felszabadulásnál folyamatosan és könnyen elképzelhetően állandóan kifejti. Finom szabályozást, az idegrendszer plaszticitását ez a forma nem tudja biztosítani. Sokkal nagyobb a farmakológiai, terápiás jelentősége, hiszen az állandó jellegű öngátlás gyógyszerekkel való felfüggesztése az illető neurokémiai transzmisszió „alapjáratának" fokozódásához vezethet.

Fiziológiai szempontból nagy jelentőségű a preszinaptikus gátlásnak az a formája, amikor az egyik neuronból felszabaduló átvivő-anyag gátolja a másik neuronból a transzmitter anyag felszabadulását (15 és 16. ábra). Az átvivő anyagok preszinaptikus kölcsönhatása tulajdonképpen lehetővé teszi az idegrendszer működésének finom modulálását. A gátló átvivő anyag hathat a végkészüléken, de gátolhatja a transzmitter felszabadulását úgy, hogy gátolja az axon hillock tájékán az akciós potenciál képződését. A preszinaptikus gátlásnál tehát nem amiatt gátlódik a neurokémiai transzmisszió, mert az effektor sejt érzékenysége csökken le a transzmitter iránt, hanem eleve a felszabaduló transzmitter mennyisége csökken le.

A neurokémiai ingerület-átvitel preszinaptikus szabályozásának egy érdekes új módja a „gátlástalanítás" jelensége (16. ábra): a nucleus caudatus területén β-endorphin vagy a methïonin-enkefalin gátolja az ACh-felszabadulást gátló dopamin felszabadulását (Loh és mtsai 1976), ezzel fokozott ACh-felszabadulást okoz (Vizi és mtsai 1977).



15. ábra. Pre (a)- és posztszinaptikus (b) gátlás sémás ábrázolása a neuron hálózatban. A preszinaptikus gátlás biztosítani tudja a neuron hálózat működésének plaszticitását. A neuron inputjait egymástól függetlenül tudja ez a mechanizmus gátolni, a posztszinaptikus gátlás nem tud különbséget tenni az inputok között.



16. ábra. A gátlás gátlástalanítása. A gátló transzmitter hatását preszinaptikusan egy másik preszinaptikus gátló mechanizmussal fel lehet függeszteni (Vizi, Rónai és Knoll 1977) és a gátló mechanizmus gátlása gátlástalanításához, a gátolt transzmisszió fokozódásához vezet: pl. β—endorphin (gátló trenszmitter) gátolta a nigro-striatalis neuronból a dopamin felszabadulását (Loh és mtsai., 1976) és így fokozott ACh-felszabaduláshoz vezet a nucl. caudatus interneuronjaiból (Vizi és mtsai 1977) (3). Dopamin gátolja az ACh (Vizi és mtsai 1975; 1977) (1) és saját felszabadulását (2). β-lipo-tropin 61-91 fragmense, a β-endorphin gátolja az ACh felszabadulását (4).

A preszinaptikus gátlás morfológiai bizonyítéka

Az axo-axonális szinapszis tekinthető a preszinaptikus gátlás morfológiai bizonyítékaként. Azonban ezeknek előfordulása, különösen számbeli mennyiségét illetően jogosan merülhetnek fel kétségek a preszinaptikus modulálás fiziológiai jelentőségét illetően. Ha azonban figyelembe vesszük, hogy olyan modulatív anyagok, mint a noradrenalin, amelynek elbomlása, inaktivációja a szinaptikus résben, extracellulárisan meglehetősen lassú folyamat felmerül annak a lehetősége, hogy a szabadon végződő szinapszisokból (synapse á distance, Szentágothai és mtsai, 1968; Szentágothai 1968) felszabaduló moduláló anyag diffúzióval jut el egy másik szinapszis végkészülékéhez. A vegetatív idegrendszer (Auerbach-plexus és a szimpatikus noradrenerg idegrendszer kapcsolata) erre nagyon jó példa.

IRODALOM

Allen, S., Glover, A. B., Rand, M. J. és *Story, D. F.*: Br. J. Pharmacol. **46,** 527 (1972).
Anden, N. E., Fuxe, K. és *Ungerstedt, U.*: Experientia, **23,** 838 (1967).
Barbeau: Agressologie, **9,** 195 (1968).
Beani, C., Bianchi, C. és *Crema, A.*: Br. J. Pharmac. **36,** 1 (1969).
Birkmayer, W. és *Hornykiewicz, O.*: Wien, Klin. Wschr. **73,** 787 (1961).
Bourdois, P. S., Mitchell, J. F. és *Szerb, J. C.*: Br. J. Pharmacol, **42,** 640 (1971).
Bowman, W. C. és *Hemsworth, B. A.*: Brit. J. Pharmacol, **24,** 110 (1965).
Bowman, W. C. és *Raper, C.*: Ann. N. Y. Acad. Sci. **139,** 141 (1967).
Bozler, E.: Am. J. Physiol. **130,** 627 (1940).
Burnstock, G., Macbell, G., Satchell, D. és *Anne Smithe.*: Br. J. Pharmac. **40,** 668 (1970).
Burnstock, G.: Pharmac. Rev. **24,** 509 (1972).
Bülbring, E.: J. Physiol., London, **125,** 302 (1954).
Carlsson, A,: in: Pre-and postsynaptic recepters (eds. Usdin, E., Bunney. W. E. Jr. Marcel Dekker, New York, 1975.
Carlsson, A. és *Lindqvist, M.*: Acta Pharmacol. Toxicol. **20,** 140 (1973).
Christ, D. D. és *Nishi, S.*: Life Sci. **8,** 1235 (1969).
Christ, D. D. és *Nishi, S.*: J. Physiol. Lond., **213,** 107 (1971).
Csillik, B., Kálmán, Gy. és *Knyihár, E.*: Experientia, **23,** 477 (1967).
Dale, H. H., Feldberg, W. és *Vogt, M.*: J. Physiol. Lond., **86,** 353 (1936).
Dawes, P. M., és *Vizi, E. S.*: Br. J. Pharmac. **48,** 225 (1973).
De Groat, W. C. és *Volle, R. L.*: J. Pharmac. exp. Ther., **154,** (1966).
Douglas, W. W. és *Poisner, A. M.*: J. Physiol. Lond., **183,** 249 (1966).
Dubey, M. P. és *Muscholl, E.*: Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmac. **277,** 12 (1973).
Dudar, J. D. és *Szerb, J. C.*: J. Physiol. **203,** 741 (1969).
Dudel, J. és *Kuffler, S. W.*: J. Physiol. **155,** 543 (1961).
Dun, N. és *Nishi, S.*: J. Physiol. **239,** 155 (1974).
Eccles, R. P. M. és *Libet, B.*: J. Physiol. **157,** 484 (1961).
Ehringer, H. és *Hornykiewicz, O.*: Klin. Wschr. **38,** 1236 (1960).
Emmelin, N. és *McIntosh, F. C.*: J. Physiol. **131,** 477 (1956).
Enero, M. A. és *Seidman, B. Q.*: Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. **297,** 39 (1977).
Enero, M. A. és *Langer, S. Z.*: Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmac. **289,** 179 (1975).
Farnebo, L. O. és *Hamberger, B.*: Br. J. Pharmacol. **43,** 97 (1971).
Finkelman, B.: J. Physiol. Lond., **70,** 145 (1930).
Fozard, J. R. és *Muscholl, E.*: Brit. J. Pharmac. **45,** 616 (1972).
Furness, J. B. és *Costa, M.*: in: Reviews of Physiology, **69,** pp. 1—51. (1974)
Fuxe, K., Hamberger, B. és *Hökfelt, T.*: Brain Res. **8,** 125 (1968).
Gillespie, J. S. és *Khoyi, M. A.*: J. Physiol. **267,** 767 (1977).
Hadházy, P. and Szerb, J.: Brain Res. **123,** 311 (1977)
Haubrich, D. R., Reid, D. W. Gillette, R. J.: Nature, New Biology, **238,** 88 (1972).

Hedqvist, P. és *Fredholm, B. B.:* Naunyn-Schmiederberg's Arch. Pharmacol. **293,** 217 (1976).
Hirst, G. D. S. és *Silinsky, E. M.:* J. Physiol. **251,** 817 (1975).
Hirst, G. D. S. és *McKirdy, H. C.:* Nature, **250,** 430 (1974).
Illés, D., Somogyi, G., Vizi, E. S. és *Knoll, J.:* Acta Physiol. Hung. **41,** 368 (1972).
McIsaac, R. J.: J. Neuropharmac. **5,** 15 (1966).
Israël, M., Lesbats, B., Meunier, F. M. és *Stinnakre, J.:* Proc. R. Soc. B. **193,** 461 (1976).
Joó, F., Lever, J. D., Ivens, C., Mottram, B. R. és *Presley, R.:* J. Anat. **110,** 181 (1971).
Yoshida, H., Nagai, K., Ohashi, T. és *Nakagawa, Y.:* Biochem. Biophys. Acta **171,** 178 (1969).
Kazic, T.: Eur. J. Pharmacol. **16,** 361 (1971).
Kirpekar, S. M. és *Puig, M.:* Brit. J. Pharmacol. **43,** 359 (1971).
Kirpekar, S. M., Prat, J. C., Puig, M. és *Wakade, A. R.:* J. Physiol. **221,** 601 (1972).
Knoll, J. és *Vizi, E. S.:* Pharmac. **40,** 554 (1970).
Knoll, J.: Analysis of the pharmacological effects of selective monoamine oxidase inhibitors in Monoamine oxidase and its inhibition CIBA Foundation Symposium **39,** 135—161 (1976).
Knoll, J. és *Vizi, E. S.:* Br. J. Pharmac. **42,** 263 (1971).
Kosterlitz, H. W., Lynden, R. J. és *Watt, A. J.:* Br. J. Pharmacol. **39,** 398 (1970).
Krnjevic, K. és *Mitchell, J. F.:* J. Physiol. **155,** 246 (1961).
Kroneberg, G., Oberdorf, A., Hoffmeister, F. és *Wirth, W.:* Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmac. **256,** 257 (1967).
Kuba, K.: J. Physiol. **211,** 551 (1970).
Kuchii, M., Miyahara, J. T. és *Shibata, S.:* Br. J. Pharmacol. **49,** 258 (1973).
Langer, F. Z., Adler, E., Enero, M. A. és *Stefano, J. F. E.:* Proc. Int. Union Physiol. Sci. **9,** 335 (1971).
Langer, S. Z. és *Vogt, M.:* J. Physiol. **214,** 159 (1971).
McLennan, H., és *York, D. H.:* J. Physiol. Lond., **187,** 163 (1966).
Lindmar, R., Löffelholz, K. és *Muscholl, E.:* Brit. J. Pharmacol. **32,** 280 (1968).
Loh, H. H., Brase, D. A. Sampath-Khanna, S., Mar, J. B. és *M. Way:* Nature, **264,** 567 (1976).
Löffelholz, K. és *Muscholl, E.:* Arch. exp. Path. Pharmakol. **265,** 1 (1969).
Lundberg, A.: Acta physiol. scand. **26,** 252 (1952).
Marazzi, A. S.: J. Pharmac. exp. Ther. **65,** 395 (1939).
McFee, D. A. és *Greegard, P.:* Science, **178,** 310 (1972).
McDougal, Mary, D. és *West, G. B.:* Archs. int. Pharmacol. Ther, **90,** 86 (1952).
McDougal, M. D. és *West, G. B.:* Br. J. Pharmac. Chemother, **9,** 131 (1954).
McIlwain, H.: Bioch. Soc. Symp. **36,** 69 (1972).
Mitchell, J. F.: J. Physiol. **165,** 98 (1963).
Molenaar, P. C., Nikolson, V. J. és *Polak, R. L.:* Br. J. Pharmac. **40,** 406 (1971).
Moritoki, H., Morita, M. és *Kanbe, T.:* Eu. J. of Pharmacol. **35,** 185 (1976).
Nishi, S. és *North, R. A.:* J. Physiol. **231,** 471 (1973).
Paton, W. D. M. és *Vizi, E. S.:* Br. J. Pharmac. **35,** 10 (1969).
Paton, W. D. M., Vizi, E. S. és *Zar, M. A.:* J. Physiol. Lond., **215,** 819 (1971).
Petri, G., Szenohradszky, J. és *Pórszász-Gibiszer, K.:* Surgery, **70,** 359 (1971).
Phillis, J. W. és *Kostopoulos, G. K.:* Life Sciences, **17,** 1085 (1976).
Polak, R. L.: J. Physiol. **181,** 317 (1965).
Pull, I. és *McIlwain, H.:* Biochem. J. **126,** 965 (1972).
Robinson, J. D.: Biochem. Biophys. Acta, **321,** 662 (1973).
Rochette, L. és *Bralet, I.:* J. of Neural Transmission, **37,** 259 (1975).
Sedvall, G., Fyrö, B., Nybäck, H., Wiesel, F. A. és *Wode-Helgodt, B.:* J. Physiat. Res. **11,** 75 (1974).
Somogyi, G. T. és *Szerb, J. C.:* J. Neurochem. **19,** 2667 (1972).
Starke, K.: Naturwissenschaften **58,** 420 (1971).
Starke, K.: Arch. Pharmac. **274,** 18 (1972).
Starke, K.: Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharm. **279,** 53 (1972b).
Stjärne, L., és *Brundin, J.:* Acta Physiol. Scond, **94,** 139 (1975).
Szentágothai, J.: Synaptic structure and the concept of presynaptic inhibition in: Structure and Function of Inhibitory Neuronal Mechanisms. (eds) Euler, C. von, Skoglund, S. and Söderberg, U. Oxford, Pergamon Press (1968).
Szentágothai, J., Flerkó, B., Mess, B. és *Halász, B.:* Hypothalamic Control of the Anterior Pituitary. Akadémiai Kiadó, (1968).
Szerb, J. C.: Can. J. Physiol. Pharmac. **42,** 303 (1964).
Szerb, J. C., Malik, H. és *Hunter, E. G.:* Can. J. Physiol. Pharmac. **48,** 780 (1970).
Szerb, J. C. és *Somogyi, G. T.:* Nature, New Biology, **241,** 121 (1973).
Taube, H. D., Borowski, E., Endo, T. és *Starke, K.:* Eur. J. Pharmacol. **38,** 377 (1976).

Trabucchi, M., Cheney, D., Racagni, G. és *Costa, E.:* Nature, **249,** 664 (1975).
Vanhoutte, P. M.: Inhibition by acetylcholine of adrenergic neurotransmission in vascular smooth muscle in: Physiology of Smooth Muscle (Ed E. Bülbring és M. F. Suba) Raven Press, New York (1976).
Vizi, E. S.: Arch. exp. Path. Pharmak. **259,** 199 (1968).
Vizi, E. S. és Knoll, J.: J. Pharm; Pharmacol. 23, 918 (1971).
Vizi, E. S., Somogyi, G., Fürst, S. és *Knoll, J.:* Acta Physiol. Hung. **39,** 262 (1971).
Vizi, E. S.: J. Physiol. Lond., **226,** 95 (1972).
Vizi, E. S., Illés, P., Rónai, A. és *Knoll, J.:* Neuropharmacology, **11,** 521 (1972).
Vizi, E. S. és *Knoll, J.:* Posebna izdanja, **18,** 131 (1972).
Vizi, E. S., Somogyi, G. T., Hadházy, P. és *Knoll, J.:* Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. **280,** 79 (1973).
Vizi, E. S.: Br. J. Pharmac. **47,** 765 (1973).
Vizi, E. S., Rónai, A. Z. és *Knoll, J.:* Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. **284,** 86 (1974).
Vizi, E. S., és *Knoll, J.:* Neuroscience, **2,** 35 (1976).
Vizi, E. S.: J. Physiol. **261,** 261 (1977).
Vizi, E. S., Rónai, A., Hársing, L. G. jr. és *Knoll, J.:* Pol. J. Pharmac. Pharm. **29,** 201 (1977).
Vizi, E. S. Hársing, L. G, jr. és Knoll, J.: Neuroscience **2,** 953 (1977).
Vizi, E. S., Rónai, A., Hársing, L. G. jr. és Knoll, J.: in: Cholinergic Mechanisms and Psychopharmachology ed. by J. Jenden, Plenum, New York. pp 1977.
Vogt, M.: Br. J. Pharmacol. **37,** 325 (1969).
Westfall, T., Besson, M. J., Giorguieff, M. F. és *L. Glowinski:* Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. **292,** 279 (1976).
White, T. D.: Nature, **267,** 67 (1977).
Whittaker, V. P., Dowdall, M. J. és *Boyne, A. F.:* Biochem. Soc. symp. **36,** 49 (1972).

Semmelweis Orvostudományi Egyetem Mikrobiológiai Intézet, Budapest

ADENOVÍRUS HEXON FEHÉRJÉK KRISTÁLYOSÍTÁSA

NÁSZ ISTVÁN, az orvostudományok doktora és ÁDÁM ÉVA

Közlésre érkezett: 1977. X. 26.

Az adenovírusok közepes méretű, ikozaéder alakú vírusok. Fehérje burkukat, a víruskapszidot 252 fehérje alegység, ún. kapszomer építi fel. Ezek közül 120 helyezkedik el az ikozaéder élein, 120 pedig az egyenlő oldalú háromszögű lapokon. Ezeket a struktúrelemeket nevezik az adenovírusok esetében *hexon*nak, amelyből tehát minden partikulában — virionban — 240 van. A csúcsokon elhelyezkedő és radiális nyúlvánnyal rendelkező 12 kapszomer a *penton*, a nyúlvány pedig önmagában a *fiber* (Ginsberg és mtsai 1966, Nász és mtsai 1967, 1976, Lengyel és Nász 1970). Az adenovírusok kapszidját felépítő strukturális proteinek a vírusreplikáció során feleslegben képződnek, tehát nem mind épül össze víruspartikulává és mind a fertőzött sejtekből, mind pedig a sejtek felülúszójából izolálhatók. A struktúrproteinek eltérő antigenitásuk mellett más-más fizikai és kémiai tulajdonsággal rendelkeznek (Philipson és mtsai 1975).

Az 1-es típusú adenovírus hexonjának nagyfokú tisztítása, különböző paramétereinek, aminosav összetételének meghatározása után (Ádám és mtsai 1977) jelen közleményünkben e vírus protein kristályosításáról, a kialakuló kristály vizsgálatáról és a kristályosodási folyamat elektronmikroszkópos vizsgálattal való nyomonkövetéséről számolunk be.

A különböző virális proteinekből előállítható kristályok jelentősége — többek között — igen nagy lehet, pl. ha azt bizonyos oltóanyagok jelenlegi formájának helyettesítésére használjuk. Amikor elölt, de teljes vírust tartalmazó vakcinákat használunk aktív immunizálásra, a vírus genetikus anyaga, a nukleinsav és sok felesleges fehérje is bejut az oltott szervezetébe és feleslegesen terheli az immunapparátust. Általában jó védő hatást lehet elérni az egyes, jól megválasztott, szeparált és nagyfokban tisztított vírusfehérjék felhasználásával is. Mivel a tiszta protein készítmény egyik kritériuma a kristályosíthatóságnak, e folyamat segítségével készített szeparált vírusfehérjék — vírus-alegység vakcinák — alkalmazásával elkerülhető lenne a szennyező fehérjék bevitele a szervezetbe.

Anyagok és módszerek

Az 1-es típusú adenovírus szaporítására HEp-2 monolayer sejtkultúrát használtunk, a tápfolyadék 15% borjúsavót tartalmazó Parker 199 oldat, melyet a vírussal való fertőzés után 3% nyúlsavót tartalmazó Parker 199 médiumra cseréltünk. Mindkét esetben penicillin és streptomycin hozzáadásával védtük a szövetet a bakteriális fertőzéstől.

A vírusfertőzést követően a sejteket a fenntartó folyadéktól centrifugálással elválasztottuk, majd 0,01 M-os foszfátpufferben (pH 7,0) vettük fel azokat és feltárásukat fagyasztás és olvasztás többszöri ismétlésével, homogenizálással, esetenként ultrahangos dezintegrálással (MSE) végeztük.

A virionok és a szolubilis vírusfehérjék elválasztása kettős CsCl párnán való ultracentrifugálással történt a már leírt módon (Ádám és mtsai 1977).

A *kromatográfiát* DEAE Sephadex-A-50 (Pharmacia) oszlopon végeztük Nász és mtsai (1971) leírása szerint.

A *gélfiltrációt* Sephadex G-200 (Pharmacia) oszlopon a már leírt kísérleti körülmények között végeztük (Ádám és mtsai 1977).

A különböző antigének azonosítását géldiffúziós vizsgálattal végeztük. A monospecifikus antihexon immunsavót nyulakban termeltük (Ádám és mtsai 1977) és az 1%-os agaróz gélben 24 óra alatt kialakuló precipitációs csíkokat értékeltük.

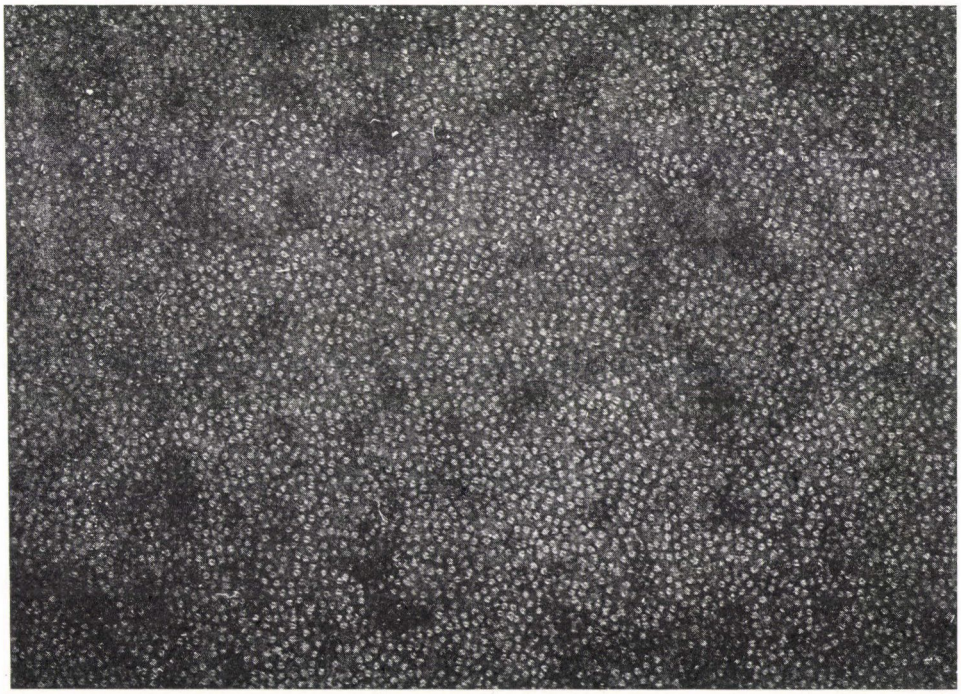
A *fehérje meghatározás* Lowry és mtsai (1951) módszere szerint történt, az abszorpciót Pye Unicam SP 800 spektrofotométerrel határoztuk meg.

A *szolubilis hexon kristályosítására* a nagyfokban tisztított hexon preparátumot 0,5 M-os acetátpuffer ellen dializáltuk 3×24 órán át, +4 °C-on, keverés nélkül. A dializáló folyadék pH-ja 4,5 volt. Az acetátpuffert naponként cseréltük. A dialízis végén a vizsgálati anyagot kémcsövekbe szívtuk át és +4 °C-on tároltuk.

A kristályosodási folyamat nyomonkövetésére sorozatos *elektronmikroszkópos vizsgálat*okat végeztünk, a dialízist követően. A vizsgálati anyagokat Formwarral bevont és szenezett mikrostélyra adszorbeáltattuk, majd 1%-os uranylacetáttal negatív kontrasztfestést végeztünk. Az elektronmikroszkópos vizsgálatok 60 kV feszültség mellett JEM 100 B elektronmikroszkóppal történtek.

Eredmények

Kísérleteinkben a DEAE Sephadex A-50 oszlopról 0,425—0,525 M NaCl tartalom között eluálódott hexon tartalmú frakciókat használtuk fel. A frakciók fehérje koncentrációjának növelését levegő áramoltatással való koncentrálással értük el. Az eközben ugyancsak megnövekedett NaCl tartalmat az

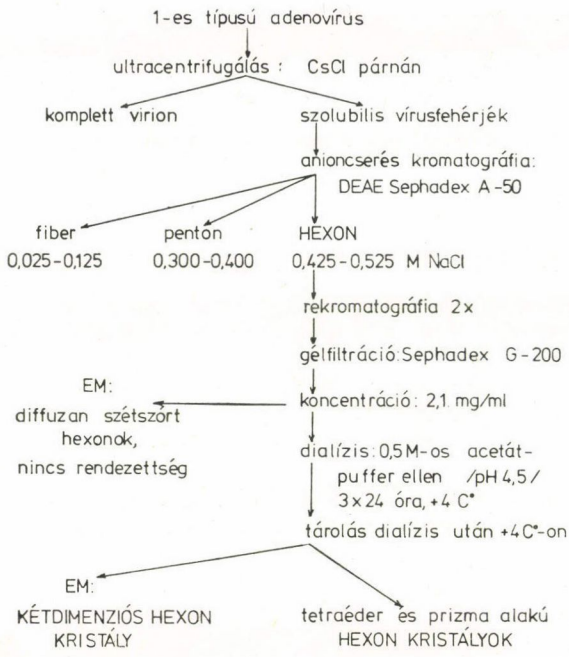


1. ábra. 1-es típusú adenovírus szeparált és tisztított hexon preparátuma, amely a kristályosítási folyamat kiindulási anyaga volt. A protein tartalom 2,1 mg/ml. Nagyítás: 100 000×. (Uranyl-acetátos festés)

egyes tisztítási lépések között 0,01 M-os foszfátpuffer (pH 7,0) elleni dialízissel távolítottuk el. A két ízben ismételt kromatográfiát követően végzett fehérje meghatározáskor a protein tartalom 1,3 mg/ml volt.

További tisztítási lépésként gélfiltrációt végeztünk. A hexon tartalmú frakciókat ismételten gyűjtöttük, koncentráltuk és dializáltuk, az előbbiekben említett puffer ellen. A kristályosításra használt preparátum protein (hexon antigén) koncentrációja 2,1 mg/ml volt, össztérfogata 2 ml. Ebből a kiindulási anyagból készült uranylacetátos preparátum elektronmikroszkópos képe (1. ábra) homogén, diffúzan szétszórt, igen nagyszámú hexon kapszomert mutat, melynél azonban nem lehet felfedezni semmiféle rendezettséget, nemcsak a szeparálást követően azonnal készült preparátumoknál, hanem hónapokig +4 °C-on való tárolás során sem.

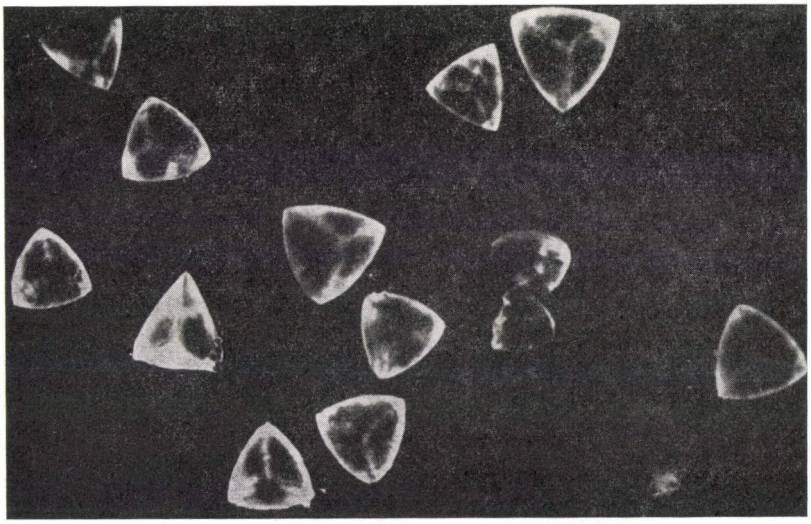
A 4,2 mg proteint tartalmazó vizsgálati anyagunkat a kristályosodást kiváltó dialízis után enyhén opálosnak találtuk. Fénymikroszkópos vizsgálattal a tárolás első két napján kristályokat még nem találtunk. A tárolás 3. napjától kezdődően fénymikroszkóppal számos tetraéder alakú kristály volt megfigyelhető, elvétve prizma alakú kristályokat is találtunk. A szeparálási és tisztítási folyamatot, illetve a kristályosítás menetét foglalja össze a 2.



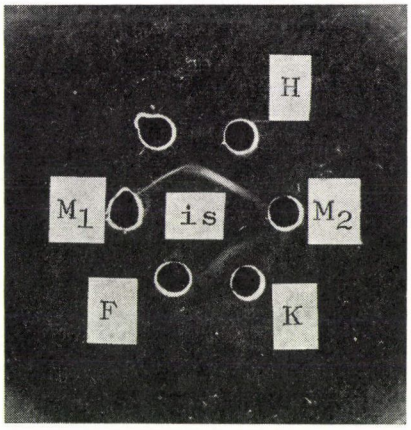
2. ábra. A hexon szeparálási és tisztítási folyamatát, valamint a kristályosítás körülményeit bemutató sematikus rajz.

ábra. A kristályok élhosszúsága 0,01—0,1 mm között volt (3. ábra). Igen törékenyeknek bizonyultak, sok esetben már a kristályt tartalmazó csepp fedőlemezzel való lefedése is azok apró darabokra törését eredményezte. A kristályok alacsony fordulatszámú centrifugálással ülepíthetők és a kristályosításhoz használt acetátpufferrel moshatók voltak. Gyorsan feloldódtak azonban 0,04 M-os TRIS pufferben (pH 8,2) és 0,1 M-os foszfátpufferben (pH 7,0).

A kristályokat a megfelelő pufferben való mosás és centrifugálás után fénymikroszkópos kontroll mellett feloldottuk és géldiffúziós vizsgálattal azonosítottuk a kristályt alkotó hexon proteint. A kristály oldata a kiindulási anyaggal összefolyó precipitációs csíkot adott az 1-es típusú antihexon nyúl immunsavóval, ami az antigének azonosságát bizonyítja. Sem a kristály eredeti felülúszója, sem pedig a kristály mosófolyadékai ilyen precipitációs csíkot nem adtak (4. ábra). Ez egyrészt azt jelenti, hogy a protein tartalom a kristályosodási folyamat során nagymértékben csökkent, kb. a kiindulási anyag koncentrációjának 1/10 részére, amit fehérje meghatározással és elektronmikroszkópos vizsgálattal mutattunk ki, másrészt azt, hogy a mosásra alkalmazott puffer a kristályokat nem oldja. A géldiffúziós vizsgálatban kapott eredmény azt is bizonyította, hogy a kristályosodási és feloldási folyamat alatt a hexon kapszomer eredeti antigenitását megtartotta, az nem károsodott sem az alacsony pH érték, sem a relatíve magas ionkoncentráció hatására.



3. ábra. Tetraéder alakú hexon kristályok. Nagyítás: 320×.

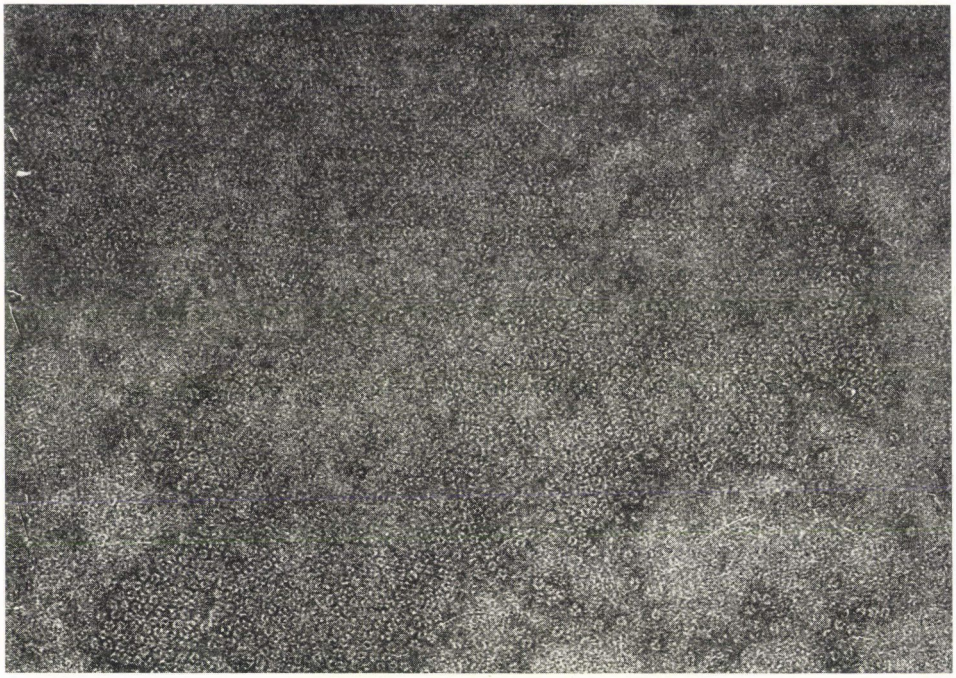


4. ábra. A hexon kristályok oldatának és mosófolyadékainak géldiffúziós vizsgálata 1-es típusú antihexon immunsavóval.

Jelmagyarázat: is = antihexon immunsavó
K és jelöletlen = a kristály oldata
H = kiindulási hexon készítmény
F = a kristály felülúszója
M_1 = első mosófolyadék
M_2 = második mosófolyadék

A kristály oldatának elektronmikroszkópos vizsgálatakor a kiindulási anyaghoz hasonlóan (lásd 1. ábr) sűrűn elhelyezkedő, egyedülálló hexonokat találtunk, amelyek semmiféle rendezettséget nem mutattak.

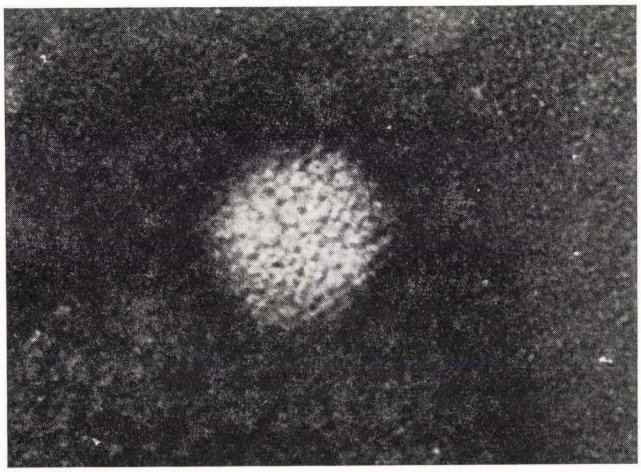
A kristályosodási folyamat elektronmikroszkópos követésekor azt tapasztaltuk, hogy a folyamatot kiváltó dialízis után közvetlenül még nem tapasztalható változás a kiindulási anyaghoz képest, azaz a hexonok bár igen sűrűn,



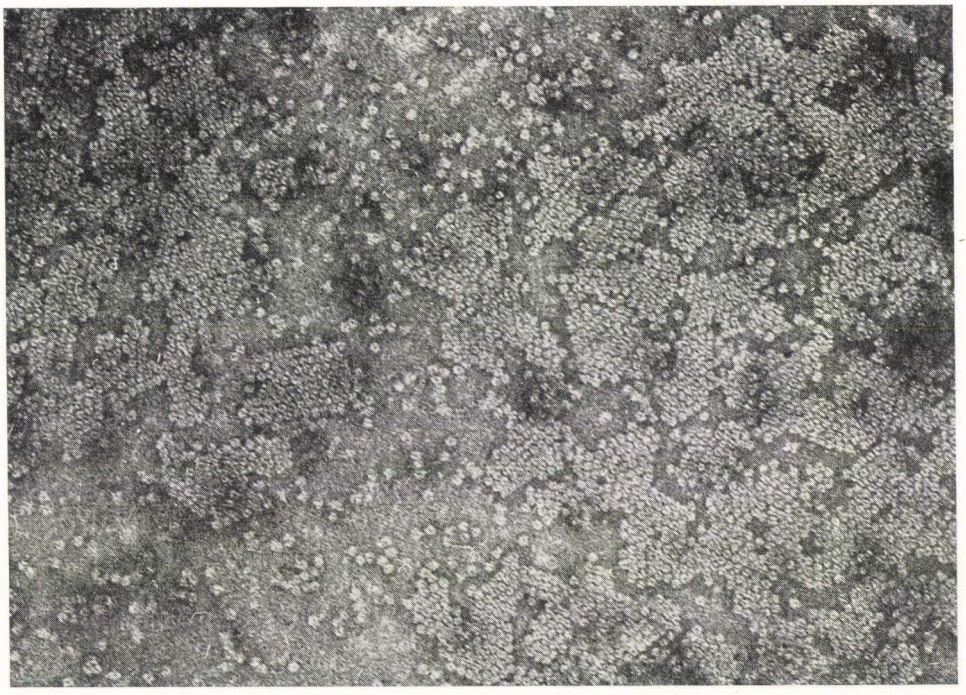
5. ábra. A kristályosítási dialízist követő tárolás során kimutatható kétdimenziós kristályrács. A hexonok szabályos sorokban, tömören, egy rétegben helyezkednek el. Ez a struktúra hasonló ahhoz, ahogyan a hexonok az ikozahedralis virion háromszögű lapján elhelyezkednek. Nagyítás: 200 000×.

de rendezetlenül helyezkednek el. A +4 °C-on való tárolás 2. napjától azonban a hexonok már kisebb csoportokban láthatók, és a folyamat előrehaladtával, a 3—4. naptól kétdimenziós kristályrács figyelhető meg (5. ábra). Ebben a hexonok egy rétegben, tömören, szabályos sorokban helyezkednek el, egymáshoz való viszonyuk hasonló ahhoz az elhelyezkedési módhoz, ahogyan az ikozahedralis virion (6. ábra) lapjain elhelyezkedő hexonoknál megfigyelhető. Ugyanis minden második hexonsor 4,5 nm-rel el van tolódva a hexonsor hossztengelye mentén, mely távolság pontosan a fele egy hexon részecske átmérőjének. Így minden egyes hexonnak két legközelebbi szomszédja van nemcsak a saját sorában, hanem a két szomszédos hexonsorban is. Következésképpen ebben a szerkezetben minden egyes hexonnak hat legközelebbi szomszédja van, a hexagonalis elrendeződésnek megfelelően.

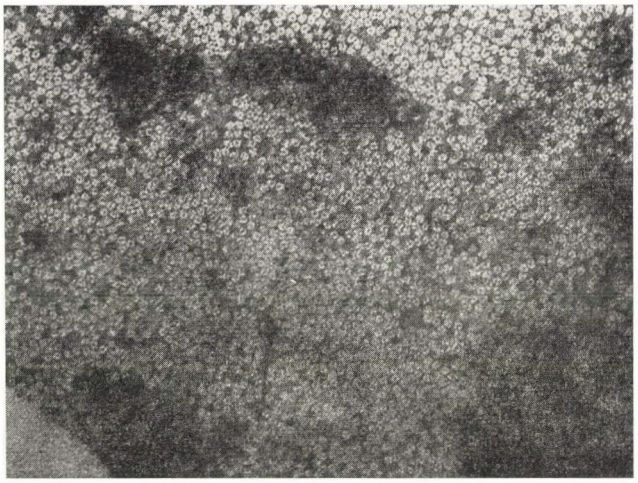
Az elektronmikroszkópos preparátum készítésénél, az anyag felszuszpendálása során a kétdimenziós kristályrács feltöredezhet, de a szabálytalan törésvonalak számos helyen jól összeillenek (7. ábra). A kristályrács szerkezetéből következően rombusz, romboid alakok jönnek létre 60, illetve 120 fokos szögeket képezve.



6. ábra. Adenovírus ikozahedralis szimmetriájú virionja. Uranylacetátos festés. Nagyítás: 200 000×.



7. ábra. Feltöredezett kétdimenziós hexon kristályrács. Jól láthatók a 60, illetve 120 fokos törési szögek. A törésvonalak több helyen összeillenek. Nagyítás: 140 000×.



8. ábra. Hálózatos szerkezetű kristályrács, melyben hat hexonból álló gyűrűk figyelhetők meg. Valamennyi hexon kapszomer részt vesz a szomszédos gyűrűk felépítésében is. Nagyítás: 100 000×.

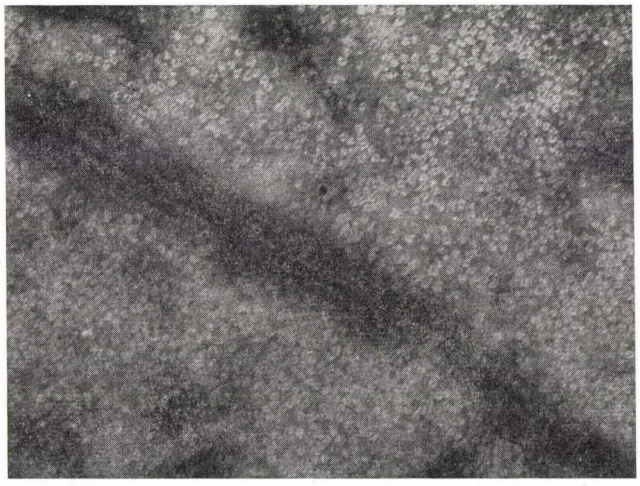
A fénymikroszkóppal kimutatható, háromdimenziós, tetraéder alakú kristályok megjelenésekor, illetve azok számának növekedésével párhuzamosan csökken a kimutatható kétdimenziós kristályrácsok mennyisége.

Néhány esetben az előbbiekben leírt kétdimenziós kristályrácstól eltérő szerkezetű képződményeket is megfigyeltük. Ezek egyik formája az olyan lyukacsos, hálózatos szerkezet volt, amely hat hexonból álló gyűrűkből volt felépítve úgy, hogy e gyűrűk mindegyike részt vesz a szomszédos hexongyűrűk alkotásában is (8. ábra). Ezt az alakzatot úgy is elképzelhetjük, hogy a szabályos sorokba rendezett tömör kétdimenziós kristályrácsból a soroknak megfelelően minden harmadik hexon hiányzik, ami tulajdonképpen kristályhibának fogható fel.

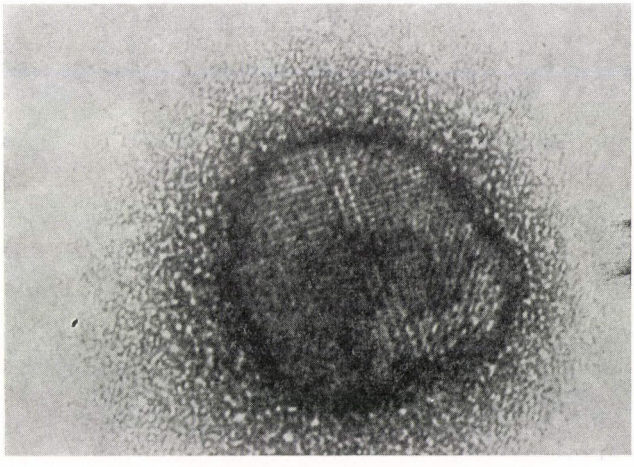
Másik különleges képződmény olyan tubuláris, fonalas forma volt, melyet három, esetleg több, nem azonos síkban elhelyezkedő hexonsor hozott létre (9. ábra). Ehhez hasonló, de talán több kétdimenziós hexonkristály egymásra rakódása hozhatta létre azt a mikrokristályt, melyet a 10. ábra mutat. A több rétegben egymásra helyezett, szabályos sorokat alkotó hexonok ebben a szerkezetben is jól megfigyelhetők.

Megbeszélés

Az adenovírusok kristályosítása Pereira és mtsai (1968) első beszámolója után csak néhány kutatócsoportnak sikerült az 1-, 2-, 5- és 6-os szerotípusok esetében (Franklin és mtsai 1971, Cornick és Sigler 1971, Döhner és Hudemann



9. ábra. Tubuláris, fonalas képződmény, melyet három, esetleg több hexonsor hozott létre, ezek azonban nem azonos síkban helyezkednek el. Nagyítás: 100 000×.



10. ábra. Többrétegű mikrokristály vonalas, szabályos belső szerkezettel. A sorok közti távolság azonos a kétdimenziós kristályrácsban mérhető távolsággal. Nagyítás: 150 000×.

1972). E közleményekben nem történt említés a kristályosodási folyamat elektronmikroszkópos követéséről, illetve kétdimenziós kristályrácsról.

1974-ben, amikor Pereira és Wrigley az 5-ös típusú adenovírusból szeparált nonamerekből in vitro rekonstruálták a kapszidot, találtak olyan kristályrácsot, mely lyukacsos, hálózatos szerkezetű volt, de ez a szerkezet eltért az általunk kimutatott lyukacsos képződménytől. Pereira és Wrigley hálózatos szerkezetű kristályrácsához hasonló elektronmikroszkópos képet kapott Carstens és Marusyk (1977), akik szeparált, de nem tisztított vírusfehérje keverékből

kísérelték meg a hexont kristályos állapotban előállítani, szintén az 5-ös szerotípus esetében. Ezek a lyukacsos hexon aggregátumok, beleértve az 1-es típusnál általunk bemutatott hálózatos képződményeket is, feltehetően kristályhibának foghatók fel.

Jelen kísérleti eredményeink alapján úgy gondoljuk, hogy a kristályosodási folyamatot kiváltó, alacsony pH-jú és relatíve magas ionkoncentrációjú dialízis során először a tömör kétdimenziós kristályrács alakul ki, mely alapja lehet a végül kialakuló háromdimenziós kristálynak, annál is inkább, mivel a kristályosodási folyamat során számuk az idő előrehaladtával növekszik, majd a háromdimenziós kristályok megjelenésével egy időben csökken, végül csak elvétve mutathatók ki. Ilyen rendezettséget csak a kristályosodást kiváltó acetátpufferes dialízis során lehet megfigyelni, a 0,01 M-os foszfátpuffer (pH 7,0) sem dialízis, sem benne való tárolás után sem vált ki rendezettséget, még több hónap vagy év után sem.

Valamennyi előzőekben említett kutatócsoport a hexon kristályosítását bár eltérő ionok és különböző ionkoncentrációk mellett végezték, az optimális pH intervallumot pH 3,5 és pH 4,5 között adták meg. Ez annál is inkább érdekes, mert az adenovírusok hexonjának izoelektromos pontja a 2-es típus esetében pI 4,7 (Shortridge és Biddle 1970), az 1-es típus esetében pI 4,55 (Ádám és mtsai 1977). Az adenovírusok kapszidját alkotó hexonok, bár morfológiájukban és nagyságukban, valamint kromatográfiában való viselkedésüket tekintve nem mutatnak észlelhető eltérést egy-egy szerotípuson belül, a kapszid különböző részein helyet foglaló hexonok izoelektromos pontja azonban kissé eltér egymástól. Az éleken elhelyezkedő hexonok pI értéke 3,7, és a csúcsi kapszomer körüli peripentonoké pI 3,1 (Shortridge és Biddle 1970). Csak a háromszögű lapokon található hexonok jellemezhetők pI 4,7, illetve pI 4,55 értékkel. Az éleken és lapokon, valamint peripentonálisan elhelyezkedő hexonok a virion kapszidjában is eltérő kötődési viszonyokkal rendelkeznek, és a 9 különféle struktúrprotein közül más helyezkedik el a penton és peripentonális hexonok között és másféle található a háromszögű lapokat alkotó hexonok között (Everitt és mtsai 1975). Elképzelhető, hogy a kromatográfiával tisztított hexon populáció — a kötődési viszonyok tükrében — nem egységes és a lapokat alkotó, túlsúlyban levő hexonok mellett találhatók a készítményben peripentonalis hexonok is, melyek eltérő izoelektromos ponttal és kötődési viszonyokkal rendelkeznek és ez utóbbiak hoznák létre a tubuláris, csőszerű formát, ami kissé eltérő voltukat jelzi. Lehetséges azonban az is, hogy ebben az esetben is kristályhibával állunk szemben. A valódi hexonok esetében pedig, melyek a kétdimenziós kristályrácsot alkotják, kifejezésre jut az a kötődési mód, ahogyan a virion kapszidját is alkotják. E feltételezések bizonyítása azonban további kísérletek tárgyát kell hogy képezze.

Köszönetünket fejezzük ki Balázs Istvánnak a mikrofotók elkészítésében nyújtott segítségéért.

Összefoglalás

Különböző módszerekkel nagyfokban tisztított 1-es típusú szolubilis adenovírus hexont kristályos formában állítottunk elő, melyek tetraéder, elvétve prizma alakúak. A kristály oldatának géldiffúziós vizsgálatával kimutattuk, hogy a fehérje eredeti antigenitása változatlan marad a kristályosodást kiváltó alacsony pH és relative magas ionkoncentráció ellenére.

A kristályosodási folyamat elektronmikroszkópos követése során a korai fázisban — hasonlóan a kontrollhoz — csak diffúzan szétszórt hexonok voltak megfigyelhetők. Később kialakultak a hexonokból álló tömör, kétdimenziós „kristálylemezek", melyekhez hasonlót más típusoknál eddig nem találtak.

Feltételezhető, hogy a kétdimenziós kristályok létrejötte szerepet játszik a háromdimenziós kristályképződés mechanizmusában.

IRODALOM

Ádám, É., Nász, I. és *Medveczky, P.:* Kísérl. Orvostud., **29,** 311 (1977).
Carstens, E. B. és Marusyk, R. G.: J. gen. Virol., **34,** 541 (1977).
Cornick, G. és *Sigler, P. B.:* J. Mol. Biol., **57,** 397 (1971).
Döhner, L. és *Hudemann, H.:* Arch. ges. Virusforsch., **38,** 279 (1972).
Everitt, E., Lutter, L. és *Philipson, L.:* Virol., **67,** 197 (1975).
Franklin, R., M., Petterson, U., Akervall, K., Strandberg, B. és Philipson, L.: J. Mol. Biol., **57,** 383 (1971).
Ginsberg, H. S., Pereira, H. G., Valentine, R. C. és *Wilcox, W. C.:* Virol., **28,** 782 (1966).
Lengyel, A. és *Nász, I.:* Orvostud., **21,** 213 (1970).
Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. és *Randall, R. J.:* J. Biol. Chem., **193,** 265 (1951).
Nász, I., Béládi, I. és Lengyel, A.: Az adenovírusok és kórokozó szerepük. Akadémiai Kiadó Budapest (1967).
Nász, I., Lengyel, A., Ádám, É. és *Medveczky, P.:* Orvostud., **27,** 219 (1976).
Nász, I., Lengyel, A. és *Cserba, I.:* Orvostud., **22,** 101 (1971).
Pereira, H. G., Valentine, R. C. és *Russel, W. C.:* Nature, **219,** 946 (1968).
Pereira, H. G. és *Wrigley, N. G.:* J. Mol. Biol., **85,** 617 (1974).
Philipson, L., Petterson, U. és *Lindberg, U.:* Molecular Biology of Adenoviruses. Springer-Verlag Berlin (1975).
Shortridge, K. F. és *Biddle, F.:* Arch. ges. Virusforsch., **29,** 1 (1970).

Semmelweis Orvostudományi Egyetem I. sz. Kémiai-Biokémiai Intézet és I. sz. Kórbonctani Intézet, Budapest

A GALAKTÓZAMIN MÁJKÁROSÍTÓ HATÁSA

MÉSZÁROS KÁROLY, ANTONI FERENC, az MTA levelező tagja, LAPIS KÁROLY, az MTA levelező tagja, TOMPA ANNA, MANDL JÓZSEF, SCHAFF ZSUZSA, az orvostudományok kandidátusa és GARZÓ TAMÁS

Közlésre érkezett: 1977. XI. 2.

1. Méregtelenítés vagy biotranszformáció?

Az állatok a szárazföldi élethez való alkalmazkodás során arra kényszerültek, hogy a belső környezetükbe jutott káros, illetve felesleges anyagokat a szervezeten belül gyorsan hatástalanítsák oxidáció, redukció, konjugáció vagy hidrolízis útján. Az említett folyamatokat főként a májsejtek endoplazmatikus retikulumában levő enzimrendszerek katalizálják. A májkapuérrendszer biztosítja, hogy a bélből felszívódó anyagok legnagyobb része csak a máj által végzett kémiai ellenőrzés után juthat a nagyvérkörbe.

A máj említett enzimrendszerei a kémiai védekezést, vagyis a méregtelenítést szolgálják. Mégis a „méregtelenítés" kifejezés helyett e májműködéseket egyre általánosabban a „biotranszformáció" elnevezéssel illetik. A „méregtelenítés" kifejezés mögött bujkáló józan teleológia a modern biológus számára már nem elfogadható. Nem nehéz belátni azt, hogy a biotranszformáció nem jelenthet kivétel nélkül minden esetben méregtelenítést. Egy olyan védekező rendszer, amely eredeti feladata szerint minden potenciálisan káros molekula ellen irányul, szükségszerűen többé-kevésbé aspecifikus. Működése tehát olykor óhatatlanul éppen a rendeltetésével ellentétes eredményhez vezet. Közismert példák bizonyítják, hogy a „méregtelenítő" rendszer által eszközölt átalakítás egyes semleges vegyületeket mérgezővé, olykor rákkeltő anyaggá változtat. Az enyhén mérgező széntetrakloridból súlyos májkárosodást okozó szabad gyökök keletkeznek; a dimetilnitrozamin az emberi májban karcinogén vegyületté alakul stb. (Dianzani és Gravela, 1975; Montesano és Magee, 1970). Az említett szemléletváltozásban lényeges szerepet játszik az is, hogy kémiai környezetünket a civilizáció rohamosan átalakítja. Az a biológiai működés, amely valamikor hasznosan szolgálta a faj fennmaradását, újfajta behatások esetén célszerűtlennek bizonyulhat (pl. a simafelszínű endoplazmatikus retikulumnak a tartós barbiturátkezelés hatására kialakuló hiperpláziája fokozza a paracetamol toxicitását; McLean, 1975). Jogos tehát a tárgyilagosabb biotranszformáció elnevezés használata.

A májba jutó vagy éppenséggel ott kialakuló mérgező anyagok elsősorban a májat károsítják. A kemizáció, az alkoholizmus és a gyógyszerek terjedése miatt a májbetegségek az orvostudomány és a kutatás legfontosabb — megoldatlan — problémái közé kerültek. Megállapításra vár a májgyulladás, a májcirrózis, a májrák és számos egyéb májbetegség patogenezisének pontos mechanizmusa. Nem tudjuk, hogy a krónikus májbetegségek már kialakult, részben hasonló kórképei mögött milyen rendellenes anyagcsere-folyamatok rejlenek. A májcirrózis kísérleti állatokon a legkülönfélébb szerves és szervetlen anyagokkal előidézhető.

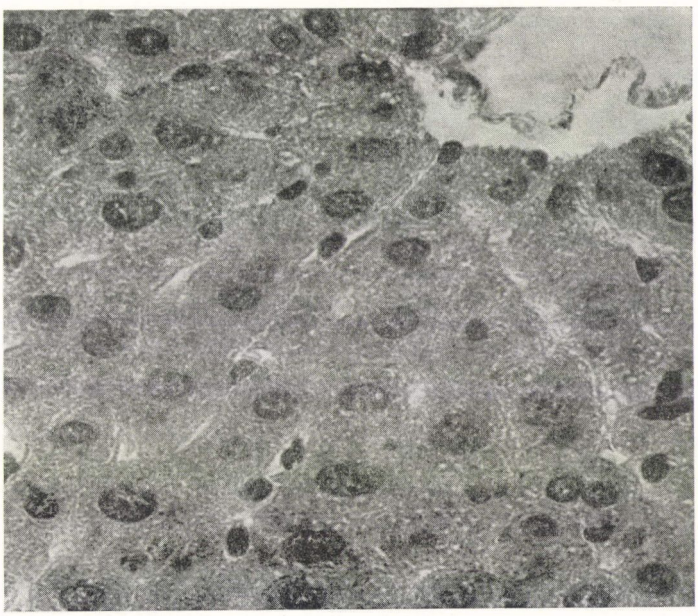
A kísérletes májkutatás mégis alig egy tucat anyag vizsgálatára korlátozódik. Ezek a „hagyományos" májkárosítószerek részben szervspecifikus hatásukkal tűnnek ki (széntetraklorid, aflatoxin), részben pedig gyakorlati szempontból jelentősek (DDT, etanol). Hatásmechanizmusuk részleteinek a felderítése kutatók százait foglalkoztatja. Viszonylag új vegyület a sorban a *D-galaktózamin*, amelynek májkárosító hatását 1968 óta ismerik (Reutter és mtsai, 1968; Keppler és mtsai, 1968). A galaktózamin a vírushepatitiszhez hasonló morfológiai elváltozásokat okoz a májban, ezért vonta magára több kutatócsoport figyelmét. Mindazonáltal az e téren dolgozó kutatók számára kezdettől fogva magától értetődő volt az, hogy az egyszerű cukorszármazékkal előidézett májkárosodást nem lehet azonosnak tekinteni a vírus által okozott májgyulladással. A tünetek hasonlatosságának a magyarázatát nem a vírus és a hexózamin hatásmechanizmusának rokonságában kell keresni. Ma már egyre több biológiai jelenségnél el lehet különíteni a specifikus (a konkrét behatásra jellemző) és az aspecifikus (a reagáló sejtre, szövetre vagy szervezetre jellemző) reakciókat. Mivel a behatások igen különbözők lehetnek, viszont a biológiai objektum válaszlehetőségei korlátozottak, ezért a reakciók szükségszerűen többé-kevésbé aspecifikusak. Meg kell tehát ismernünk a célszerv, a máj válaszreakcióit, és azt is, hogy valamely specifikus hatás miként váltja ki az egyik vagy a másik reakciót. A további erőfeszítések során, úgy véljük, egyre nagyobb jelentősége lesz a morfológusok és a biokémikusok együttműködésének a májkárosodáshoz vezető folyamatok felderítésében. E közleményban a galaktózamin májkárosító hatásának néhány morfológiai és biokémiai jellegzetességével foglalkozunk.

A galaktózamin májkárosító hatása a legkülönfélébb fajokban (rágcsálók, majom, csirke stb.) kimutatható. Az intraperitoneális galaktózamin (1—2 mmól testsúlykilogrammonként) kezelés után 12—24 órával a májon feltűnő változásokat lehet megfigyelni: a máj színe fakósárgává válik, állománya lágy, képlékeny lesz. A szövettani kép az emberi akut vírushepatitiszre emlékeztet, ezért nevezték el ezt az állapotot galaktózaminhepatitisznek (Decker és Keppler, 1972). Egyéb szerveken nem található kóros elváltozás.

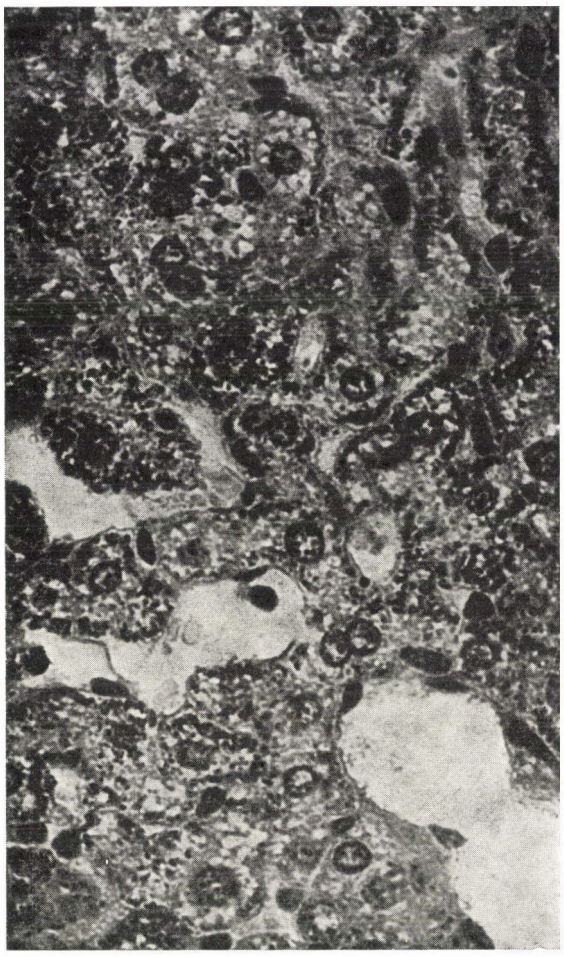
2. *A galaktózaminhepatitisz morfológiai jellegzetességei*

Galaktózamin egyszeri adása után 6—24 órával kialakul a heveny májgyulladásra jellemző szövettani kép. A kezelést követő 3—12 nap alatt az állapot a regeneráció jelei mellett rendeződik. Néhány, csak az emberi vírushepatitiszre jellemző elváltozás is megfigyelhető: unicelluláris nekrózisok, ballon sejtek és Councilman-féle testecskék (Decker és Keppler 1972; Lapis és Schaff 1973). A továbbiakban eltekintünk a fénymikroszkópos leletek részletes leírásától, mivel ezek jórészt megegyeznek az egyéb májkárosító szerekkel előidézett elváltozásokkal. Meg kell azonban említeni egy sajátos jelenséget. Fénymikroszkópos hisztokémiai vizsgálatokkal atípusos PAS pozitív, ill. Best kármin pozitív granuláció kialakulását mutatták ki a májsejtekben (1. ábra). Az említett hisztokémiai reakciók galaktózaminhepatitiszben a poliszaharidok rendellenes elhelyezkedését jelezték (Lapis és Schaff, 1973; Shinozuka és mtsai 1973).

A jellegzetes, csak a galaktózamin hatására fellépő morfológiai változásokat elektronmikroszkóppal észlelték. Az ultrastruktúra károsodása már korántsem hasonlít a vírushepatitiszben megfigyelt finomszerkezeti elváltozásokhoz. Elektronmikroszkóppal a májsejtek zsíros elfajulását, a simafelszínű endoplazmatikus retikulum proliferációját, valamint a sejtmagvacska sajátos degenerációját figyelték meg. A durvafelszínű endoplazmatikus retikulum degranulációja, valamint a poliszómák számának a csökkenése ugyancsak a



a)

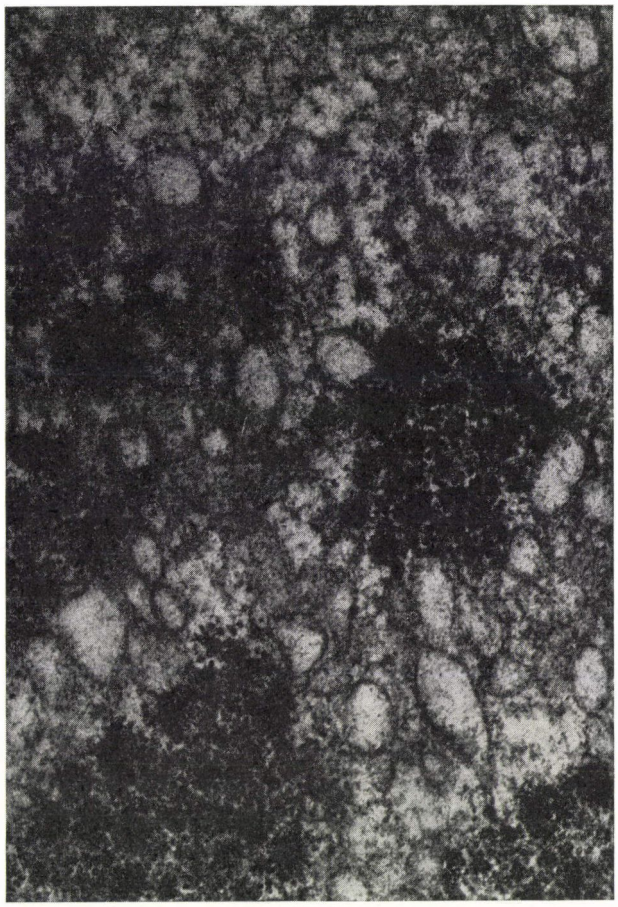


b)

1. ábra. PAS reakció kontroll (A) és galaktózaminnal kezelt (B) egerek májából készült metszeteken. A kontroll szövetben egyenletesen eloszló, finom szemcsés granuláció látható. A galaktózamin-kezelés után 6 órával durva szemcsés PAS pozitív granuláció jelenik meg. 400×

specifikus ultrastrukturális elváltozások közé tartozik (Lapis és Schaff, 1973; Medline és mtsai 1970; Scharnbeck és mtsai 1972).

A *citoplazmatikus aggregátumok* a galaktózamin adását követő 2—6. órában jelennek meg. Az elektrondenz szemcsehalmazok feltűnő és jellegzetes képletek (2. ábra), hasonló képződményeket semmilyen más májelváltozásban nem figyeltek meg (Medline és mtsai 1970; Scharnbeck és mtsai, 1972; Lapis és Schaff, 1973; Shinozuka és mtsai 1973). Bármennyire szembeötlő képletek is a felvételeken látható citoplazmatikus aggregátumok, kialakulásuknak és összetételüknek a tisztázása hosszabb időt vett igénybe. Már az

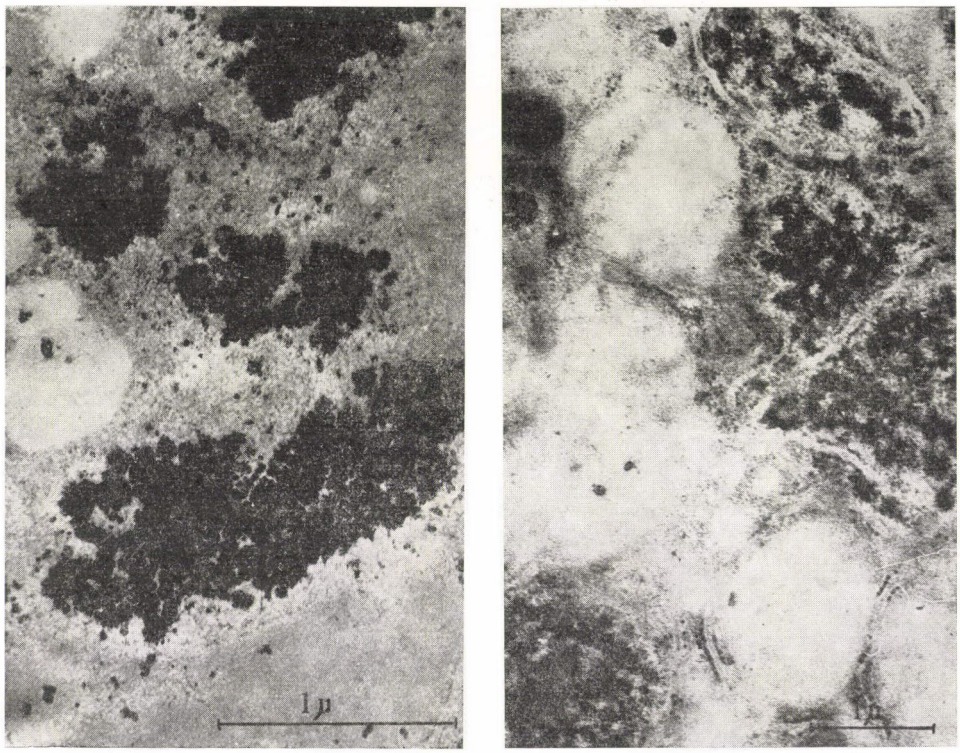


2. ábra. Elektrondenz aggregátumok elektronmikroszkópos képe a galaktózamin kezelés után 2 órával. OsO_4 fixálás, uranilacetát-ólomnitrát festés. 32 000×

eredeti kommentárok is összefüggést kerestek és találtak a fénymikroszkóppal megfigyelt PAS pozitív granuláció (poliszacharid) és az elektrondenz szemcsék között. Scharnbeck és munkatársai (1972) glikogénnek tartották a szemcséket. Látszólag ellentétben állt ezzel az a megfigyelés, hogy mind a PAS pozitív granuláció, mind pedig az elektrondenz anyag rezisztensnek bizonyult diasztáz kezeléssel szemben, amely pedig a metszetekben levő glikogént elemészti (Shinozuka és mtsai 1973). Felmerült annak a lehetősége is, hogy az anyag riboszómákkal aggregált poliszacharid, amely a rendellenes glikoprotein szintézis terméke lenne (Shinozuka és mtsai 1973). Az utóbbi feltételezés egyben magyarázatot kínált a riboszómák sorsát illetően is, ugyanis már korábban megfigyelték a durvafelszínű endoplazmatikus retikulum degranulációját, azonban hiába keresték a feles számú riboszómákat a citoplazmában.

Minthogy biokémiai oldalról elsősorban azt vizsgáltuk, hogy milyen módon gátolja a galaktózamin a fehérjék szintézisét a májban, meggyőző adatokra volt szükségünk arra nézve, hogy milyen állapotban találhatók a riboszómák, a poliszómák és a durvafelszínű endoplazmatikus retikulum a májsejtekben. Ennek tisztázásához elektronmikroszkópos hisztokémiai vizsgálatokra volt szükség. Ilyen vizsgálatokat végeztünk 1974 és 1976 között egérmájon, ugyanebben az időszakban Lesch és munkatársai (1976) a patkánymájban képződő aggregátumokkal foglalkoztak. Az elektronmikroszkópos hisztokémiai vizsgálataink eredményeit az alábbiakban ismertetjük.

A PAS pozitív granuláció módosult glikogént tartalmazó szemcséknek felel meg, amelyek mennyisége fokozható, ha a galaktózamin adását glukóz kezeléssel egészítjük ki. Az anyag diasztáz rezisztenciája csak viszonylagos, erőteljes kezelés hosszabb idő alatt elemészti a szemcséket. A méretben és sugárelnyelő-képességben egymáshoz igen közelálló riboszómák és glikogénpartikulák megjelenése igen hasonló az elektronmikroszkópos képen, s a galak-



a) *b)*

3. ábra. Szénhidrát és ribonukleoprotein komponensek kimutatása az aggregátumokban a galaktózamin kezelés után 2 órával. A: A pozitív reakció szénhidrát jelenlétét mutatja. OsO_4 fixálás, Thiery-féle festés (Thiery 1967). 40 000×. B: A pozitív reakció ribonukleoprotein jelenlétét mutatja. Glutáraldehid fixálás, Bernhard-féle festés (Bernhard 1969). 21 400×

tózaminhepatitisz esetében a részecskék lokalizációja sem nyújt eligazítást. Ezért specifikus hisztokémiai reakciókkal vizsgáltuk az aggregátumokat. A Bernhard-féle RNS festési eljárással a riboszómák jelenlétéről lehetett meggyőződni (3a ábra), míg a Thiery-féle festés poliszaharid (glikogén) jelenlétét bizonyította az aggregátumokban (3b ábra). A szemcsék között az endoplazmatikus membrán fragmentumait is ki lehetett mutatni.

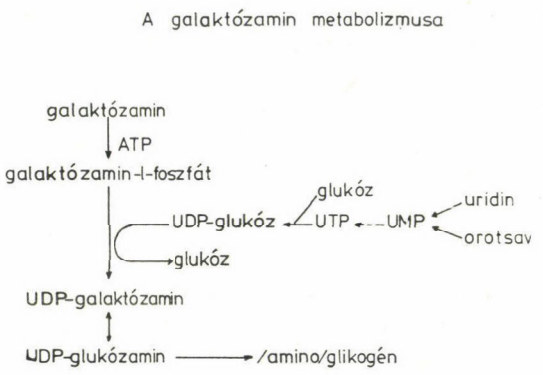
Az aggregátumok a galaktózamin kezelés után 1—2 órával jelennek meg. Evvel párhuzamosan megindul a durvafelszínű endoplazmatikus retikulum membránjainak töredezése és degranulációja. A rendellenes glikogénből és riboszómákból álló aggregátumok egyre növekednek, és a citoplazmában membránnal el nem határolt halmazokat alkotnak. Később (a 20—30. órában) ezeket a halmazokat lizoszomális membrán veszi körül, és az ily módon körülhatárolt aggregátumok a lizoszomális enzimek hatására elemésztődnek. Hasonló, feltehetőleg elhalt májsejtekből származó aggregátumok később a Kupffer-sejtekben is kimutathatók.

3. Funkcionális változások

A galaktózamin kezelés számos májfunkció zavarát idézi elő. A vérplazma bilirubin tartalma jelentősen megemelkedik, és a máj által termelt faktorok csökkent koncentrációja miatt a véralvadás is zavart szenved (Keppler és mtsai 1968). A vérben felszaporodnak a májsejtek károsodását jelző enzimek, és csökken a vérplazma koleszterol-észter koncentrációja (Kattermann és Wolfrum, 1970). Az albuminkoncentráció csökkenése a vérben a májban folyó fehérjeszintézis zavarát jelzi (Koff és mtsai 1971). Galaktózamin tartós adagolásával májcirrózist, hepatomákat, sőt májrákot lehet előidézni (Lesch és mtsai 1973), ezekben az állapotokban súlyos májfunkciózavarok léphetnek fel, amelyek a kísérleti állatok pusztulásához vezetnek.

4. A galaktózamin-hepatitisz biokémiai jellegzetességei

Az egyszerű cukorszármazékkal előidézett májkárosodás a biokémikusok számára is vonzó problémát jelentett. Megcsillant ugyanis annak a lehetősége, hogy az ismert hexózamin-anyagcsere lépéseit követve elérkezhetünk egy olyan folyamathoz, amely kulcsfontosságú a májkárosodás kialakulásának szempontjából. A 4. ábra a galaktózamin metabolizmusát mutatja. A folyamatsorban közreműködő enzimeknek az az élettani feladatuk, hogy UDP-glukózt készítsenek a galaktózból, ami néhány sejtféleség számára méreg. Ezen az úton alakul át a galaktóz amino-származéka is. A metabolizmus vizsgálatánál magyarázatot találunk arra, hogy miért csak a májat károsítja a galaktóz-



4. ábra. A galaktózamin metabolizmusa

amin: azért, mert csak ebben a szervben található aktív galaktóz-átalakító enzimrendszer.

Az átalakulás során a hexózamin UDP-hez kapcsolódik. Sok galaktózamin átalakulásához nagymennyiségű UTP használódik fel, s ennek következtében a májsejtekben súlyos UTP hiány alakul ki (Keppler és mtsai 1970). Bizonyítást nyert, hogy az UTP hiányának tulajdonítható az RNS szintézis jelentős csökkenése, amely uridin adásával kivédhető (Reynolds és Reutter 1973). Későbbi stádiumban az RNS szintézis csökkenése a fehérjeszintézisben is zavart okoz; a galaktózamin *in vivo* gátolja a radioaktív aminosavak inkorporációját a májfehérjékbe mind patkányban (Reutter és mtsai 1969), mind egérben (Antoni 1972). A fehérjeszintézis zavara azonban nem tulajdonítható teljes mértékben az RNS hiánynak (Shinozuka és mtsai 1973). Saját vizsgálataink szerint a fehérjeszintézisért felelős riboszómák működését megzavarja egy újonnan képződött rendellenes makromolekula, az aminoglikogén.

A galaktózamin tehát komplex anyagcserezavart idéz elő a májsejtekben: rendellenes cukornukleotidok képződnek (UDP-glukózamin és UDP-galaktózamin), gátolt az RNS és a fehérjék szintézise, és rendellenes poliszaharid keletkezik, amelynek hatását a későbbiekben ismertetjük. Melyik lehet az a biokémiai változás, amelyik döntően befolyásolja a máj állapotát? Két kutató, K. Decker és D. Keppler vállalkozott arra, hogy a sokféle biokémiai változást egységes rendszerbe foglalja, és megjelölje a leglényegesebb paramétert. Véleményük szerint a májkárosodás szempontjából döntő fontosságú az UTP szint csökkenésének a mértéke és időtartama (Decker és Keppler 1974). A többi biokémiai változás (a fehérjeszintézis gátlás kivételével) mind csak másodlagos, az UTP hiány következménye. Bevezették a „kritikus metabolit-hiány periódus" fogalmát, s ennek alapján értelmezik más, ugyancsak UTP hiányt okozó vegyületek hatásait is. Vitathatatlan érdeme az elmé-

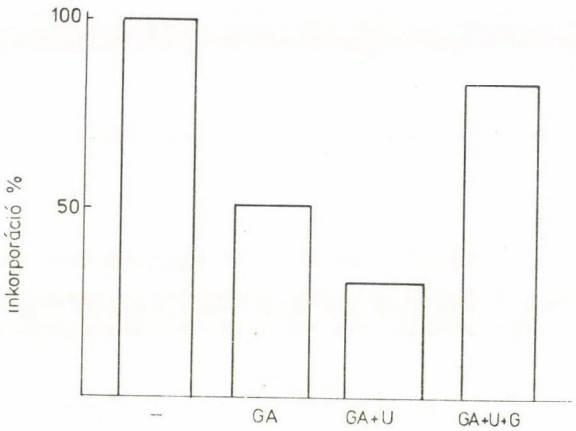
letnek, hogy összhangban van a legtöbb kísérleti adattal: azok a vegyületek, amelyek az UTP szintet helyreállítják (orotsav, uridin), egyben mérséklik a máj károsodását. Nem illeszthető azonban ebbe a képbe az, hogy glukózaminnal (akárcsak galaktózaminnal) jelentős UTP hiányt lehet előidézni, s a máj mégsem károsodik (Keppler és mtsai 1970). Arra sem ad magyarázatot az elmélet, hogy a regeneráló májban (részleges májirtást követő állapotban) és az újszülött rágcsálók májában miért nem jön létre károsodás galaktózamin hatására, jóllehet az UTP szint jelentősen csökken (Reutter és mtsai 1975). Megjegyezzük, hogy a „kritikus metabolit-hiány periódus" fogalma kórtani szempontból is csak korlátozott jelentőséggel bír, mivel az nem visz közelebb a nekrózis trigger-rendszerének a megértéséhez.

Reutter és munkatársai (1975) szerint szintén döntő fontosságú az UTP szint csökkenése, mivel ez egyéb folyamatok zavarát vonja maga után. Véleményük szerint azonban nem lehet figyelmen kívül hagyni a sejtalkotórészek dinamikus állapotát. A regeneráló májban és az újszülött állat májában a szintetikus folyamatok zavara hasonló mértékű, mint a felnőtt, épmájú állatnál, viszont a lebontó folyamatok sebessége lényegesen alacsonyabb, ezért feltehető, hogy a szintézisek átmeneti csökkenése nem végzetes a sejt sorsának szempontjából. Valószínűnek tartják, hogy megtalálható az az anyag vagy sejtalkotórész (több ilyen is lehet), amelynek a jelenléte életfontosságú a májsejt számára. Újabb megfigyelések szerint (Grün és mtsai 1976) az immunrendszer pusztítja el a károsodott májsejteket, ezért az immunrendszer állapota is döntően befolyásolja a májkárosodás súlyosságát.

A fehérjeszintézis transzlációs szintű gátlásának mechanizmusa eltér minden korábban megfigyelt gátlástípustól. Az elektronmikroszkópos megfigyelések alapján merült fel annak a lehetősége, hogy a riboszómák működészavarát a rendellenes glikogén okozza.

Egérmájszeletekkel modellkísérleteket végeztünk a galaktózamin fehérjeszintézis-gátló hatásának a vizsgálatára. Kimutattuk, hogy ha a galaktózamin metabolizmusát elősegítő anyagot, uridint adunk a májszeletek inkubációs elegyéhez, akkor fokozódik a galaktózamin gátló hatása a radioaktív valin inkorporációjára, azaz a fehérjeszintézisre (5. ábra). Ezzel szemben, ha a galaktózamin mellett az elegy galaktózt is tartalmaz, amely kompetitívan gátolja a galaktózamin metabolizmusát, akkor csökken a galaktózamin fehérjeszintézis-gátló hatása. Szövettanilag igazoltuk, hogy a galaktóz az élő állatban is kivédi a galaktózamin májkárosító hatását.

Megvizsgáltuk, hogy melyik galaktózamin metabolit zavarja közvetve vagy közvetlenül a fehérjeszintézist. A galaktózamin átalakulási termékeinek sorában az utolsó az UDP-galaktózamin és UDP-glukózamin páros. Ezek a nem-N-acetilezett UDP-hexózaminok rendellenes metabolitok, amelyek egyébként nem képződnek a májban (normálisan UDP-N-acetil-hexózaminok termelődnek). Az anomális cukornukleotidok galaktózamin adásakor felhalmo-



5. ábra. Galaktózamin, uridin és galaktóz hatása rádioaktív aminosav inkorporációjára egérmájszeletekben. —: kontroll; GA: galaktózamin, 10 mM; U: uridin, 10mM; G: galaktóz, 20 mM. (Mészáros és mtsai 1973, nyomán)

zódnak a májban, felhalmozódásukat az uridin elősegíti (Keppler és mtsai 1970), a galaktóz pedig gátolja (Mészáros és mtsai 1973). De milyen módon okozhatnak zavart az UDP-hexózaminok a fehérjeszintézisben?

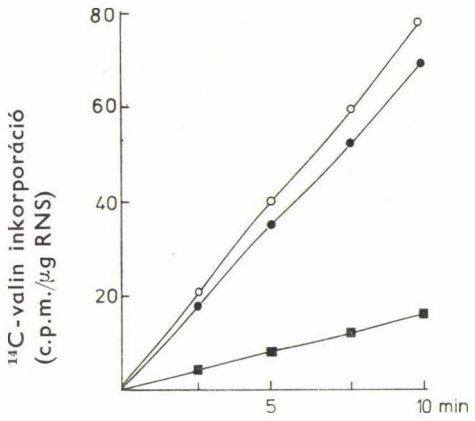
Az UDP-glukózamin helyettesítheti az UDP-glukózt abban a reakcióban, amelyben a glikogén szintetáz enzim az UDP-hez kötött cukormolekulát átviszi a glikogénre (Maley és mtsai 1966), s ily módon a nyomjelző ^{14}C-galaktózamin molekulái ^{14}C-glukózamin formájában beépülhetnek a májglikogénbe. Említettük, hogy az elektronmikroszkópos hisztokémiai vizsgálatok rendellenes poliszaharidot jeleztek a galaktózaminnal kezelt állatok májában. Lehetséges, hogy a nagymennyiségű galaktózamin adásakor olyan sok glukózamin épül be a májglikogénbe, amely már jelentősen módosítja a poliszaharid tulajdonságait? E kérdés eldöntése végett galaktózaminnal kezelt egerek májából izoláltuk a módosult glikogént. Az anyag jelentős mennyiségben tartalmazott glukózamint (1. táblázat), és megállapítottuk, hogy a poliszaharid szabad aminocsoportokkal rendelkezik, tehát bázikus természetű (aminoglikogén).

1. táblázat

*Az aminoglikogén összetétele**

	Normál glikogén	Aminoglikogén
Glukóz maradék	98,8**	95,4
Fehérje	0,33	0,56
Glukózamin maradék	0,0	4,58

* Mészáros és mtsai, 1976
** Az adatok mértékegysége: g/100 g tisztított poliszacharid

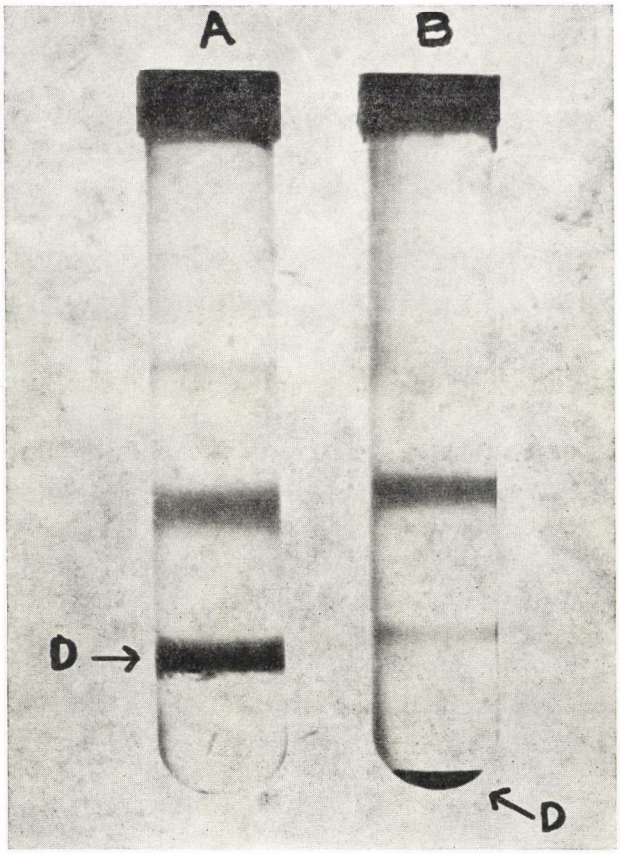


6. ábra. Aminoglikogén hatása sejtmentes fehérjeszintetizáló rendszer működésére. o: kontroll; ●: glikogén, 20 mg/ml; ■: aminoglikogén, 20 mg/ml. (Mészáros és mtsai 1976)

Fontos megfigyelésnek tartjuk azt, hogy az aminoglikogén az egérmájból preparált riboszómák oldatát megzavarosítja, s a riboszómákat kicsapja (Mészáros és mtsai, 1976). Ugyancsak összecsapzódik *in vitro* az aminoglikogén a durvafelszínű endoplazmatikus membránrendszer fragmentumaival, az úgynevezett nehéz mikroszómákkal. A negatív töltésű riboszómák és a pozitív töltésű aminoglikogén hasonló összecsapzódása a májsejten belül is végbemehet, és minden valószínűség szerint ilyen módon keletkeznek az elektrondenz citoplazmatikus aggregátumok, amelyeket elektronmikroszkóppal figyeltek meg a galaktózaminnal kezelt állatok májsejtjeiben.

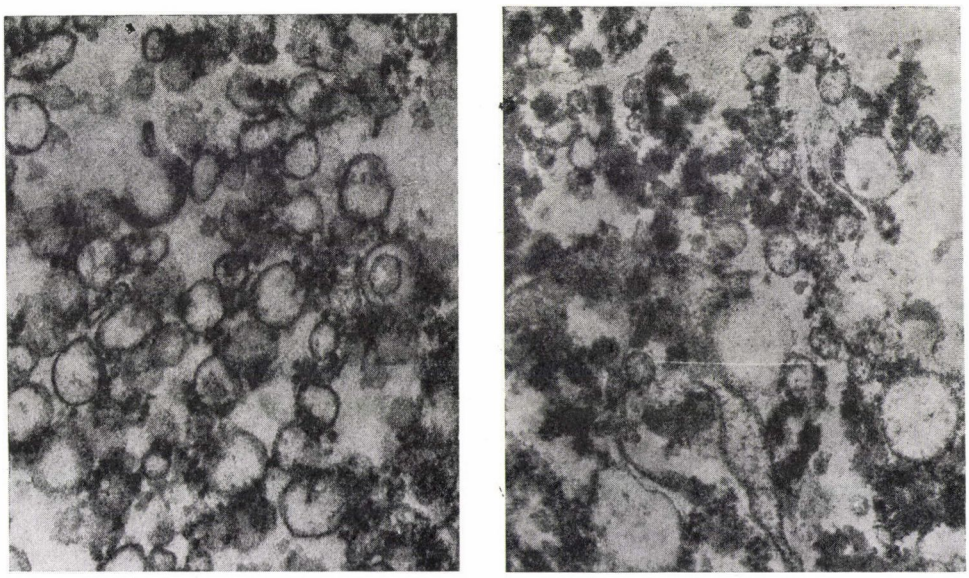
Az összecsapzódás nem marad hatástalan a fehérjeszintézisért felelős részecskék működésére, mint az a következő kísérletből kiderül. Egérmájból posztmitokondriális felülúszót tartalmazó sejtmentes fehérjeszintetizáló rendszert készítettünk Pain (1973) módszerével. Ebben a rendszerben a riboszómák az endoplazmatikus membrán fragmentumaihoz kapcsolódva többkevesebb intenzitással *in vitro* is folytatják fehérjeszintetizáló működésüket. Az inkubációs elegyhez adott radioaktív valin beépül a (forró triklórecetsavban oldhatatlan) fehérjékbe. A sejtmentes fehérjeszintetizáló rendszer működését a normális májglikogén nem zavarta, míg a galaktózamin-hepatitiszes állatokból izolált bázikus aminoglikogén hozzáadása jelentősen gátolta a radioaktív valin beépülését a fehérjékbe (6. ábra). Ennek alapján feltételezzük, hogy az élő állat májában is hasonló a transzlációs szintű fehérjeszintézis gátlás mechanizmusa.

Biokémiai módszerekkel is meggyőződtünk arról, hogy a galaktózaminnal kezelt egerek májában az aminoglikogén okozza a riboszómák, illetve a durvafelszínű endoplazmatikus membránok aggregációját. Galaktózaminnal és glukózzal (250 mg, ill. 5 g/kg) kezelt egerek májából homogenizátumot készí-



7. ábra. Mikroszóma frakciók ülepedése lépcsős szaharóz sűrűséggrádiensben. A: csak glukózzal kezelt, B: glukózzal és galaktózaminnal kezelt állat májából készített preparátum. A kísérlet leírását lásd a szövegben. D: durvafelszínű endoplazmatikus membrán frakció. (Mészáros és mtsai 1974)

tettünk, amelyből kicentrifugáltuk a mitokondriumokat. A mikroszómákat (az endoplazmatikus membránrendszer fragmentumait) tartalmazó poszt-mitokondriális felülúszót Lewis és Tata (1973) módszerével frakcionáltuk lépcsős szaharóz grádiensben való ultracentrifugálással. A csak glukózzal kezelt kontroll állat májából származó durvafelszínű endoplazmatikus membránfragmentumok az irodalmi adatoknak megfelelően a 2M szaharóz réteg felett helyezkedtek el (7. ábra, *a* cső). Ezzel szemben a galaktózaminnal és glukózzal kezelt állat májából származó durvafelszínű endoplazmatikus membránfragmentumok a centrifugálás során áthatoltak a 2M szaharóz rétegen, és a cső fenekére süllyedtek (7. ábra, *b* cső). Ez arra mutat, hogy ennek a frakciónak a fajsúlya aggregáció folytán megnövekedett. Az ily módon izolált endoplazmatikus retikulum preparátumokról készített elektronmikroszkópos



a) *b)*

8. ábra. Ultracentrifugával izolált durvafelszínű endoplazmatikus membrán preparátum elektronmikroszkópos képe. Az izolálás csak glukózzal (A), illetve glukózzal és galaktózaminnal (B) kezelt állatok májából történt. OsO_4 fixálás, uranilacetát-ólom-citrát festés. 60 000 ×

felvételek láthatók a 8. ábrán. A kontroll készítményben (A) jól kivehetők a riboszómák, amelyek szabályos sorokban ülnek a membránfragmentumokból keletkezett vezikulákon; a megnövekedett fajsúlyú frakcióban (B) pedig amorf elektrondenz anyag és riboszómák aggregátumai láthatók a membránfragmentumok között. Kimutattuk, hogy ha ezt a frakciót amilázzal kezeljük, akkor a durvafelszínű endoplazmatikus membránfragmentumok visszanyerik eredeti ülepedési tulajdonságaikat, és az amilázzal való emésztés után újracentrifugálva normális helyükön, a 2 M szaharóz réteg felett helyezkednek el. Minthogy az amiláz lebontotta a frakcióban található aminoglikogént, bizonyítottnak tekinthetjük azt, hogy a fajsúlynövekedés oka az aminoglikogénnal való aggregáció volt. Ezek a vizsgálatok megerősítik az elektronmikroszkópos megfigyeléseket.

A felsorolt morfológiai és biokémiai adatok alapján arra a következtetésre jutottunk, hogy a galaktózaminhepatitiszben fellépő transzlációs szintű fehérjeszintézis gátlás annak a következménye, hogy a képződő bázikus aminoglikogén a májsejtekben összecsapzódik a riboszómákkal és a durvafelszínű endoplazmatikus membránnal. Az aggregátumokban zavart szenved a riboszómák élettani működése, a fehérjeszintézis.

5. A májkárosodás és a galaktózamin biotranszformációja

A májszövet életképessége szempontjából kétségkívül döntő fontosságú a zavartalan makromolekula szintézis. A nekrózis okainak vizsgálatánál aligha lehet egymástól függetlenül tárgyalni a szintetikus folyamatok zavarait, mivel ismeretes, hogy csak az RNS szintézis (inkomplet) gátlása vagy csak a fehérjeszintézis (inkomplet) gátlása még nem vezet a májsejtek pusztulásához (Farber 1975). Egy-egy részfolyamat teljes gátlása az élő állatban gyakorlatilag kivihetetlen. A galaktózamin-hepatitiszben az RNS- és a fehérjeszintézis zavara egyaránt súlyos, és a kettő együttesen vezethet a májsejtek elhalásához.

A máj jellegzetes biokémiai ellenőrző működése, amelyet biotranszformáció néven foglalunk össze, néha detoxikálás helyett mérgező anyagok kialakulását eredményezi. A galaktóz kiszűrése a vérből a máj élettani feladata. Az analóg galaktózaminból a galaktóz-átalakító mechanizmus nem-N-acetilezett UDP-hexózaminokat készít, s ehhez nagymennyiségű UTP használódik fel. Az UTP hiány tehát a galaktózamin metabolizmusának a következménye, és közvetve ennek tulajdonítható az RNS szintézis csökkenése is.

Az UDP-glukózamin a glikogén szintetáz enzim hamis szubsztrátja, s így glukózamin épül be a glikogénba. A keletkező aminoglikogén gátolja a fehérjeszintézist, s ez végső soron ugyancsak a galaktózamin biotranszformációjának a következménye. Látszólag ellentétben áll ezzel Decker és munkatársainak (1973) kategorikus kijelentése, miszerint a galaktózaminnak nincsenek toxikus metabolitjai. Ha csak a kismolekulasúlyú rendellenes metabolitokat (galaktózamin-1-foszfát, UDP-hexózaminok) tekintjük, úgy egyetérthetünk a fenti megállapítással. Minthogy azonban a glukózamin beépülése a glikogénba mégiscsak toxikus polimért eredményez, le kell szögeznünk azt, hogy a galaktózamin biotranszformációja végső soron mérgező anyag keletkezéséhez vezet: a közömbös galaktózamin ártalmatlan metabolitjaiból toxikus polimér épül fel.

Rendellenes makromolekulák „bio"-szintézisét módosított prekurzorok alkalmazásával már többféle anyag esetében megvalósították, a glikogén hasonló módosítására azonban nem találtunk példát az irodalomban. A galaktózamin-hepatitisz vizsgálatánál — a galaktózamin metabolizmusának ismeretében — nyomon követhettük a rendellenes makromolekula keletkezését, és megfigyeltük a hatását a fehérjeszintézisért felelős részecskékre mind *in vivo*, mind *in vitro*. Az egymást kiegészítő morfológiai és biokémiai eredmények alapján megállapítottuk, hogy az aminoglikogén a fehérjeszintézis egyik gátló faktora, és mint ilyen, nyilvánvalóan közrejátszik a májkárosodás kialakulásában.

A galaktózamin-hepatitisz mint kísérleti májbetegség eredményesen alkalmazható a májvédőszerek kutatásában. Úgy véljük, hogy a pathomechanizmus részletes felderítése növeli a kísérleti modell értékét.

IRODALOM

Bernhard, W.: J. Ultrastruct. Res. **27,** 250 (1969).
Decker, K. és *Keppler, D.:* Progress in Liver Diseases, vol. IV., p. 183 (eds. Popper, H. és Schaffner, F.) Grune and Stratton, New York (1972).
Decker, K. és *Keppler, D.:* Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol. **71,** 77 (1974).
Decker, K., Keppler, D. és *Pausch, J.:* Advan. Enzyme Regul. **11,** 205 (1973).
Dianzani, M. U. és *Gravela, E.:* Pathogenesis and Mechanism of Liver Cell Necrosis, p. 225. (ed. Keppler, D.) MTP Press Ltd, Lancaster (1975).
Farber, E.: Pathogenesis and Mechanism of Liver Cell Necrosis, p. 37. (ed. Keppler, D.) MTP Press Ltd, Lancaster (1975).
Grün, M., Liehr, H. és *Rasenack, V.:* Acta Hepato-Gastroenterol. **23,** 64 (1976).
Kattermann, R. és *Wolfrum, D. I.:* Z. Klin. Chem. **8,** 413 (1970).
Keppler, D., Lesch, R., Reutter, W. és *Decker, K.:* Exp. Mol. Pathol. **9,** 279 (1968).
Keppler, D., Rudigier, J. F. M., Bischoff, E. és *Decker, K.:* Eur. J. Biochem. **17,** 246 (1970).
Koff, R. S., Fitts, J. J. és *Sabesin, S. M.:* Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. **138,** 89 (1971).
Lapis, K. és *Schaff, Zs.:* Morph. és Ig. Orv. Szemle **13,** 276 (1973).
Lesch, R., Bauer, C. és *Reutter, W.:* Virchows Arch. B Cell. Path. **12,** 285 (1973).
Lesch, R., Meinhardt, K., Häberle, B. és *Enzan, H.:* Virchows Arch. B Cell. Path. **21,** 313 (1976).
Lewis, A. J. és *Tata, J. R.:* Biochem. J. **134,** 69 (1973).
Maley, F., McGarrahan, J. F. és *Del Giacco, R.:* Biochem. Biophys. Res. Commun. **23,** 85 (1966).
McLean, A. E. M.: Pathogenesis and Mechanism of Liver Cell Necrosis, p. 123 (ed. Keppler, D.) MTP Press Ltd, Lancaster (1975).
Medline, A., Schaffner, F., és *Popper, M.:* Exp. Mol. Pathol. **12,** 201 (1970).
Mészáros, K., Antoni, F., Hrabák, A., Szikla, C., Garzó, T., Tompa, A. és *Lapis, K.:* FEBS Letters **35,** 1 (1973).
Mészáros, K., Antoni, F., Mandl, J., Hrabák, A., és *Garzó, T.:* FEBS Letters **44,** 141 (1974).
Mészáros, K., Mandl, J., Antoni, F. és *Garzó, T.:* FEBS Letters **71,** 215 (1976).
Montesano, R. és *Magee, P. N.:* Nature **228,** 173 (1970).
Pain, V.: FEBS Letters **35,** 169 (1973).
Reutter, W., Lesch, R., Keppler, D. és *Decker, K.:* Naturwissenschaften **55,** 497 (1968).
Reutter, W., Keppler, D., Lesch, R. és *Decker, K.:* Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med. **75,** 363 (1969).
Reutter, W., Bauer, C., Bachmann, W. és *Lesch, R.:* Liver Regeneration after Experimental Injury, p. 259. (eds Lesch, R., Reutter, W.) Stratton I. M. B. C., New York (1975).
Reynolds, R. D. és *Reutter, W.:* J. Biol. Chem. **248,** 1562 (1973).
Scharnbeck, H., Schaffner, F., Keppler, D. és *Decker, K.:* Exp. Mol. Pathol. **16,** 33 (1972).
Shinozuka, H., Farber, J. L., Konishi, Y. és *Anukarahanonta, T.:* Fed. Proc. **32,** 1516 (1973).
Thiery, J. P.: J. Microscopie (Paris) **6,** 85A (1967).

Semmelweis Orvostudományi Egyetem I. sz. Kórbonctani Intézet és III. sz. Belgyógyászati Klinika

A FINOMSZERKEZETI VIZSGÁLATOK LEHETŐSÉGEI A VÉRKÉPZŐSZERVI BETEGSÉGEK DIAGNÓZISÁNAK FELÁLLÍTÁSÁBAN

SUBA ZSUZSANNA; LAPIS KÁROLY, az MTA levelező tagja;
és GRÁF FERENC, az orvostudományok kandidátusa

Közlésre érkezett: 1977. XI. 14.

Az elmúlt évtizedben az elektronmikroszkópos módszerek (fixálás, beágyazás) tökéletesítésével a haematológia területén is tért hódítottak a finomszerkezeti vizsgálatok (Anderson 1966; Ackerman 1968; Bessis és Breton-Gorius 1969; Watanabe és mtsai 1967). A pathológus számára megfelelő vizsgálati anyag a sternum punctatum néhány darabkája, a perifériás vér pedig bármikor könnyen hozzáférhető, így nincs szükség további beavatkozásokra (tübiopsia, laparoscopia), melyek a parenchymás szervek morfológiai vizsgálatához nélkülözhetetlenek.

Ma már kevés olyan haematológiai atlasz és kézikönyv jelenik meg, amely figyelmen kívül hagyja a normál és kóros haemopoeticus elemek finomszerkezetét, sőt a hetvenes években számos olyan kiadvánnyal találkozunk, amelyek gazdag haematológiai anyaguk ismertetését elsősorban az ultrastrukturális elváltozások bemutatására összpontosítják (Bessis 1973; Cawley és Hayhoe 1973; Ruzicka 1976; Tanaka és Goodman 1972).

Az elektronmikroszkópos vizsgálatok igen tág perspektívát nyitottak meg a fejlődő és érett vérsejtek tanulmányozása terén. A nagy felbontás tette lehetővé a fejlődő erythroblastok vasforgalmának tanulmányozását (Bessis és Breton-Gorius 1962a; Tanaka és Brecher 1971), valamint a reticulocyta képzés folyamatának megismerését (Williams és mtsai 1972). Sikerült fényt deríteni a myeloid elemek granulopoesisének (Ackerman 1968; Bainton és mtsai 1971) és phagocytosisának folyamatára (Hirsch és Cohn 1960; Zucker-Franklin és Hirsch 1964), valamint ezek defektusaira is. A vérlemezkék zonalis structurájának funkcionalis és pathológiai értékelése (White és Gerrard 1976) a különböző véralvadási zavarok megértésében nyújtott felbecsülhetetlen segítséget.

Kevéssé differenciált sejtek elkülönítésében a nagy felbontás önmagában is nagy előnyt jelent. Lehetőség nyílik az organellumok kóros elváltozásainak értékelésére (Golgi-készülék, mitochondriumok, nucleolusok), ezenkívül olyan finomabb elváltozások észlelésére is módunk van, amelyeket korábban sejteni sem lehetett (chromatin hidak, cytoplasma vesiculák, pseudonucleolusok a sejtmagban, fibrillum-kötegek, microtubulusok a cytoplasmában) (Ahearn és

mtsai 1974; Bessis és Breton-Gorius 1969; Bouteille és mtsai 1967; Clausen és Von Haam 1969; McDuffie 1967; Smetana és mtsai 1969).

Ha a finomszerkezeti vizsgálatokat más módszerekkel kombináljuk (enzimcytokémia, immunológia), további értékes információkat nyerhetünk. Nem ritka, hogy egy fénymikroszkópos vizsgálattal teljesen differenciálatlannak tűnő blast-sejtben enyhe myeloperoxidáz pozitivitást lehet kimutatni a perinuclearis cysternában, vagy mikro-Auer-testecskék találhatók a cytoplasmában, ami a myeloid eredet mellett szól (Bessis és Maigné 1970; Breton-Gorius 1974).

Differenciáltabb sejtek vizsgálata esetén finomabb ultrastrukturális és enzimcytokémiai defektusokat tárhatunk fel (Ullyot és Bainton 1974). Immuncytokémiai módszerekkel detektálhatjuk az egyes lymphoid (Dickler és mtsai 1973) és plasmasejt-vonalak (Blom és mtsai. 1976; Leduc és mtsai 1968; dePetris és Karlsbad 1965) immunglobulin szintetizáló képességét.

Jelen tanulmányunkban 50 esetből származó anyag elektronmikroszkópos vizsgálata alapján azt mérlegeljük, hogy az ultrastrukturális vizsgálatok mennyiben tudnak hozzájárulni a haematológiai kórképek pontos diagnózisának felállításához, és milyen segítséget nyújthatnak a folyamat progressziójának, illetve a therápia hatásosságának megítélésében.

Anyag és módszer

Vizsgálatainkat 50 vérképzőszervi betegségben szenvedő egyén perifériás véréből és csontvelő punctatumából nyert mintákon végeztük el (I. táblázat). A betegek többségétől az első kórházi felvétel alkalmával nyertünk anyagot. Néhány esetben a klinikai kezelés után, a remissio, illetve relapsus periódusában is végeztünk vizsgálatokat.

I. táblázat

A vizsgált betegek megoszlása diagnózis szerint

Diagnózis	Esetek száma		
	Friss kezeletlen	Remissio	Relapsus
Chr. myeloid leukaemia	5	3	1
Acut myeloid leukaemia	6	2	1
Acut promyelocyta leukaemia	2		
Monoblast leukaemia	2		
Acut lymphoid leukaemia	6		
Chr. lymphoid leukaemia	5		
Szőrös sejtes leukaemia	5	3	
Myeloma	4	1	
Megaloblastos anaemia	4	2	
Sideroblastos anaemia	4		
Polycythaemia vera	2		
Erythraemia-erythroleukaemia	5		

Tíz ml heparinozott vénás vérből a feltételezett diagnózisnak megfelelően célzottan szeparáltuk a vörösvértesteket és fehérvérsejteket. A vörösvértesteket 37°C-os thermostatban ülepítéssel, a fehérvérsejteket Ficoll-Uromiro-oldat segítségével, fajsúly grádiens centrifugálással izoláltuk (Perper és mtsai 1968). Az így nyert sejttömeget és a csontvelő darabkákat 2,5%-os, cacodylat pufferrel pH 7,4-re beállított glutáraldehydben, majd 2%-os, veronal acetáttal pH 7,4-re pufferelt OsO_4-ban fixáltuk 1—1 órán keresztül. Az anyagokat felszálló alkohol-soron víztelenítettük, majd Durcupan ACM-be (Fluka) ágyaztuk. Az ultravékony metszeteket LKB ultramicrotommal készítettük és uranyl-acetáttal, majd ólomcitráttal festettük (Reynolds 1963). A felvételeket Jeol 100 B elektronmikroszkóppal készítettük 60 kV gyorsítófeszültség mellett.

A haemopoesis elemeinek elektronmikroszkópos pathológiája

A vörös csontvelőben az egyes sejttípusok érése meghatározott ütemben és a mindenkori szükségletnek megfelelő mértékben folyik egészséges egyénnél. Az erythropoesis morfológiailag jól körülhatárolt egységekben, úgynevezett erythroblast szigetekben történik, a myeloid, a lymphoid és a thrombocyta praecursorok elszórtan, a többi sejtes elemmel keveredve fejlődnek a sinusoidok közötti térben. A praecursor sejtek fény- és elektronmikroszkóppal jól követhető változásokon mennek keresztül, magjuk és cytoplasmájuk párhuzamosan jut el az érettség fokára (Bessis 1973; Tanaka és Goodman 1972; Williams és mtsai 1972). Az érési folyamat sejttípusonként különbözően alakul, az erythroblastoknál a pyknoticus sejtmag kiküszöbölésével, a granulocyta praecursoroknál pedig a különböző granulum populatiók képzésével fejeződik be.

Különböző ártalmak, haematológiai vagy egyéb betegségek igen könnyen megzavarhatják a haemopoesis sokoldalúan kontrollált, bonyolult folyamatát. Ez tükröződik a sejtmag és a cytoplasmaticus organellumok finomszerkezeti elváltozásaiban is.

A sejtmag pathológiája

Malignus kórképek kapcsán rendkívül szembetűnő a sejtmagok alakjának szabálytalansága. Elektronmikroszkópos vizsgálattal jellegzetesen többlebenyű, szegmentált, illetve fissurákkal szétszabdalt sejtmagokat figyelhetünk meg (Anderson 1966; Bessis és Breton-Gorius 1969; Zucker-Franklin 1975) (1. ábra). Leukaemiás sejteknél igen gyakoriak a sejtmag finomabb alakváltozásai. Előfordulhatnak benne cytoplasmával kitöltött, vékony chromatin szegéllyel határolt vesiculák (nuclear blebek) (12. ábra), illetve hasadékok (Huhn és Schmalzl 1974; Maldonado és mtsai 1976; McDuffie 1967). Elektronmikroszkópos morfometriai vizsgálatokkal kimutatták, hogy acut myeloid leukaemiás esetekben a beteg klinikai állapotának súlyossága és ezen „nuclear bleb"-ek

gyakorisága között szoros összefüggés van (Ahearn és mtsai 1974). Ezt az összefüggést saját vizsgálataink alapján is megállapítottuk.

Malignus sejtekben szabálytalan magfüggelékek is gyakran megjelennek, melyek vékony chromatin híddal csatlakoznak a sejtmaghoz (Bessis és Breton-Gorius 1969). A praecursor sejtek oszlásának zavarát jelzi a többmagvú sejtek megjelenése (2. ábra) (Søndergaard-Petersen 1975).

Az éretlen sejtek magjában mindig dominál a kevéssé elektrondenz euchromatin. Denz heterochromatin csak a magmembrán mentén és a nucleolusok szomszédságában figyelhető meg (8., 9., 10. ábra).

A normál érési folyamat során az egyes sejtvonalakban jellegzetesen alakul a sejtmag chromatin szerkezete. Az erythroblastok magjában a heterochromatin kerékküllő-szerűen rendeződik (16. ábra), majd a mag pyknosis előrehaladásával kitölti az egész karyoplasmát. Bizonyos kóros állapotok a DNS szintézis zavarát okozzák (pl. anaemia perniciosa). Ilyenkor a fejlődő erythroblastok magjában elmarad a heterochromatin kondenzáció (19. ábra), a nucleolusok persistálnak, miközben a cytoplasmában már megjelenik az elektrondenz haemoglobin (Ito és mtsai 1964). A megfelelő therápia a megaloblastoid sejtmagokban megindítja a heterochromatin kondenzációt, a persistáló hypertrophiás nucleolusok involutiót szenvednek és helyreáll a normoblastos vérképzés (Schnitzer és mtsai. 1972).

Igen nagy jelentősége van annak, hogy a sejtmagban a chromatin kondenzálódása mennyire halad párhuzamosan a cytoplasma organellumainak érésével. Malignus folyamatok, myeloproliferatív syndromák kapcsán gyakran megfigyelhető, hogy a sejtmag fejlődése túlságosan előrehalad (13. ábra), vagy lemarad a cytoplasmához viszonyítva (2., 6., 10., 17. ábra) (Bessis 1973; Bessis és Breton-Gorius 1969). Ezen intracellularis asynchronia mértéke gyakran a klinikai kép súlyosságával állítható párhuzamba (Graham és Brenier 1975).

Normál és tumorsejtekben gyakran fordulnak elő nuklearis testek (nuclear body-k) (Ghadially 1975). Ezeket általában világos udvar határolja el a környező karyoplasmától. Különböző típusaikat ismerjük, ezek közül leggyakoribbak az egyszerű formák, melyek circularis lefutású fibrillumokból épülnek fel (6., 8. ábra). A komplexebb formák centralisan elektrondenz, granularis szerkezetű anyagot tartalmaznak, ezt fogja körül a fibrillaris protein burok (Bouteille és mtsai 1967). Ezen utóbbi típust ezidáig csak kóros körülmények között figyelték meg, elsősorban vírusfertőzésekhez és malignus sejtproliferációhoz társulnak (Dupuy-Coin és Bouteille 1972; Schaff és mtsai 1977).

A sejtmag heterochromatin regiójában megjelenhetnek elektrondenz, világos udvarral határolt perichromaticus granulumok. Az interchromaticus granulumok a hetero- és euchromatin regio határán fordulnak elő, RNS tartalmúak, és elektronmikroszkópos cytokémiai reakciók elvégzése után jól tanulmányozhatók. Tumorsejtekben a két granulum-féleség jelentősen felszaporodik (Ghadially 1975).

A nucleolusok a vérsejtek fejlődése során jellegzetes változásokon mennek keresztül. Éretlen sejtekben hypertrophiásak, reticularis szerkezetűek, majd funkcionalis jelentőségük visszaszorulásával tömörebbé válnak, és az érett sejtben teljes involutiót szenvednek (Bessis 1973).

Malignus folyamatok esetén gyakori, hogy a nucleolusok hypertrophiásak (3a., 8. ábra), a sejt érése során persistálnak, illetve alakváltozásokat szenvednek (3c. ábra) (Smetana és mtsai 1969; Smetana 1970). Proliferáló daganatsejtekben gyakori a nucleolus marginisatiója (3a. ábra) (Burns és mtsai 1971), és megjelenhetnek magi csatornák, vesiculák (3d. ábra), melyek a nucleolus és a cytoplasma közti felgyorsult anyagforgalmat szolgálják (Ghadially 1975).

A gyorsan proliferáló sejteknél nem ritka, hogy a mag és a cytoplasma morfológiája alapján éretlennek tekinthető, aktív anyagcserét folytató sejtben a nucleolus morfológiailag inaktívnak tűnik (3b., 3c. ábra). Ennek ellentéte az az eset, amikor a pathologiás, morfológiailag érettnek tekinthető sejtmagban a funkciójukat vesztett nucleolusok persistálnak, sőt, a hozzájuk vezető magi csatornácskák is fennmaradnak (2. ábra).

A cytoplasma és a sejtorganellumok pathologiája

A sejtmembrán morfológiája jellegzetesen alakul a különböző sejttípusok fejlődése során. A fiatal erythroblastok felszínéről jellegzetes, vastartalmú rhopheocytoticus vesiculák fűződnek le (16. ábra), így kerül be a cytoplasmába a vérplasma ferritinje (Tanaka és Brecher 1971). A monocyta praecursorok sejtfelszínének aktivitása általában fokozott (15. ábra), micropinocytoticus vesiculák és microprojectiók gyakran figyelhetők meg (Glick és Horn 1974). A granulocyták sejtfelszíni aktivitása funkciójukkal kapcsolatos. A diapedesis és a phagocytosis során pseudopodiumokat képeznek. Ezen cytoplasma nyúlványok organellumokat nem tartalmaznak (Hirsch és Cohn 1960; Bessis 1973). Plasmasejteknél gyakran megfigyelhető durvafelszínű endoplasmás reticulum cysternákat tartalmazó kisebb cytoplasma részletek lefűződése (6. ábra), ezt a jelenséget clasmacytosisnak nevezzük (Bessis 1973).

A különböző vérsejtek mitochondriumainak száma és elektronmikroszkópos morfológiája normál körülmények között is rendkívül változatos. A granulopoesis elemei közül mitochondriumok nagyobb számban csak a myeloblastban figyelhetők meg (8., 10. ábra), az érési sor további tagjaiban legfeljebb elvétve találhatók. Az erythroid praecursorok cytoplasmájában az éréssel csökken a mitochondriumok száma (16. ábra), de néha a fiatal reticulocyta is tartalmazhat néhány organellumot. A lymphoid sejtek érése során mindvégig uralkodó organellum a mitochondrium (14., 21. ábra).

Különféle kóros állapotok érinthetik a sejtlégzés folyamatát, és ezáltal a mitochondriumok finomszerkezete súlyos károsodást szenved. Megjelenhetnek

óriás mitochondriumok, és bekövetkezhetnek alaki változások is (elágazások, lefűződések, elongált, illetve gyűrű formák) (4b. ábra) (Ghadially 1975). Acut leukaemiák esetén jellegzetesnek tartják a mitochondrialis cristák desintegrálódását, feltöredezését (Schumacher és mtsai 1973; Schumacher és mtsai 1975). A crista károsodás eredményeként lokális dilatatiók, elektronáteresztő, világos területek jelennek meg a mitochondrialis matrixban (4c. ábra). Számos pathologiás mitochondrium tartalmaz zárványtesteket, gyakoriak például a protein természetű mitochondrialis kristályok (4d. ábra) (Ghadially 1975). Ha az erythroblastokban a haem biosynthesise zavart szenved, a vas nem képes beépülni a haem vázba, és elektrondenz, amorf vasrögök jelennek meg a mitochondrialis matrixban (4a., 17. ábra), ami a cristák, majd az egész organellum pusztulásához vezet (Bessis 1973; Bessis és Breton-Gorius 1962b; Williams és mtsai 1972). Az ilyen kóros vastartalmú erythroblastokat pathologiás sideroblastoknak nevezzük (Bessis és Breton-Gorius 1962b; Bessis és Jensen 1965).

A durvafelszínű endoplasmás reticulum és a ribosomák megoszlása az egyes sejttípusokban jellegzetesen alakul. A granulopoesis elemeiben az érés korai stádiumában dominálnak az elongált endoplasmás reticulum cysternák (8. ábra). Később, az érés előrehaladásával háttérbe szorulnak (11. ábra), és az érett granulocytákban egyáltalán nem fordulnak elő (12. ábra). Lymphoid sejtekben előfordulásuk igen ritka. Az erythroblastokra a polyribosomák jellemzőek (16. ábra), ezekhez kötött a haemoglobin fehérje komponensének szintézise (Bessis 1973; Williams és mtsai 1972). Kóros állapotok esetén a polyribosomák desintegrálódnak, a monosomák dominálnak (Ito és mtsai 1964), vagy a durva felszínű endoplasmás reticulum cysternák kerülnek túlsúlyba (18. ábra). Az érett plasmasejtek cytoplasmáját csaknem teljesen kitöltik a durva felszínű endoplasmás reticulum cysternák (Tanaka és Goodman 1972). Pathologiás körülmények között gyakori, hogy kitágulnak, sacculusokká alakulnak, pelyhes, mérsékelten elektrondenz anyaggal kitöltve (5a. ábra) (Tanaka és Goodman 1972). A cysternákon belül olykor kerekded Russel-testek képződését lehet megfigyelni (5c. ábra) (Blom és mtsai 1976; Tanaka és Goodman 1972). Bizonyos kóros állapotok kapcsán a lymphoid sejtek durvafelszínű endoplasmás reticulum cysternáin belül sajátos tubuloreticularis struktúrák jelennek meg (5b. ábra). Ezek természete jelenleg még vitatott, feltételezik, hogy vírus fertőzéssel hozhatók kapcsolatba (Grimley és Schaff 1976; Schaff és mtsai 1975).

A centriolumok a vérsejtekben általában jól felismerhetők még az érett, oszlásra nem képes alakokban is. A centriolum elváltozások a lymphoid sejtek malignus burjánzása esetén gyakoriak, megjelenhet több centriolum pár, illetve óriás centriolumok (Bessis 1973).

A Golgi-készülék morfológiájának és pathológiájának tanulmányozása a granulocyta praecursorok esetében nagy jelentőségű. A Golgi-készülék különböző pólusain képződnek ugyanis a granulocyták funkciójához szükséges granulum populatiók, melyek lysosomalis enzimeket tartalmaznak (Ackerman 1968;

Bainton és mtsai 1971). Kóros állapotok, malignus folyamatok megzavarhatják a granulumok érését, előfordul, hogy belső kristály struktúrájuk károsodást szenved (11. ábra) (Bessis és Breton-Gorius 1969). A granulum képzés zavara egyúttal funkció defektussal jár, ami klinikailag súlyos betegség formájában manifesztálódhat.

A granulocyta praecursorok azur granulumainak fusiójával jönnek létre a bizarr formájú Auer-testecskék (10. ábra) (Freeman 1960; Freeman 1966). Elektronmikroszkópos vizsgálattal jól megfigyelhető, hogy ezen sajátos képződmények változó periodicitású kristály struktúrát tartalmaznak (Kondo és mtsai 1966). Citokémiailag kimutatható, hogy az Auer-testecskék peroxidase és savanyú phosphatase pozitívak (Breton-Gorius és Houssay 1973; Goldberg 1964). Megjelenésük diagnosztikus értékű, mert csak a myeloid leukaemiákra jellemzőek (Bessis és Breton-Gorius 1969).

A monocyták cytoplasmája kevesebb granulumot tartalmaz. Ezek mérete kisebb, és morfológiailag is elkülöníthetők a granulocyta granulumoktól (15. ábra) (Glick és Horn 1974; Freeman és Journey 1971).

Myeloproliferatív syndromák kapcsán a thrombocyta granulumok finomszerkezete jellegzetesen megváltozik, bizarr formájú és méretű granulumok jelennek meg (7. ábra) (Maldonado 1975; Maldonado és Pierre 1975). Feltételezik, hogy ezen kóros morfológiájú thrombocyta granulumok praeleukaemiás állapotok indikátorai lehetnek (Maldonado és Pierre 1975).

Daganatsejtek cytoplasmájában gyakran megfigyelhetők vaskos microfibrillum kötegek, így malignus haematológiai kórképek esetén a vérsejtekben is megfigyelhetők (Bessis és Breton-Gorius 1969; Bessis 1973; Ghadially 1975). Előfordul, hogy circularis lefutású fibrillaris testecskék keletkeznek (Freeman és Samuels 1958).

Az elektronmikroszkópos vizsgálatok értéke az acut blastsejtes leukaemiák elkülönítésében

Az acut blastsejtes leukaemiák prognózisa általában igen rossz. Diagnosztikus problémát okozhat, hogy a sejtek olykor annyira elvesztik az adott sejttípusra jellemző tulajdonságaikat, hogy fénymikroszkóposan teljesen differenciálatlannak tűnnek. Az sem ritka, hogy a kiéretlen sejtalakok megtévesztően emlékeztetnek egy másik sejtvonal elemeire. Ilyen esetekben jelentős segítséget nyújtanak a célzott cytokémiai és ultrastrukturalis vizsgálatok.

Az acut blastsejtes leukaemiák elkülönítő diagnózisa napjainkban már nem csupán theoretikus értékű, mivel ezen kórképek prognózisa, kezelési sémája és várható szövődményei meglehetősen eltérően alakulnak (Brincner és Jensen 1972; Henderson 1968).

Acut myeloid leukaemia

Az acut myeloid leukaemia az egyik legrosszabb prognozisú kórkép. Diagnosztikus problémát főleg akkor okoz, ha a csontvelőt igen éretlen sejtek árasztják el, így fénymikroszkópos vizsgálattal myeloid eredetük nem szembetűnő.

A leukaemiás myeloblast finomszerkezete rokon vonásokat mutat a normál myeloblastéval (8. ábra) (Bessis és Breton-Gorius 1969; Anderson 1966; Bessis 1973). A sejtmag laza chromatin szerkezetű, jellegzetesen éretlen. Általában több nucleolus figyelhető meg, ezek hypertrophiásak, reticularis szerkezetűek (Smetana és mtsai 1969). Gyakoriak a mag finomabb alakváltozásai (magfüggelékek, fissurák, „nuclear bleb"-ek) (1., 12. ábra) (Ahearn és mtsai 1974; Anderson 1966; Bessis és Breton-Gorius 1969). A többi blastsejttel összevetve jellegzetes, hogy cytoplasmájában viszonylag kevés a mitochondrium, dominálnak a durvafelszínű endoplasmás reticulum cysternák (8. ábra). Az éretlen sejtekben már igen korán megfigyelhető az azur granulumok képzése (9. ábra). Megkönnyíti a vizsgáló helyzetét az Auer-testecskék megjelenése (10. ábra), melyek olyan méretűek lehetnek, hogy fénymikroszkópos vizsgálattal is észlelhetők. Ezek megjelenése kizárólag a malignus myeloid elemekre jellemző.

Mindezen felül, a leukaemiás myeloid elemek legszembetűnőbb jellemzője az organellumok fejlődésének zavara, intracellularis asynchronia, illetve anarchia lép fel. Nem ritka, hogy a laza chromatin szerkezetű, éretlen mag mellett már intenzív granulumképzés folyik a cytoplasmában (10., 11. ábra), vagy a granulumképzés marad el a sejtmag érettségéhez viszonyítva (13. ábra) (Bessis és Breton-Gorius 1969).

Az intracellularis érési asynchroniának nemcsak morfológiai megnyilvánulásai vannak. A normál myeloblast nem phagocytál, ez a képesség csak a metamyelocyta stádiumban jelenik meg. Bizonyos esetekben a leukaemiás myeloblast képes bacteriumokat, illetve sejteket phagocytálni és megemészteni azokat granulumainak tartalmával (9. ábra). Ilyen esetekben a cytológiai vizsgálat során a sejt megtévesztően monoblastra emlékeztet (Bessis 1973; Bessis és Breton-Gorius 1969).

Vizsgálataink során egy esetben sikerült korai granulumképzés jeleit megfigyelni a fénymikroszkóposan differenciálatlannak tűnő blast-sejtekben.

Acut myeloid leukaemiás eseteinknél a csontvelő elektronmikroszkópos képe és a betegek klinikai állapota között szoros kapcsolatot figyeltünk meg. Két rendkívül fulminans klinikai lefolyású esetünkben a myelopoesis elemeinek intracellularis fejlődési asynchroniája igen szembetűnő volt (9., 10., 11., 13. ábra). Ezen két esetben a sejtmagok alaki rendellenességei (fissurák, magfüggelékek, „nuclear bleb"-ek) is feltűnően gyakoriak voltak (1. ábra).

Az acut myeloid leukaemia egy szokatlanul hosszú remissióval járó esetében a sejtek intracellularis fejlődési anarchiája megszűnt, és az érett sejtmag mellett normál granulum populatiókat figyeltünk meg (12. ábra).

Acut promyelocyta leukaemia

A myeloid sor klinikai és cytológiai szempontból egyaránt kiemelendő malignus folyamata az acut promyelocyta leukaemia. Sajátos vonása, hogy gyakran halálos kimenetelű haemorrhagiás szövődményei vannak, ezért a pontos diagnózis ismeretében a klinikus jobban felkészülhet a fatális szövődmények megelőzésére, illetve kivédésére (Quigley 1967).

Ultrastructuralis szinten a sejtek éretlen promyelocytákra emlékeztetnek (Ogawa 1968). A sejtmag chromatin állománya denzebb, mint a myeloblast esetében, és a magmembrán mentén megfigyelhető a heterochromatin kondenzálódása. A cytoplasma bőséges, és igen gazdag endoplasmás reticulum cysternákban és azurophil granulumokban. Ezen granulumok ultrastruktúrája és enzimaktivitása igen nagy érdeklődést keltett fel az utóbbi években, mivel feltételezik, hogy a burjánzó sejtek granulumai thromboplasticus anyagokat tartalmaznak, és szerepet játszanak a diffúz intravascularis coagulatio kialakulásában (Quigley 1967; Matsuoka és mtsai 1969). Breton-Gorius és Houssay (1973), valamint Tan és mtsai (1972) vizsgálták a granulumok finomszerkezetét. Kitűnt, hogy ezek elektronmikroszkópos pathológiája (alak, mennyiség és pleiomorphia) párhuzamosan változik a betegség klinikai progressiójával. A granulumok bizarr alakja, heterogenitása általában a súlyos szövődmények kapcsán figyelhető meg, a klinikai remissióhoz pedig mindig kisebb, uniformisabb méretű és formájú granulumok társulnak (Tan és mtsai 1972). A granulumok pathológiája tehát igen fontos információt nyújt a therápia hatásosságára és a prognózisra vonatkozóan.

Acut monoblastos leukaemia

Az utóbbi években az acut non-lymphoid leukaemiák elektronmikroszkópos vizsgálata és a monoblastok morfológiai identifikálása hangsúlyozott szerepet kapott. Kitűnt, hogy a finomszerkezeti vizsgálatok segítségével nagyobb biztonsággal lehet azonosítani az éretlen monocyta praecursorokat (Anderson 1966; Freeman és Journey 1971; Glick és Horn 1974; McKenna és mtsai 1975). Bár a kórkép prognózisa meglehetősen rossz, a monocyta eredet identifikálása után olykor átmeneti javulás érhető el célzott VP 16-213 kezeléssel (McKenna és mtsai 1975). Figyelemre méltó továbbá, hogy a monoblastos leukaemiára jellemző a diffúz intravascularis coagulatio fellépése közvetlenül a therápia megkezdése után. A kórkép pontos ismeretében a therápia halálos kimenetelű acut szövődményei megelőzhetők (McKenna és mtsai 1975).

Elektronmikroszkópos vizsgálattal a monocyta praecursorok könnyebben elkülöníthetők az atípusos myeloid elemektől (Freeman és Journey 1971; Glick és Horn 1974). A monocyta praecursorokra jellemző a nagy, indentált nucleus.

A nucleolusok hypertrophiásak, kifejezett nucleolonemájuk van, ellentétben a myeloid sejtekkel. A cytoplasmában az endoplasmás reticulum segmentumok rövidebbek, szabálytalanabb lefutásúak. Igen jellegzetes, hogy perinuclearisan vaskos microfibrillum kötegek találhatók. A granulumok igen denzek, kisméretűek. Auer-pálcára emlékeztető képződmények nem fordulnak elő. A cytoplasma a sejtfelszíni aktivitás számos jelét mutatja (pseudopodiumok, pinocytotikus vesiculák).

Egy fénymikroszkóposan meglehetősen atípusosnak tűnő esetben a fenti jellegzetességek felismerése után sikerült megállapítanunk a monocyta eredetet (15. ábra).

Acut lymphoid leukaemia

Az acut lymphoid leukaemia identifikálása jelentős, mivel therápiás érzékenysége, prognózisa és az átlagos túlélés sokkal kedvezőbb, mint a myeloid leukaemiás esetekben (Brincner és Jensen 1972). A pontos diagnózis birtokában esetenként elkerülhető a masszív, kombinált cytostatikus kezelés, ami a myeloblastos leukaemiáknál gyakran szükséges.

A leukaemiás lymphoblast finomszerkezete a normál lymphoblastéra emlékeztet (Bessis és Thiery 1962; Schumacher és mtsai 1973). A sejtmag relative nagy, laza chromatin szerkezetű. Gyakran hosszú, keskeny fissurák szabdalják fel a sejtmagot. A nucleolus reticularis jellegű, bőséges kondenzált chromatin veszi körül (Smetana 1970). A cytoplasmában számos mitochondrium, polyribosomák és glykogen részecskék figyelhetők meg. Az endoplasmás reticulum igen gyengén fejlett, ellentétben a myeloid elemekkel (Bessis 1973). A cytoplasmát uraló mitochondriumokban gyakran lokális crista károsodások és egyéb degeneratív jelenségek figyelhetők meg (14. ábra) (Schumacher és mtsai 1975). Az azur granulumok pathológiája nem jellegzetes, Auer-pálcákat soha nem képeznek.

Acut erythraemiás myelosis (DiGuglielmo-syndroma)

Az acut erythraemiás myelosis a pathogenesis és a prognózis tekintetében rokon vonásokat mutat az acut myelosisokkal (DiGuglielmo 1946). Nem ritka, hogy a kórkép erythroleukaemiává, majd terminalisan acut myeloid leukaemiává transzformálódik. Ennek ellenére indokolt különálló entitásként kezelni, mivel a vele kapcsolatos differenciál-diagnosztikai problémák más természetűek, mint a többi acut myelosis esetében. A burjánzó erythroid elemek a folsav, illetve B_{12} vitamin-hiány kapcsán megfigyelhető megaloblastokra emlékeztetnek, ezenkívül pathológiás sideroblastok is előfordulhatnak, így a különböző enaemiák kizárása igen fontos (Søndergaard-Petero-en 1975).

A kóros erythroblastok elektronmikroszkópos vizsgálata során feltűnő a sejtmag és a cytoplasma organellumok érési asynchroniája. A cytoplasmában már megjelenik a mérsékelten elektrondenz haemoglobin, az organellumok visszaszorulnak, miközben a sejtmagban a chromatin kondenzáció késik (2., 17. ábra). Előfordul, hogy az éretlennek tűnő normoblast nucleolusa az inaktiválódás jeleit mutatja (3b., 3c. ábra), vagy a cytoplasma érettsége mellett a funkciójukat vesztett nucleolusok persistálnak. Több szerző jellegzetesnek tartja a mitochondrialis vas felhalmozódását (17. ábra) a fejlődő erythroblastokban (Huhn és Schmalzl 1974; Spremolla és Saba 1973; Tanaka és Goodman 1972). Ezek a súlyosan károsodott sejtek azonban nem kórjelző értékűek, mivel megfigyelhetők refracter sideroblastos anaemiák, thalassaemiák, chlorocid kezelés és acut alkoholizmus kapcsán, sőt az sem ritka, hogy más sejtvonalakat érintő malignus kórfolyamatok kísérőjelenségei (leukaemia, myeloma) (Bessis 1973; Bowman 1961).

Három, klinikailag rendkívül rossz prognózisú esetünkben dominált a megaloblastoid vérképzés (2., 17. ábra). Egy esetben számos pathológiás sideroblastot figyeltünk meg a mitochondriumok súlyos károsodásával (17. ábra). Ennek ellenére, az organellumok fejlődésének súlyos anarchiája egyértelműen alátámasztotta a malignus erythraemia diagnózist (2., 3b., 3c., 17. ábra).

Egy klinikailag elhúzódó esetünkben a vérképzés megőrizte normoblastos jellegét, és az organellumok intracellularis fejlődési anarchiája kevéssé volt szembetűnő.

Therapia-resistens megaloblastos anaemiák vizsgálata során a sejtmagban a heterochromatin kondenzáció késedelmét, és a nucleolusok persistálását figyeltük meg (19. ábra), az organellumok fejlődésének súlyosabb zavara soha nem fordult elő. Mindezek alapján a két kórkép morfológiailag jól elkülöníthető egymástól.

A chronicus leukaemiák elkülönítő diagnózisa

A chronicus leukaemiákra jellemző az érettebb sejtek megjelenése. Ebből adódik, hogy differenciál diagnosztikailag kevesebb problémát jelentenek, de előfordul, hogy ártalmatlanabb folyamatoktól, így például infectio, toxicosis következtében fellépő leukaemoid reactiótól, vagy post-haemorrhagiás reaktív sejtburjánzástól kell ezeket elkülöníteni. Agranulocytosis remissiója során szintén gyakori a leukaemoid vérkép.

Chronicus myeloid leukaemia

A kórképre jellemző, hogy a perifériás vérben a granulocyta fejlődési sor valamennyi tagja megtalálható.

Elektronmikroszkópos vizsgálattal az éretlen sejtekben mindig található pathológiás elváltozás, az érett neutrophil granulocyták viszont megtévesztően emlékeztetnek egészséges megfelelőikre (Anderson 1966). Az elektronmikroszkópos vizsgálatok enzimcytokémiai módszerekkel kombinálva felfedik, hogy a különböző granulum populatiók enzimaktivitása rendellenes (Ullyot és Bainton 1974). A sejtek érési zavara következtében basophil és eosinophil granulumok szimultán fordulhatnak elő egy-egy sejtben (Poch és mtsai 1973). Ezek a finomabb elváltozások és cytokémiai eltérések jó támpontot nyújthatnak olyan atípusos esetekben, amikor például a Philadelphia kromoszómavizsgálat eredménye negatív (Ezdinli 1970).

Ha a gyógyszeres kezelés tartós remissiót eredményez, a malignitásra utaló finomszerkezeti elváltozások visszaszorulnak. Megfigyelték, hogy az acut blastos krízist megelőzően a finomszerkezeti és cytokémiai eltérések jóval megelőzik a klinikai tüneteket (Palakavongs és mtsai 1977).

Chronicus lymphoid leukaemia

A chronicus lymphoid leukaemia prognózisa általában jó, a betegeknél gyakori a tartós remissio. A diagnosis felállítása ritkán okoz problémát.

Elektronmikroszkópos vizsgálattal a burjánzó sejtek meglehetősen hasonlítanak a normál lymphocytákra (21. ábra). A sejtmagok heterochromatinban gazdagok. A cytoplasmában a mitochondriumok száma és mérete meghaladja a normál sejtekét. Gyakoriak a centriolum malformációk (Bessis 1973). A cytoplasmában ezenkívül jellegzetes, négyszögletes zárványtestek jelenhetnek meg, melyekben nagy nagyítással periodikus struktúra látható (Bessis és Thiery 1962).

A scanning elektronmikroszkópos vizsgálatok lehetővé tették a normál és kóros lymphoid elemek felszíni sajátosságainak vizsgálatát (Polliack és mtsai 1973) (20, 22. ábra). A sejtfelszín finomszerkezetének vizsgálata lehetőséget nyújt a normál és kóros sejtek megkülönböztetésére (Polliack és mtsai 1975)

Szőrös sejtes leukaemia

Az utóbbi években igen nagy érdeklődést váltott ki egy ritka, sajátos leukaemia, melyre jellemző az ún. „hairy" vagy szőrös sejtek burjánzása. A betegség kezdete lappangó, lefolyása krónikus (Schnitzer és Kass 1974). Ezeket a sejteket évekig reticulum sejteknek tartották, de felmerült a monocyta eredet is. A későbbiekben kiderült, hogy immunglobulinokat szintetizálnak és hordoznak felszínükön, így szóba jött a B lymphocyta eredet is (Katayama és Finkel 1974; Catovsky és mtsai 1975).

Elektronmikroszkópos vizsgálattal szembetűnő a cytoplasma számos karcsú nyúlványa, melyek organellumokat nem tartalmaznak (22., 23. ábra).

A sejtmag laza chromatin szerkezetű, gyakran indentált. A cytoplasma durvafelszínű endoplasmás reticulum cysternákban gazdag. Sajátos cytoplasma zárványok gyakran figyelhetők meg, melyek koncentrikus membrán struktúrákból, és ribosoma sorokból épülnek fel (Schnitzer és Kass 1974).

Öt esetünk közül háromnál pontos diagnózist lehetett felállítani a fénymikroszkópos cytokémiai reakciók elvégzése után. További két esetünkben csak elektronmikroszkópos vizsgálattal lehetett azonosítani a kórképet. Ez igen nagy jelentőségű, ha figyelembe vesszük, hogy a szőrös sejtes leukaemia kezelése és prognózisa sok tekintetben eltérő összevetve más malignus lymphomákkal és leukaemiákkal (Katayama és Schneider 1977).

Megbeszélés

Napjainkban a haematológiai kórképek többségének oki therápiája megoldatlan. Ennek ellenére klinikai szempontból is lényeges az egyes sejttípusok pontos azonosítása és korszerű osztályozása. A sejtek pontos identifikálása lehetővé teszi a kórfolyamat korai felismerését, várható progressiójának felmérését és a legmegfelelőbb therápia megválasztását. Epidemiológiailag sem közömbös, hogy milyen a kórképek kor, nem, vércsoport szerinti megoszlása, továbbá célszerű olyan összefüggéseket felfedni (predisponáló tényezők, praeleukaemiás állapotok, egyes kórformák együttes előfordulása), melyek irányíthatják az orvos prophylacticus tevékenységét is.

A pathológusok korábban arra törekedtek, hogy részletes morfológiai leírást nyújtsanak a kóros haemopoeticus elemek finomszerkezetéről (Anderson 1966; Bessis és Breton-Gorius 1962b; Freeman 1966; McDuffie 1967; Ross és Harnden 1969). A továbbiakban a finomszerkezeti vizsgálat túllépte a leíró morfológia kereteit, és bekapcsolódott a betegellátó munkába is, mivel hasznos információkat nyújtott olyan esetekben, amikor a fénymikroszkópos cytológiai vizsgálatok nem jártak kielégítő eredménnyel (Bessis és Maigné 1970; Breton-Gorius 1974; Freeman és Journey 1971; Glick és Horn 1974; Huhn és Schmalzl 1974; McKenna és mtsai 1975).

Saját vizsgálataink és az irodalmi adatok áttekintése alapján megállapíthatjuk, hogy elektronmikroszkópos vizsgálattal nagyobb biztonsággal különíthetők el azok a kórképek, amelyek a klinikai gyakorlatban olykor jelentős problémákat okoznak.

Azt tapasztaltuk, hogy acut lefolyású kórképek esetén a kevéssé differenciált haemopoeticus elemek a finomszerkezeti sajátosságok alapján könnyebben azonosíthatók. A korai granulumképzés felismerése egy esetünkben leukaemiás myeloblastra utalt, más esetben a cytoplasma fibrillum-kötegei és az endoplasmás reticulum cysternák szabálytalansága a praecursorok monocyta eredetét fedte fel.

Megfigyeltük, hogy az erythropoesis zavarai jól elkülöníthetők az organellumok intracellularis érési anarchiája alapján. Klinikailag fulmináns lefolyású erythraemiás eseteinkben a sejtmag, a nucleolus és a cytoplasma érése teljesen dissociált. Megaloblastos anaemiáknál viszont kizárólag a chromatin kondenzáció késedelmét figyeltük meg a sejtmagokban, más jellegű érési zavarok nem fordultak elő.

Több adat van arra vonatkozóan, hogy acut lefolyású kórképek kapcsán határozott kapcsolatot lehet megfigyelni a beteg klinikai állapota és az ultrastrukturalis pathologiai leletek között (Ahearn 1974; Graham és Bernier 1975; Zucker-Franklin 1975). Graham és Bernier szerint (1975) a myeloma sejtek érési asynchroniája, Ahearn (1974) vizsgálatai szerint a leukaemiás myeloblastok sejtmag alteratiói mutatnak összefüggést a beteg klinikai állapotával.

Vizsgálataink során az acut myeloid leukaemiás és az acut erythraemiás esetekben figyeltük meg, hogy a klinikailag rendkívül gyors progressiót mutató esetekben a malignus folyamatokra jellemző finomszerkezeti elváltozások (intracellularis érési anarchia, sejtmag és organellum pathológia) sokkal szembetűnőbbek voltak, mint a klinikailag elhúzódó esetekben.

A krónikus kórképek diagnosztikai problémákat ritkábban okoznak. Különleges figyelmet érdemel ezek közül a szőrös sejtes leukaemia, amely klinikailag és morfológiailag önálló entitás és kórismézése olykor nehézségeket okoz. Öt esetünkből kettőnél nem adtak kielégítő eredményt a fénymikroszkópos cytokémiai vizsgálatok, az ultrastrukturalis jellegzetességek alapján viszont a kórkép könnyen felismerhető volt.

Krónikus lefolyású betegségeknél nemcsak a diagnózis okozhat problémát, hanem a kórkép progressiójának és a therápia hatásosságának megítélése is.

A klinikai remissio periódusában a sejtek finomszerkezete is normalizálódik, eltekintve attól, hogy a cytostaticus kezelés a sejtmag finomabb alakváltozásait okozhatja. Bizonyos tapasztalatok arra utalnak, hogy a remissio folyamán a finomszerkezeti elváltozások megelőzhetik a klinikai tünetek fellángolását (Palakavongs és mtsai 1977; Tan és mtsai 1972). Ez a kérdés még nem teljesen tisztázott, de nagy segítséget nyújtana, ha a krónikus folyamatok acut kríziseit nem a fatalis kimenetelű szövődmények jelentkezésekor észlelnénk. Mindezek alapján felmerül az a lehetőség, hogy a kezelési séma és a gyógyszerdózisok megválasztásánál érdemes lenne figyelembe venni a burjánzó sejtek elektronmikroszkópos leleteit is.

Összefoglalás

A szerzők 50 haematológiai betegségben szenvedő egyén csontvelő- és vérmintáin végeztek elektronmikroszkópos vizsgálatokat. A mintavétel friss, kezeletlen esetekben, valamint a kezelést követő remissio, illetve relapsus periódusában történt.

A szerzők az irodalmi adatok áttekintése és saját tapasztalataik alapján megállapították, hogy acut lefolyású haematológiai kórképek esetén a finomszerkezeti vizsgálat jó támpontot nyújt mind a malignitás eldöntéséhez, mind az egyes sejtvonalak identifikálásához.

A haemopoeticus elemek ultrastrukturális pathológiája és a beteg klinikai állapota között szoros összefüggés mutatkozik. A hatékony kezelés eredményeként a betegek klinikai állapota és az ultrastrukturalis pathológiai leletek egyaránt jelentős javulást mutatnak.

További vizsgálatokra van szükség annak eldöntéséhez, hogy a chronicus betegek gondozása során az elektronmikroszkópos vizsgálat milyen segítséget nyújthat.

IRODALOM

Ahearn, M. J., Trujillo, J. M., Cork, A. és *Hart, J. S.:* Cancer Res. **34,** 2887 (1974).
Ackerman, G. A.: Lab. Invest. **19,** 290 (1968).
Anderson, D. R.: J. Ultrastruct. Res. Suppl. **9,** 5 (1966).
Bainton, D. F., Ullyot, J. L. és *Farquhar, M. G.:* J. Exp. Med. **134,** 907 (1971).
Bessis, M.: Living Blood Cells and Their Ultrastructure. Springer-Verlag, Berlin—Heidelberg—New York (1973).
Bessis, M. és *Breton-Gorius, J.:* Blood, **19,** 635 (1962a).
Bessis, M. és *Breton-Gorius, J.:* Nouv. Rev. Fr. Hemat. **2,** 629 (1962b).
Bessis, M. és *Breton-Gorius, J.:* Nouv. Rev. Fr. Hemat. **9,** 245 (1969).
Bessis, M. és *Jensen, W. N.:* Brit. J. Hémat. **11,** 49 (1965).
Bessis, M. és *Maigné, J.:* Rev. Europ. Et. Clin. Biol. **15,** 691 (1970).
Bessis, M. és *Thiery, J. P.:* Nouv. Rev. Fr. Hemat. **2,** 387 (1962).
Blom, J., Mansa, B. és *Wiik, A.:* Acta Path. Microbiol. Scand. Sect. A. **84,** 335 (1976).
Bouteille, M., Kalifat, S. R. és *Delarue, J.:* J. Ultrastruct. Res. **19,** 474 (1967).
Bowman, W. D.: Blood, **18,** 662 (1961).
Breton-Gorius, J., Houssay, D.: Lab. Invest. **28,** 135 (1973).
Breton-Gorius, J.: Bull. Cancer (Paris), **61,** 367 (1974).
Brincner, H. és *Jensen, K. B.:* Dan. Med. Bull. **19,** 215 (1972).
Burns, R. E., Soloff, B. L., Hanna, C. és *Buxton, D. T.:* Cancer Res. **31,** 159 (1971).
Catovsky, D., Frisch, B. és *VanNoarden, S.:* Lancet, 1/7904, 462 (1975).
Cawley, J. C. és *Hayhoe, F. G. J.:* Ultrastructure of haemic cells: A cytological atlas of normal and leukaemic blood and bone marrow. W. B. Saunders Company Ltd. London—Philadelphia—Toronto (1973).
Clausen, K. P. és *Von Haam, E.:* Acta Cytol. **13,** 435 (1969).
Dickler, H. B., Siegal, F. P., Bentwich, Z. H. és *Kunkel, H. G.:* Clin. Exp. Immunol. **14,** 97 (1973).
DiGuglielmo, G.: Rev. Hémat. **1,** 355 (1946).
Dupuy-Coin, A. M., és *Bouteille, M.:* J. Ultrastruct. Res. **40,** 55 (1972).
Ezdinli, E. Z., Sokal, J. E., Crosswhite, L., és *Sandberg, A. A.:* Ann. Intern. Med. **72,** 175 (1970).
Freeman, J. A. és *Samuels, M. S.:* Blood, **13,** 725 (1958).
Freeman, J. A.: Blood, **15,** 449 (1960).
Freeman, J. A.: Blood, **27,** 499 (1966).
Freeman, A. I. és *Journey, L. J.:* Brit. J. Haematol. **20,** 225 (1971).
Ghadially, F. N.: Ultrastructural pathology of the cell. Butterworths, London and Boston (1975).
Glick, A. D. és *Horn, R. G.:* Brit. J. Haematol. **26,** 395 (1974).
Goldberg, A. F.: Blood, **24,** 305 (1964).
Graham, R. C. és *Bernier, G. M.:* Medicine, **54,** 225 (1975).
Grimley, P. M., és *Schaff, Zs.:* Pathobiol. Annual. Ed.: H. L. Ioachim, 122, New York (1976).
Henderson, E. S.: Ann. Int. Med. **69,** 628 (1968).
Hirsch, J. G. és *Cohn, Z. A.:* J. Exp. Med. **112,** 1005 (1960).
Huhn, D. és *Schmalzl, F.:* Haematol. Bluttransfus. **14,** 36 (1974).

Ito, K., Ito, N., Sato, S. és *Katsunuma, H.:* Acta Haemat. Jap. **27,** 436 (1964).
Katayama, I. és *Finkel, H. E.:* Amer. J. Med. **57,** 115 (1974).
Katayama, I. és *Schneider, G. B.:* Am. J. Pathol. **86,** 163 (1977).
Kondo, K., Yoshitake, J. és *Takemura, K.:* J. Electron Micr. **15,** 237 (1966).
Leduc, E. H., Avrameas, S. és *Bouteille, M.:* J. Exp. Med. **127,** 109 (1968).
Maldonado, J. E.: Blood Cells, **1,** 129 (1975).
Maldonado, J. E. és *Pierre, R. V.:* Mayo Clin. Proc. **50,** 573 (1975).
Maldonado, J. E., Maigne, J. és *Lecoq, D.:* Blood Cells, **2,** 167 (1976).
Matsuoka, M., Hattori, A., Mizushina, T. és *Jinbo, C.:* Acta Med. Biol. **17,** 49 (1969).
McDuffie, N. G.: Nature, **214,** 1341 (1967).
McKenna, R. W., Bloomfield, C. D., Dick, F., Nesbit, M. E. és *Brunning, R. D.:* Blood, **46,** 481 (1975).
Ogawa, T.: J. Electron Micr. **17,** 260 (1968).
Palakavongs, P., Teichberg, S., Vinciguerra, V., Degnan, T. J. és *Sinlaratana, P.:* Blood, **49,** 535 (1977).
Perper, R. J., Zee, T. W. és *Mickelson, M. M.:* J. Lab. Clin. Med. **72,** 842 (1968).
dePetris, S., Karlsbad, G.: J. Cell Biol. **26,** 759 (1965).
Poch, T., Hermansky, F. és *Lodrova, V.:* Neoplasma **20,** 413 (1973).
Polliack, A., Lampen, N., Clarkson, B. D. és *DeHarven, E.:* J. Exp. Med. **138,** 607 (1973).
Polliack, A. és *DeHarven, E.:* Clin. Immunol. Immunopathol. **3,** 412 (1975).
Quigley, H.: Fed. Proc. **26,** 648 (1967).
Reynolds, E. S.: J. Cell Biol. **17,** 208 (1963).
Ross, A. és *Harnden, D.:* Europ. J. Cancer, **5,** 349 (1969).
Ruzicka, F.: Elektronenmikroskopische Hämatologie. Springer-Verlag, Berlin—Heidelberg—New York (1976).
Schaff, Zs., Lapis, K. és *Grimley, P. M.:* Morph. Ig. Orv. Szle. **15,** 166 (1975).
Schaff, Zs., Lapis, K., Keresztúry, S. és *Kolláth, Z.:* Morph. Ig. Orv. Szle. **17,** 33 (1977).
Schnitzer, B., Aikawa, M. és *Spencer, H. H.:* Amer. J. Clin. Path. **58,** 1 (1972).
Schnitzer, B. és *Kass, L.:* Amer. J. Clin. Path. **61,** 117 (1974).
Schumacher, H. R., Székely, I. E., Park, S. A. és *Fischer, D. R.:* Blut, **27,** 396 (1973).
Schumacher, H. R., Székely, I. E. és *Fischer, B. S.:* Am. J. Pathol. **78,** 49 (1975).
Smetana, K., Györkey, P. és *Busch, H.:* Exp. Cell Res. **58,** 303 (1969).
Smetana, K.: Cancer Res. **30,** 1149 (1970).
Søndergaard-Petersen, H.: Acta Med. Scand. **198,** 165 (1975).
Spremolla, G. és *Saba, P.:* Scand. J. Haemat. **10,** 69 (1973).
Tan, H. K., Wages, B. és *Gralnick, H. R.:* Blood, **39,** 628 (1972).
Tanaka, Y. és *Brecher, G.:* Blood, **38,** 431 (1971).
Tanaka, Y. és *Goodman, J. R.:* Electron microscopy of human blood cells. Harper and Row, New York, Evanston, San Francisco, London (1972).
Ullyot, J. L. és *Bainton, D. F.:* Blood, **44,** 469 (1974).
Watanabe, I., Donohue, S. és *Hogatt, N.:* J. Ultrastruct. Res. **20,** 366 (1967).
White, J. G. és *Gerrard, J. M.:* Am. J. Pathol. **83,** 590 (1976).
Williams, W. J., Beutler, E., Erslev, A. J. és *Bundles, R. W.:* Haematology. McGraw-Hill, Blakiston publication (1972).
Zucker-Franklin, D. és *Hirsch, J. G.:* J. Exp. Med. **120,** 569 (1964).
Zucker-Franklin, D.: Arch. Intern. Med. **135,** 55 (1975).

Semmelweis Orvostudományi Egyetem I. sz. Kémiai-Biokémiai Intézet, Budapest

AZ IMMUNRENDSZER BIOKÉMIÁJA

ANTONI FERENC, az MTA levelező tagja

Közlésre érkezett: 1977. XI. 17.

Az élő szervezet homeostázis állapotának egyik előfeltétele az immunogénekre adott válaszreakció, amelyben humorális és celluláris tényezők szerepelnek. Az immunválaszt az egész szervezetet behálózó immunrendszer (nyirokszervek, nyirokkeringés) biztosítja.

A humán populáción belül az immunválasz-reakcióra az egyediség végtelen variabilitása a jellemző. Ennek megfelelően, igen csekély annak a valószínűsége, hogy két egyén immunológiailag teljesen azonos. Sőt egyetlen ma élő individum sem azonos egyetlen más, a történelemben korábban élt egyénnel (Burnet 1969).

Az immunrendszer humorális faktorai a specifikus ellenanyagok, az immunglobulinok (IgG, IgA, IgM, IgD, IgE) és nem specifikus anyagok, a komplement, a lizozim, illetve más komponensek.

A celluláris komponensek a B- és T-lymphocyták, továbbá a makrofágok. Az említett háromféle sejt — jelenlegi ismereteink szerint — kooperatív együttműködése szükséges feltétele az immunválasz-reakciónak.

A B-lymphocyták szerepe az ellenanyag szintézisben van. Az ellenanyag szintézisre már elkötelezett lymphocyták specifikus ellenanyagot termelnek. Más szóval egy lymphocyta *egyetlen immunogénnel* szemben termel csak ellenanyagot.

A B-lymphocyta potenciálisan ellenanyag termelő sejt. A felületén elhelyezkedő nagyszámú receptor és az immunogén közötti kapcsolat szükséges ahhoz, hogy a B-lymphocyták ellenanyag termelő kapacitása fokozódjon. Ezt a folyamatot minden esetben a sejt osztódása előzi meg. Az „immun-memória" egy adott immunogénre sejtről sejtre osztódással közvetítődik. A sejtek az ellenanyagot a vérplazmába, ill. lokálisan szekretálják az immunogén lokalizációjának megfelelően, pl. nyálkahártyák felszíne.

A T-lymphocyták (thymus eredetű) funkciója és szerepe sokkal gazdagabb, mint a B-lymphocytáké (Paul és Benacerraf 1977). A T-sejt felületén a hisztokompatibilis antigéneken kívül az ún. theta-antigén a jellemző. A theta-antigén tulajdonságot a T-sejtek a thymusban szerzik meg. A thymusban termelődött thymosin hormon szabályozó szerepet játszik a T-sejtek képződésében.

A T-sejt szabályozó szerepet lát el a B-sejtek funkciójában. „Helper-funkció" ha a T-sejt az ellenanyag képződését a B-sejtben elősegíti. Szupresszor szerepet tölt be a T-sejt, ha az ellenanyag termelést gátolja. A T-sejt egy további funkciója az idegen sejt elpusztítása („killer" sejt).

A T-sejtek ezenkívül különböző immunaktív anyagokat termelnek és szekretálnak a környezetbe, amelyek az immunrendszer más sejtjeinek viselkedését befolyásolják; ilyen a migrációt gátló faktor (MIF), és egyéb más citotoxikus hatású anyag szintézise. A T-sejtek kevésbé adherens sajátságúak, mint a B-sejtek, erre utal a sejt felszínükön is kimutatható különbözőség. A T-sejtek a felszínükön képesek eritrocytákat kötni, ez az ún. „rosetta képződés", amely a T-sejtek viszonylag könnyű identifikálását teszi lehetővé.

Részletesen nem ismertek a T-sejtek funkciójával kapcsolatos biokémiai folyamatok, továbbá, hogy milyen antigén szerkezetbeli különbség az, amelyet a T-sejt még képes felismerni. Nincs pontos információnk arról sem, hogy a T-sejt milyen mechanizmus alapján befolyásolja a B-sejt ellenanyag termelését.

A lymphocytákkal kapcsolatban meg kell említeni, hogy a keringésben levő lymphocyták mitogének hatására in vitro osztódásra stimulálhatók (phytohaemagglutinin, concanavalin A stb.). Egy további tulajdonságuk, hogy a szervezetből kivett lymphocyták visszaadásakor az ún. „homing" jelenséget mutatják, visszajutnak abba a szervbe, amelyből a sejteket kinyerték.

Az immunválasz reakcióban részt vevő további igen jelentős sejttípus a makrofág. A makrofágok specifikus szerepéről az immunválasz reakcióban még viszonylag keveset tudunk, annak ellenére, hogy az anyagcseréjüket (Köteles és mtsai 1962, Várterész és mtsai 1963), fagocita funkciójukat az elhelyezkedésüktől függően is (alveoláris, peritoneális) többen vizsgálták. Annyit biztosan állítani lehet, hogy a makrofágok nélkül ellenanyag-termelés nem lehetséges. A T- és B-lymphocyták és a makrofágok közötti kooperáció feltétele az azonos hisztokompatibilitás: „azonos felületi antigének". Ez jelenti a megfelelő makromolekuláris kapcsolatrendszert, amely előfeltétele a funkcionális együttműködést szabályozó anyagok termelésének, így pl. az ellenanyag-termelés, vagy azok szintézisének gátlása a B-sejtekben.

Az elmondottak jóllehet sejtek közötti kooperációra vonatkoznak, *a valósághoz mégis közelebb áll az immunválaszt a makromolekuláris rendszerek közötti kapcsolatként értelmezni.* Az immunogén és a sejt receptor közötti kapcsolat létrejötte indítja el a sejt replikációt, a makromolekulák (fehérje, RNS és DNS) szintézisét, az ellenanyag, az immunglobulin molekulák fokozott szintézisét. Az ellenanyag-szintézis szabályozásának további vizsgálata és megismerése szempontjából látszik előnyösebbnek makromolekuláris kapcsolatrendszerként értelmezni az ellenanyag szintézist, illetve a szintézist indukáló folyamatot (Nossal, 1975).

Az ellenanyag háromdimenziós térszerkezeti felépítése meglehetős részletességgel ismert, ami az ellenanyag és az immunogén közötti kapcsolat jobb

megértését is lehetővé teszi. Az ellenanyag-szintézisre vonatkozólag még sok kérdés vár megválaszolásra. Az ellenanyag molekula genetikai kódja erősen vitatott, különösen a polipeptid láncok variábilis részét illetően. Keveset tudunk az ellenanyag-szintézis szabályozásának és az ellenanyag szekréciójának mechanizmusáról. Az utóbbival kapcsolatban az ún. „signál-peptid", vezető peptideknek tulajdonítanak jelentőséget (Schechter 1977).

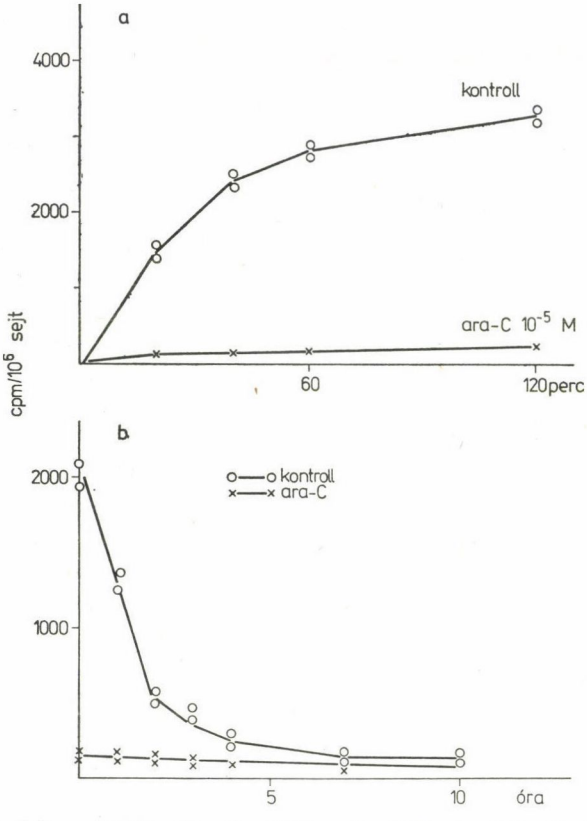
Az ellenanyag katabolizmusa, annak helye még szintén tanulmányozásra váró terület.

Az előzőekben felvetett problémák ismeretében tanulmányoztuk a lymphoid szervek biokémiáját. Kísérleti modelljeink humán lymphocyták, amelyek a tonsilla palatinából (a műtéti eltávolítást követően), illetve colostrumból kinyert lymphoid sejtek (Antoni és mtsai 1977, Antoni és Staub 1978).

A humán tonsillából a sejtek kinyerését részletesen más helyen ismertettük (Piffkó és mtsai 1970). A tonsilláris lymphocyták összetételének főbb jellemzőit, a sejtek DNS—RNS és fehérje tartalmát ugyancsak részletesen ismertettük. Ezek közül utalni kívánunk arra, hogy az RNS—DNS arány a tonsilláris lymphoid sejtekben 1,0 érték alatt van. A DNS tartalom a vizsgált sejtekben nagyobb, mint az RNS, amely általában jellemző a nyiroksejtekre (Antoni in press).

A tonsilláris lymphocyták egyik eltérő tulajdonsága a perifériás lymphocytáktól éppen abban van, hogy stimuláló anyag hozzáadása nélkül képesek in vitro timidin felvételére.

A tonsilla lymphocyta populáció kb. 14—20%-a ^{3}H-timidint tartalmaz az izolált DNS-ben, amelyet a lymphoblastoknak tulajdonítunk. A stimulálás feltehetően már in vivo következett be, ami a tonsilla regionális helyzetével a külső környezetből származó lokális antigén hatására történik. A sejtek timidin felvételét mutatja az 1. ábra. Vizsgálatainkban arabinozil-citozint használtunk, amelyről ismeretes, hogy csak az eukariotákban folyó DNS szintézisét gátolja (Staub és mtsai 1972). Amennyiben a rendszer ilyen körülmények között timidint inkorporálna a DNS-be az a baktériumok jelenlétére utal. Az arabinozil-citozin jelenlétében nem észleltünk timidin inkorporációt. Ennek megfelelően a ^{3}H-timidin inkorporációt a lymphocyták DNS-szintézisének kell tulajdonítani. A lymphocyták ^{3}H-timidin inkorporációja a tenyésztés során rohamosan csökken, 5—10 órán belül megszűnik. Ezzel egyidejűleg a heterogén populáció homogén, csak kis lymphocytákból álló sejtekké alakul. A sejtek átlagos átmérőjének változását mutatja a 2. ábra PHA-val stimulált és kontroll sejtkultúrákban. Az izolálás után 13 μm a sejtek átlagos átmérője, ami 10 óra után 6 μm-re csökken. Ezzel párhuzamosan változik a ^{3}H-timidinnel jelzett sejtek száma is. Ha PHA-val stimuláljuk a kultúrákat az átlagos sejt átmérő ismét nő (Staub és mtsai 1976). A szintézis és a sejt átmérő csökkenését azok DNS polymeráz aktivitásának csökkenése is kíséri (3. ábra). A PHA-hatására a ^{3}H-timidin inkorporáció, a sejt átmérő és a DNS-polymeráz aktivitás is nő.



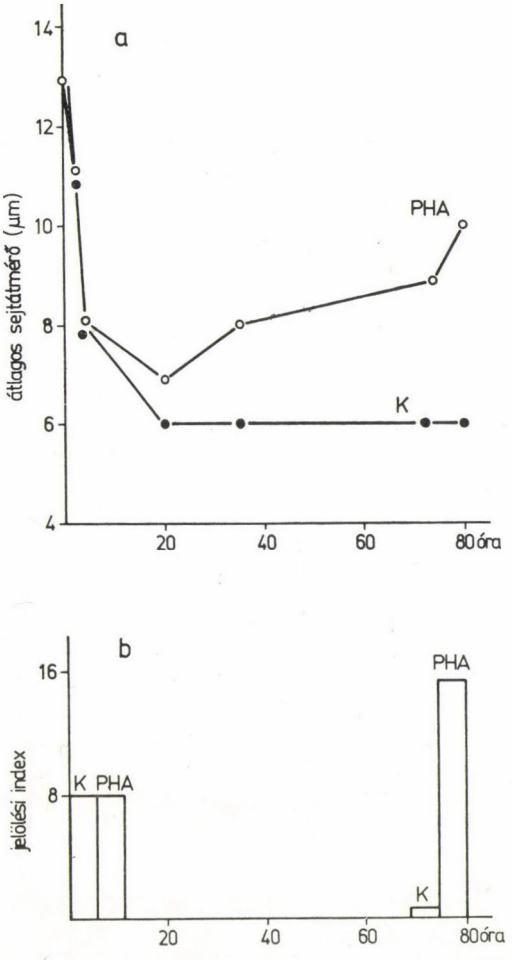
1. ábra. ^{3}H-timidin inkorporáció változása időben és gátlása arabinozil-citozinnal rövid és hosszabb idejű sejtkultúrákban.
(a: folyamatos — b: szakaszos jelzés)

Azt, hogy a heterogén tonsilla lymphocyta populációban milyen sejtekben folyik DNS-szintézis, a különböző sejtek elválasztása után tudtuk eldönteni.

Diskontinuous szérum albumin gradiens alkalmazásával a tonsillából nyert sejteket fajsúlyuk alapján frakcionáltuk. A különböző sejt-frakciókban mértük a timidin inkorporációt, valamint a sejtek DNS-polimeráz aktivitását, ami párhuzamosan kell hogy változzon a DNS-szintézissel. Vizsgálatainkat mutatja a 4. ábra, amelyből látható, hogy a lassan ülepedő sejtekben mind a két érték magasabb, mint a gyorsan ülepedő (kis lymphocyta) frakcióban (Staub és mtsai 1975).

Extra-celluláris DNS

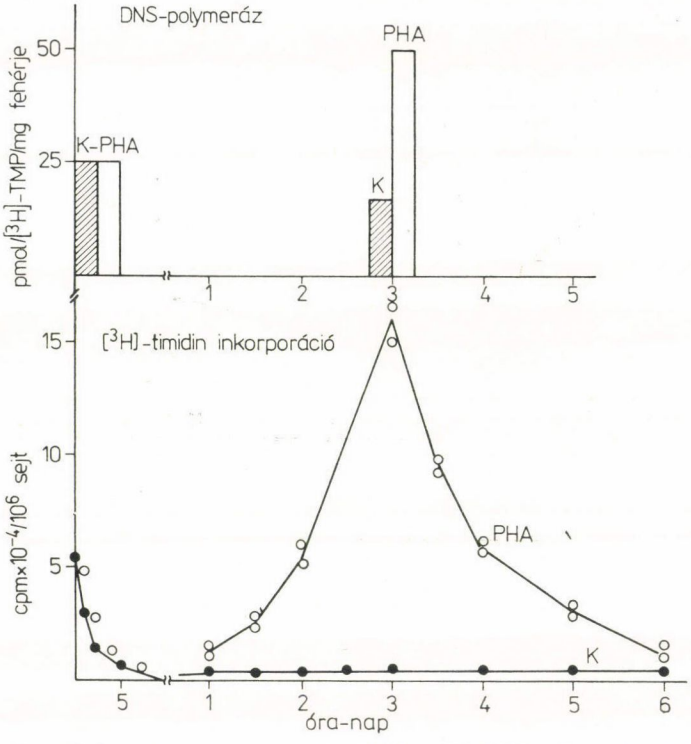
Több szerző vizsgálatainak eredményeiből ismert, hogy phytohaemagglutininnal stimulált lymphocytákból DNS exkretálódik a médiumba, amely — mint savban nem oldódó frakció — kinyerhető. Ezt a jelenséget humán



2. ábra. Átlagos sejtátmérő és jelölési index változása a tenyésztés alatt.

perifériás vér lymphocyták in vitro PHA-val végzett stimulálásakor figyelték meg, a sejtek kiülepítése után a felülúszóban DNS-t találtak (Rogers és mtsai 1972, Rogers 1976). Korábbi vizsgálatainkban azt találtuk, hogy a humán tonsilla lymphocyták citoplazmájából, illetve a sejtmembránból DNS izolálható (Baló-Banga és mtsai 1973).

Abban az esetben, ha a frissen izolált tonsilla lymphocytákat ^{3}H-timidinnel 60 percig jeleztük, majd a sejteket friss tápfolyadékba vittük, a sejtekben csökkent az 5%-os TCA-val kicsapható radioaktivitás. Ezzel arányosan emelkedett a tápfolyadékban a savval kicsapható radioaktivitás (5. ábra). A sejtek felülúszójába jutott ^{3}H-timidinnel jelzett anyag DNS-nek bizonyult, amelyet hidroxylapatit oszlopon tisztítottunk (6. ábra). A savban nem oldódó

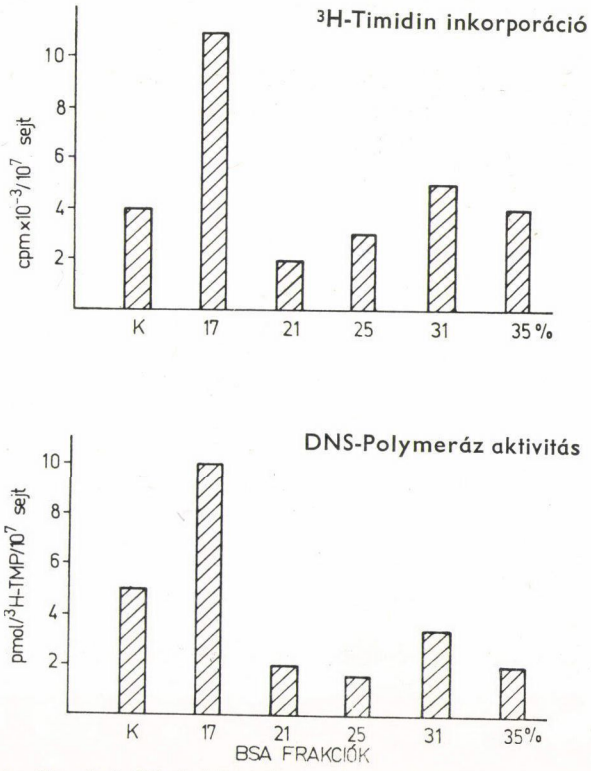


3. ábra. Tonsilla lymphocyták stimulálása PHA-val és DNS-polymeráz aktivitása.

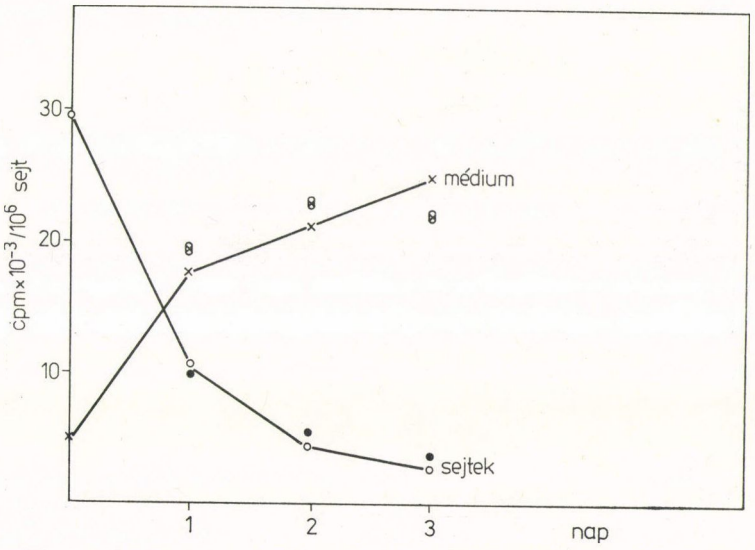
^{3}H-timidin tartalom 70—80%-a kettősszálú DNS-nek bizonyult. A tisztított DNS jellemző fényelnyelési adata: 260/280 = 2,15.

Az a tény, hogy a sejtek által újonnan szintetizált DNS-savban nem oldódó formában izolálható volt a felülúszóból, arra utalt, hogy nem a sejtek széteséséből, sejt pusztulásból származik. Ezt megerősíti az, hogy ^{14}C-valinnal és ^{3}H-uridinnel jelezve a sejteket lényegesen kevesebb jelzett anyag jut a tápfolyadékba (7. ábra), mint a DNS-jelzés esetében. A sejt nagyságának a változásában talált megfigyeléseinkkel jól megegyeznek a DNS-exkrécióval kapcsolatos adataink. A DNS leadása más sejtek esetében is ismert, amelyek differenciálódással specializálódnak. Ilyen például a retikulocitákból a vörösvértestek magvatlan alakjainak a kialakulása emlősök esetében.

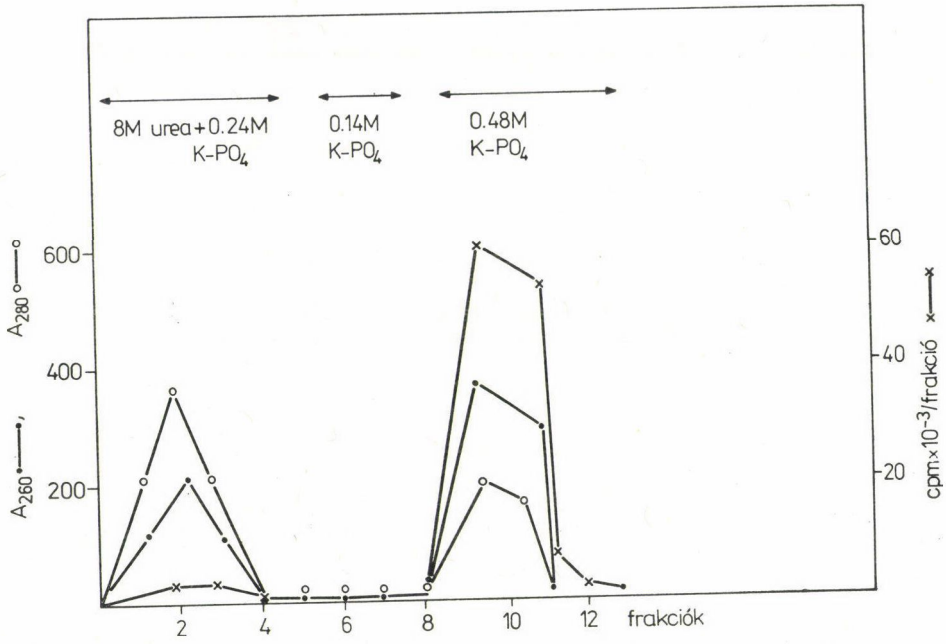
A blast állapotú sejteknek nyugvó sejtekké történő átalakulása feltételezhetően annak a DNS szakasznak a kilökődésével jár, amelynek szabályozó, esetleg iniciáló szerepe lehet a replikációban. Felmerül és tetszetősnek látszik az a magyarázat is, hogy esetleg az ellenanyag-szintézishez szükséges genom transzferálódik más sejtekbe, propagálva ezzel az antitest-szintézist, amely ezen az úton nem direkt, csak az antigén hatására történne. Ez a feltételezés az ellenanyag-szintézisnek azt a hipotézisét támogatná, amely szomatikus mutációként magyarázza az antigén hatására bekövetkező sejtosztódást.



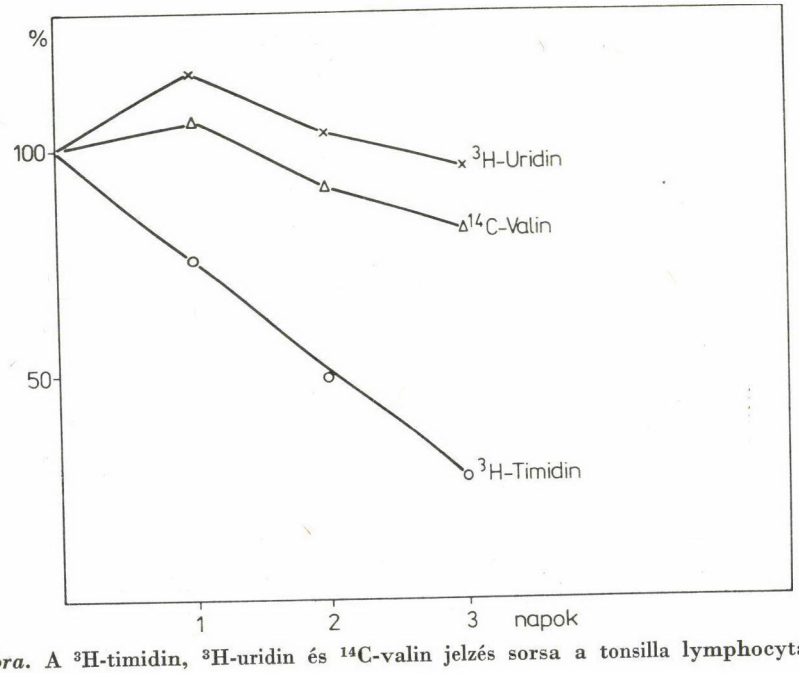
4. ábra. A frakcionált sejtek ^{3}H-timidin inkorporációja, és DNS-polymeráz aktivitása.



5. ábra. ^{3}H-timidinnel jelzett DNS exkréciója a tonsilla lymphocyta-tenyészetben.



6. ábra. A tápfolyadékba jutott DNS kromatográfiája hidroxylapatit oszlopon.



7. ábra. A ^{3}H-timidin, ^{3}H-uridin és ^{14}C-valin jelzés sorsa a tonsilla lymphocytákban.

Tonsilláris T- és B-lymphocyták

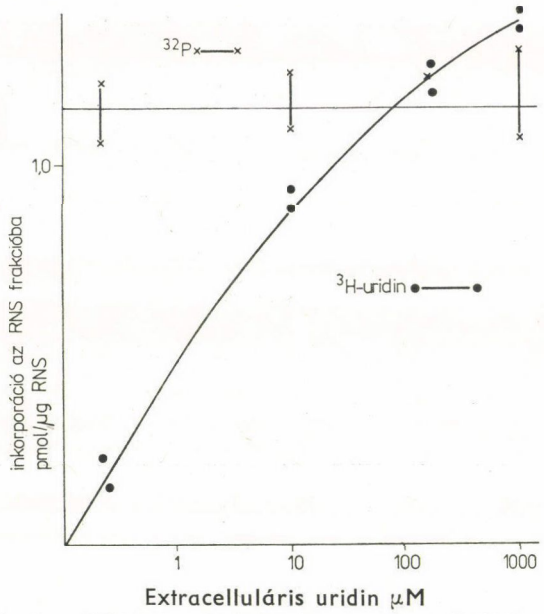
A tonsilla lymphocyta populációban a T- és B-sejtek arányát több szerző tanulmányozta. A lymphocyták többsége a tonsillában — szemben a perifériás vérrel — B-lymphocyta. Táblázatban mutatjuk be a perifériás vér, a tonsilla és az appendixből izolált B és T sejtek százalékos előfordulását, amely adatokat saját vizsgálatainkkal is megerősítettünk.

I. táblázat

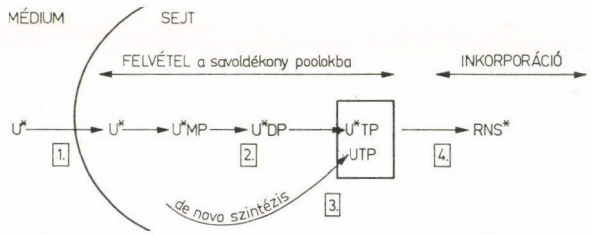
	Perifériás vér	Tonsilla	Appendix
	%		
B lymphocyta*	12,2	56,7	51,5
T lymphocyta**	50,0	23,6	27,9

C. Alexopoulos, A. G. Papayannis and C. Gardikas: Acta haemat. 55. 95—98 (1976).
* B lymphocyták átlagértéke EAC-rozettaképzés alapján
** T lymphocyták átlagértéke spontán-rozetta-képzés alapján.

A lymphocyták stimulálására, a stimuláció követésére általában a timidin felvételt alkalmazzák. A szövet- és szervátültetéssel kapcsolatos gyakorlati igények sürgetően vetették fel, hogy rövid időn belül, de megbízható információk alapján az átültetés lehetőségéről döntést kapjon a felhasználó. A timidin felvétel helyett ezért — amely legalább 72 órás tenyésztési időt igényel — az uridin felvételt, az uridin inkorporációt kísérelték meg erre a célra felhasználni. Ez a vizsgálati rendszer lényegesen rövidebb időn belül ad értékelhető eredményt. Mitogénekkel történt stimulációknál már egy óra után fokozódik az uridin felvétel. Így a kevert rendszerekben (donor + acceptor) is várható volt, hogy a diagnózis felállításához szükséges adatok lényegesen rövidebb időn belül állnak a szövetátültetéshez rendelkezésre. A kevert kultúrákban a donor és az acceptor kölcsönhatása az uridin inkorporáció alapján is megbecsülhető. Ahhoz azonban, hogy ezt az eljárást megbízhatóan alkalmazni lehessen, az uridin-felvétel, az uridin-transzport, illetve az ezeket befolyásoló tényezőket szükségesnek látszott pontosítani. Annál is inkább, mert újabban egyes szerzők az uridin felvételét a T- és B-sejtek elkülönítésére is megfelelőnek tartják (Hollingsworth és Carr, 1973, Scott és Josephs, 1975). Saját vizsgálatainkban az uridin transzportot, mindenekelőtt az uridin-felvétel és az RNS-be történő inkorporáció körülményeit és ezek összefüggését tartottuk indokoltnak vizsgálni. Azt találtuk, hogy a tonsilla lymphocyták ^{3}H-uridin inkorporációját a tápfolyadék uridin-tartalma erősen befolyásolja. Az extracelluláris uridin-koncentráció növelésekor az RNS-be történő beépülés



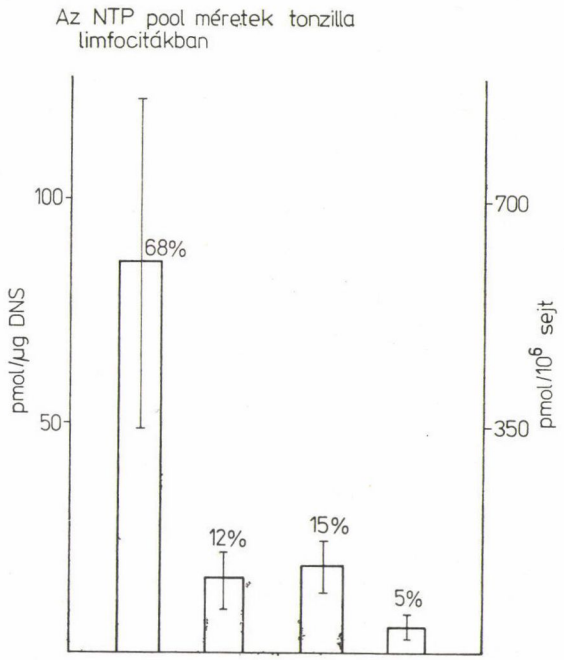
8. ábra. A ^{3}H-uridin és a ^{32}P inkorporáció függése az extracelluláris uridin koncentrációtól.



9. ábra. A lymphocyták által felvett ^{3}H-uridin sorsa.

és a transzport fokozódik (8. ábra, Sasvári és mtsai 1975). Ez a kísérlet azt mutatta, hogy a ^{3}H-uridin inkorporációból nem lehet az RNS-szintézisre következtetni, szükségessé vált az RNS közvetlen prekurzorainak a ribonukleotid trifoszfátok koncentrációjának a meghatározása (9. ábra). Gyors és specifikus módszert dolgoztunk ki a lymphocyták ribonukleotid trifoszfát pooljának mérésére (Sasvári és mtsai 1975). Az RNS-polimeráz teszttel a tonsilla lymphocyták ATP, UTP, GTP és CTP tartalmát lehet meghatározni, amelyet a 10. ábrán tüntettünk fel. Az UTP sejten belüli koncentrációjából és annak a specifikus radioaktivitásából kiszámolható a sejtek DNS szintézisének a sebessége.

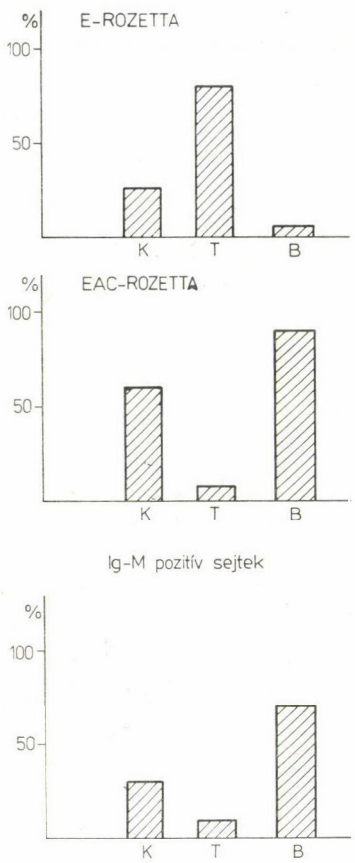
A tonsilla lymphocyták 18,6 pmol UTP-t tartalmaznak μg DNS-re vonatkoztatva. Vizsgálati eredményeink alapján 10^{6} sejt 160 pmol UTP-t és 680 pmol ATP-t tartalmaz. Az utóbbi adat jól megegyezik az ún. Luciferázmódszerrel kapott meghatározások eredményeivel.



	ATP	GTP	UTP	CTP	
pmol/µgDNS	86,7±36	16,2±6	18,6±6,5	5,3±1,8	n=20
variac. koeff.	42%	37%	35%	34%	

10. ábra.

Az irodalomban található adatok alapján (Hollingsworth és Carr, 1973, Scott és Josephs, 1975) a T-lymphocyták több uridint inkorporálnak, mint az ellenanyag-termelésért felelős B-lymphocyták. Korábbi vizsgálataink szerint azonban a sejtek ^{3}H-uridin inkorporációját meglehetősen sok körülmény befolyásolja, amelyeknek az elhanyagolása téves következtetésekre vezethet. A tonsilla lymphocytákat nylon gyapot oszlopon T- és B-frakcióra szeparáltunk. A nem adherens frakció 75%-a T-sejt és 6,5%-a B-sejtet tartalmazott, míg a gyengén kötődő frakció, amelyet a nylon gyapotról mechanikusan le tudtunk rázni 6% T- és 60% B-, illetve egyéb sejtet tartalmazott. A T- és B-sejteket az E és az EAC rosetta, illetve anti-IgM kötés alapján identifikáltuk (11. ábra). Az irodalmi adatokkal ellentétben a tonsilla lymphocyták B-sejtekben gazdag frakciójában háromszor nagyobb volt a ^{3}H-uridin-felvétel és inkorporáció, mint a T-sejt frakcióban (12. ábra). A két frakció ^{3}H-timidin inkorporációját és DNS polimeráz aktivitását is összehasonlítottuk, ahol szintén a B-sejt frakció bizonyult aktívabbnak (12. ábra). Ha azonban a két frakciót PHA-val stimuláljuk, akkor 24 óra múlva a korábban kevésbé aktív T lymphocyták

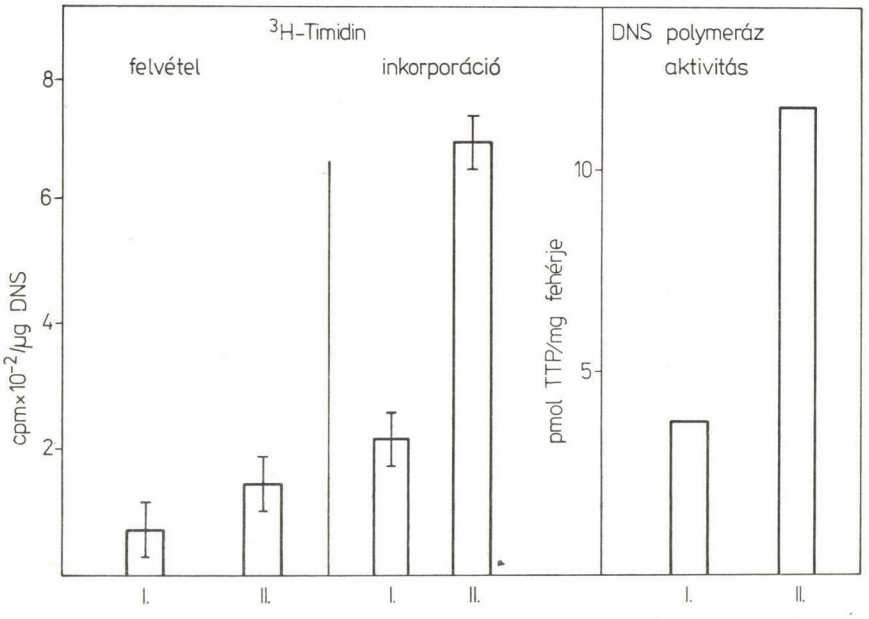


11. ábra. Nylon gyapot oszlopon szeparált tonsilla lymphocyta frakciók. T: nem adherens sejtek, B: adherens sejtek, K: kiindulási sejtek.

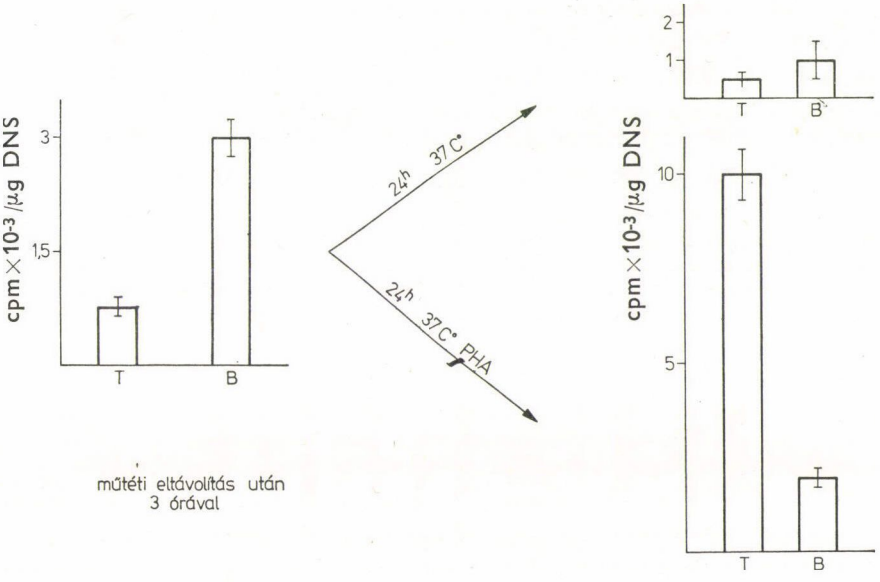
fognak több ^{3}H-uridint felvenni (13. ábra). Kísérleteinkből egyértelműen látszik, hogy a ^{3}H-uridin felvétel és inkorporáció nem alkalmas a T és B lymphocyták megkülönböztetésére. Annak értéke a sejtek aktivált állapotától függ. A tonsillában a B lymphocyták aktiváltak elsősorban, PHA hatására pedig a T lymphocyták aktiválódnak (13. ábra). A sejtekben mért ^{3}H-uridin felvétel jól megegyezik a savoldékony pool ^{3}H-UTP tartalmával, ami szintén háromszor magasabb a B lymphocyta frakcióban frissen izolált sejtek esetében.

A tonsilláris T- és B-lymphocyták sugárérzékenysége

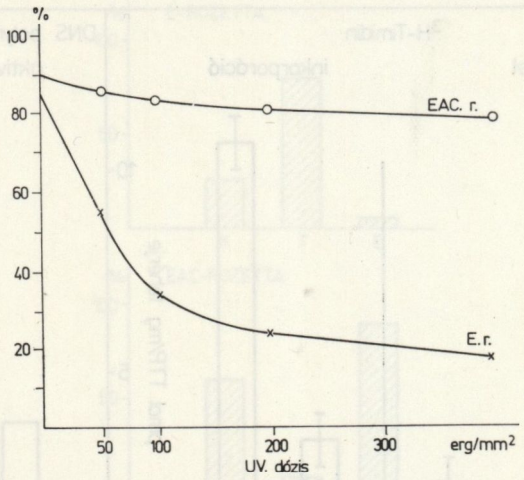
A lymphocytákról ismert, hogy ultraibolya fény (UV.) hatására a DNS-ben bekövetkezett károsodásokat a sejtek képesek helyreállítani (repair). Vizsgálatainkban a T- és B-sejtek UV.-érzékenységét vizsgáltuk, hogy a kétféle



12. ábra. ^{3}H-timidin inkorporáció és DNS-polymeráz aktivitás a nylon gyapot adherens (II) és nem adherens (I) szubpopulációkban.



13. ábra. ^{3}H-uridin inkorporáció tonsilla lymphocyta szubpopulációkban (sejtszeparálás nylon gyapot oszlopon).

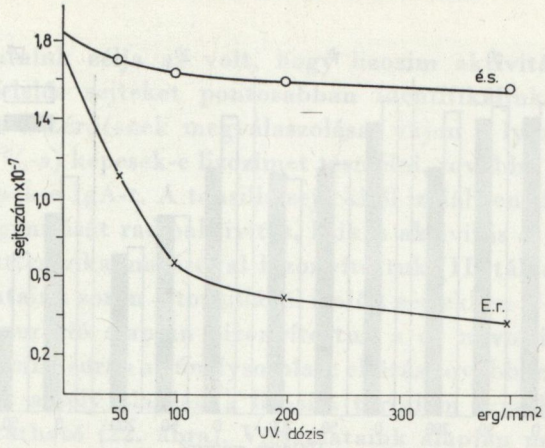


14. ábra. UV.-fény hatása a T- és B-lymphocyták E- és EAC-rosettaképző kapacitására.

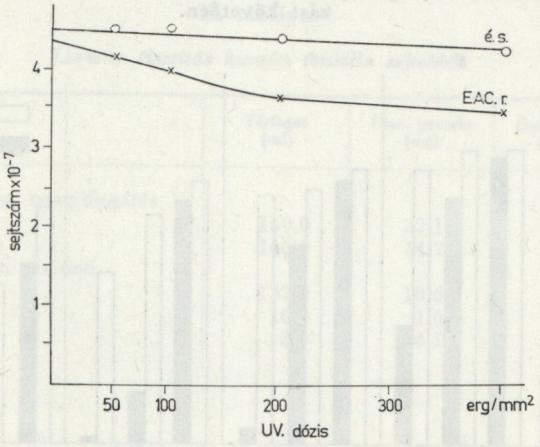
lymphocyta között található-e karakterisztikus különbség. Greaves és Brown (1974) által leírt, és kísérleteink alapján módosított (Csuka és mtsai 1976) sejt elválasztási eljárással T- és B-sejteket szeparáltunk. A szeparált sejteket különböző dózisú UV.-sugárral kezeltük. A sérülések kimutatására a membránreceptorok vizsgálatát használtuk; a T-lymphocyták erytrocyta-kötőképességét (E rosetta), ill. a B-lymphocyta C_3' receptorának változását (EAC-rosetta). Vizsgálatainkban azt találtuk, hogy 50—200 erg/mm² UV.-sugárzás jelentősen csökkentette a T-lymphocyták rosettaképző képességét és alig befolyásolta a B-lymphocyták EAC-rosetta képzését (14. ábra). A sejtek életképessége közvetlenül a besugárzást követően nem változott (15, 16. ábra). A T- és B-lymphocyták túlélése a besugárzást követően 1,—2,—12 óra múlva azonos arányú volt (17. ábra). Az élő sejtekre vonatkoztatott rosettaképző sejtek száma a T-lymphocyták esetében jelentősen csökkent (18. ábra). A B-lymphocyták esetében változást nem vagy alig tudtunk kimutatni (19. ábra). A vizsgálati eredmények arra utalnak, hogy a T-sejtek felületén a rosettaképzésért felelős receptor UV.-fény hatására érzékenyebb, mint a B-sejtek EAC receptora (Csuka és mtsai 1977).

Tonsilláris lymphocyták lizozim termelése

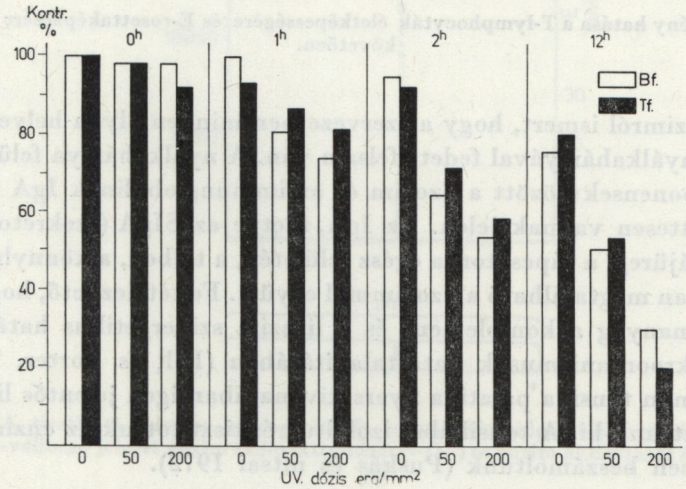
Mint már említettük, az immunválasz reakcióban specifikus és aspecifikus tényezők szerepelnek. Az aspecifikusak közül a *baktericid hatású lizozim* az egyik jelentős komponens. A lizozim (EC 3.2.1.17) a Gram pozitív baktériumok sejtfalában levő N-acetyl muraminsav és N-acetyl glukózamin közti $\beta 1 \rightarrow 4$ kötést bontja, és ezzel egyidejűleg a kórokozót elpusztítja.



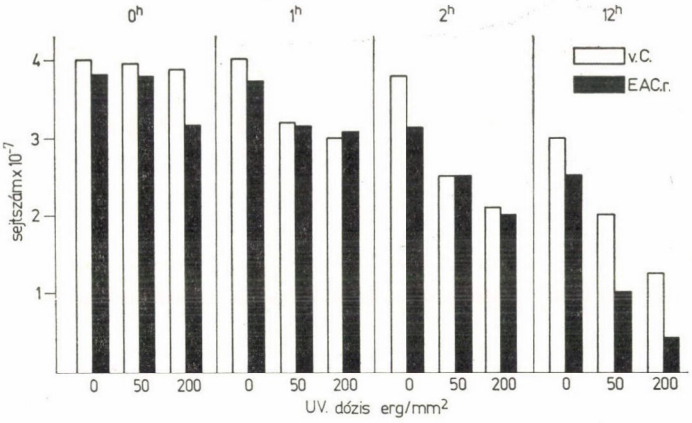
15. ábra. **UV.-fény hatása a T-lymphocyták életképességére, és E-rosetta képzésére.**



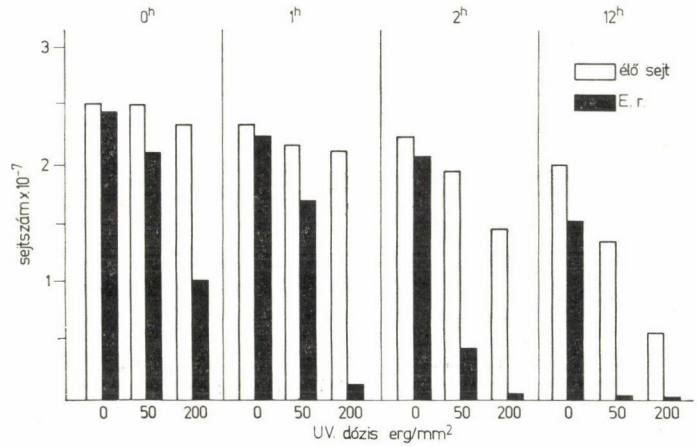
16. ábra. **UV.-fény hatása a B-lymphocyták életképességére és EAC-rosetta képzésére.**



17. ábra. **UV.-fény hatása a T-és B-lymphocyták életképességére a besugárzást követően.**



18. ábra. UV.-fény hatása a B-lymphocyták életképességére és EAC-rosettaképzésére a besugárzást követően.



19. ábra. UV.-fény hatása a T-lymphocyták életképességére és E-rosettaképzésére a besugárzást követően.

A lizozimról ismert, hogy a szervezetben minden olyan helyen megtalálható, ahol nyálkahártyával fedett felszín van. A nyálkahártya felületére szekretált komponensek között a lizozim és az immunglobulinok IgA típusa általában együttesen vannak jelen. Az IgA, illetve az SIgA (szekretorikus ellenanyag) a szájüreg, a tápcsatorna egész felületén, a tejben, a könnyben és egyéb szekrétumban megtalálható a lizozimmal együtt. Feltételezhető, hogy a szekretorikus ellenanyag a komplement és a lizozim szinergetikus hatású a Gram negatív mikroorganizmusok hatástalanításában (Hill és Porter, 1974).

A humán tonsilla palatina nyers kivonatában igen jelentős lizozim aktivitást mutattunk ki. A tonsillából izoláltuk és tisztítottuk az enzimet, amelyről részletesen beszámoltunk (Puskás és mtsai 1972).

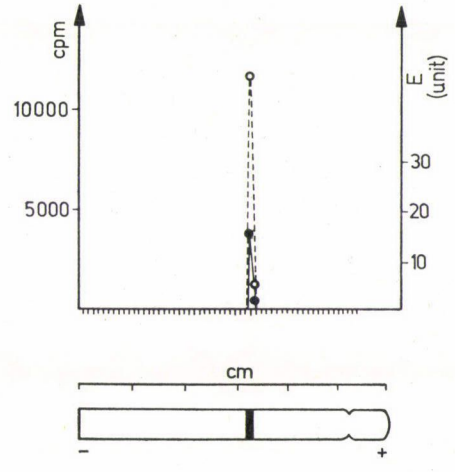
Vizsgálataink célja az volt, hogy lizozim aktivitást, illetve a lizozim szintézisért felelős sejteket pontosabban identifikáljuk. Mindenekelőtt felmerült annak a kérdésnek megválaszolása, vajon a lymphocyták (a tonsilla sejtek 95—97%-a) képesek-e lizozimet termelni, továbbá a lizozim szintetizáló sejtek termelnek-e IgA-t. A tonsilla sejtekből izolált enzimet tisztítottuk, és a lizozim homogenitását radioaktivitás, litikus aktivitás és disc elektroforetikus módszer együttes alkalmazásával bizonyítottuk (II. táblázat, 20. ábra).

Vizsgálataink során a tonsillából izolált sejtekben U-14-C-valin lizozimbe történő inkorporáció alapján bizonyítottuk a de novo lizozim szintézist (21. ábra). Kísérleteink során az ún. lyso-plate eljárás tovább fejlesztésével módszert dolgoztunk ki, amely alapján a lizozim tartalom lymphocytákban egy-sejtszinten kimutatható (22. ábra). Vizsgálataink alapján megállapítottuk, hogy

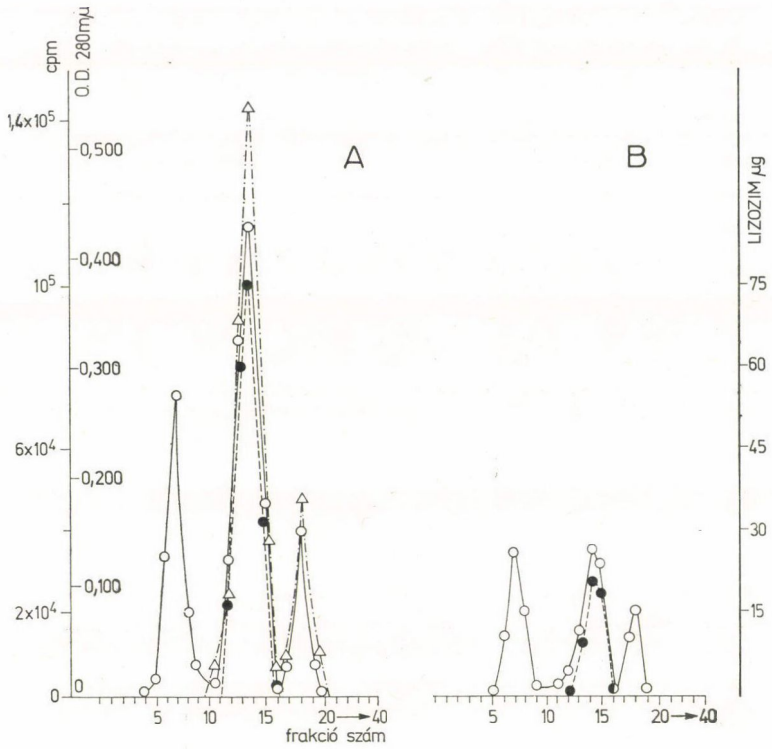
II. táblázat

Lizozim tisztítás humán tonsilla sejtekből

Enzim tisztítási lépések	Térfogat (ml)	Össz. protein (mg)	Össz. lizozim (unit)	Specifikus aktivitás (U/mg)
Sejt homogenizátum centrifugálás után	150,0	32,10	225,0	7,50
Felülúszó (pH 4,5)	140,0	14,70	182,5	12,41
Felülúszó 100 °C-on történő kezelés után	132,0	10,62	132,0	12,45
Amberlite IRC-50	10,0	1,00	120,0	120,0
Bio Gel P-10	3,0	0,15	110,0	733,33



20. ábra. A tisztított lizozim homogenitását polyakrylamidgél elektroforézissel vizsgáltuk. Az U-14-C-valinnal jelzett enzim radioaktivitását (--O--) és enzim aktivitását (—●—) tüntettük fel.

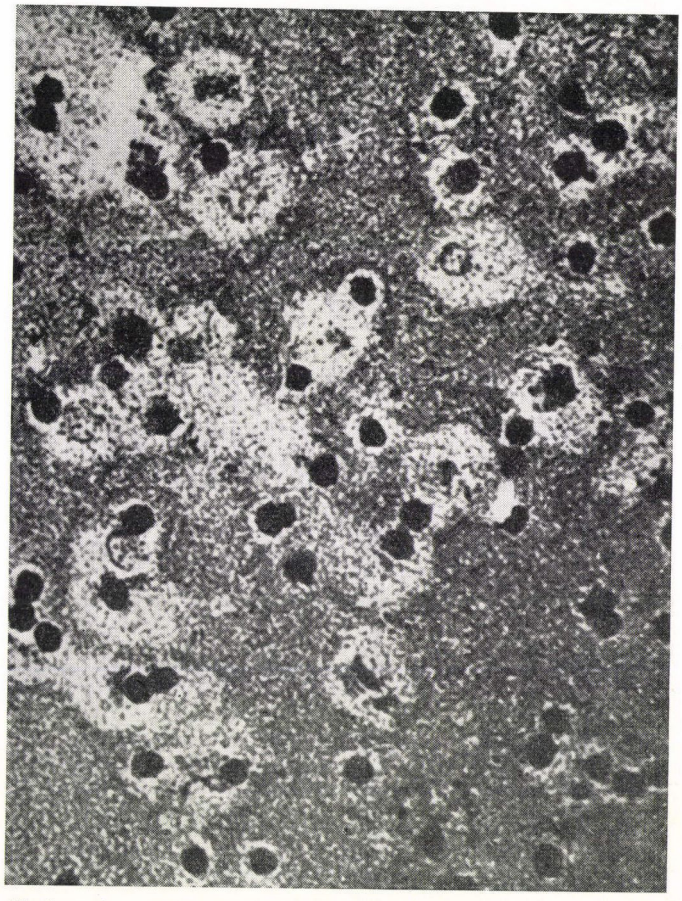


21. ábra. Lizozim tisztítás Bio Gel P-10 oszlopon. A tisztított enzimet az oszlopról eluáltuk és az egyes frakciók radioaktivitás (—.—Δ—.—), lizozim aktivitás (-●-) és O. D. 280 mμ (-O-) értékeit tüntettük fel. (A = kontroll, B = 1 mM cycloheximiddel kezelt.)

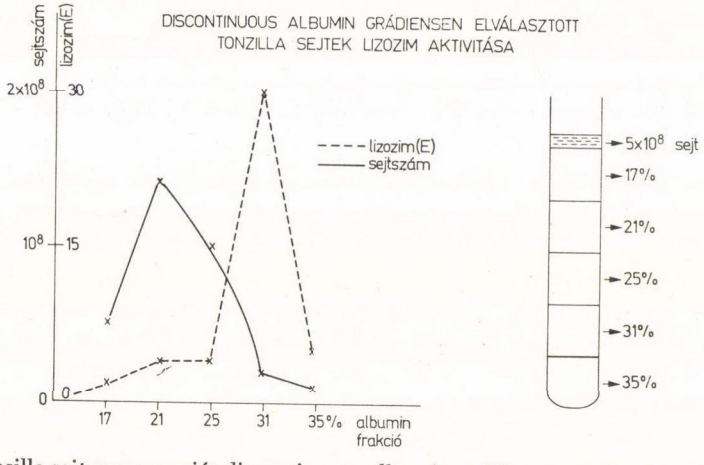
a tonsilla lymphocyták *de novo szintetizálnak lizozimet* (Antoni és Puskás, 1974, Puskás és mtsai 1975).

A lizozim szintézisért egy meghatározott lymphocyta szubpopuláció felelős (Puskás és mtsai 1975, 1976). Ezt a szubpopulációt a tonsilla lymphocytákból szérummentes üveggyapoton történő adherencia alapján sikerült szeparálni (III. táblázat). A lizozimet termelő sejtek nem adherensek az üveggyapothoz. Az oszlopról az első átfolyó frakcióban izoláltuk. A lizozimet szintetizáló, ún. „L lymphocyta" szubpopuláció discontinuous albumin grádiens centrifugálással is elkülöníthető a tonsillából izolált más sejtektől (23. ábra, Puskás és mtsai 1975).

Vizsgálataink alapján megállapítottuk, hogy a tonsilláris lymphocyták egy szubpopulációja lizozimet termel, ellentétben a perifériás vérben levő lymphocytákkal, amelyekről az irodalmi adatok alapján ismert, hogy lizozimet nem szintetizálnak. A lizozimet szintetizáló lymphocytákban mérhető lizozim tartalom nem elhanyagolható a granulocytákban és monocytákban talált lizozim tartalomhoz viszonyítva (IV. táblázat).



22. ábra. A tonsilla lymphocyták körül kialakult lytikus zónák fénymikroszkópos képét mutatjuk be. A sejteket Micrococcus Lysodeicticust tartalmazó agarose gélbe szuszpendáltuk, és 37 °C-on 24 órán át inkubáltuk.



23. ábra. A tonsilla sejt szuszpenziót discontinuous albumin grádiens centrifugálással frakcionáltuk. A centrifugálást 120 × g-vel 17 percig 4 °C-on végeztük. Az ábrán az egyes albuminfrakciókból kinyert sejt szám- és lizozim aktivitásértékeket tüntetjük fel.

III. táblázat

Lizozim specifikus aktivitás értékek különböző módszerekkel frakcionált tonsilla sejt populációkban

Kiindulási sejt populáció		Sejtszeparálás	Szeparált sejtek		
μg lizozim/ 10^7 sejt	spec. aktivitás (μg lizozim/ mg fehérje)		μg lizozim/ 10^7 lymphocyta	spec. aktivitás (μg lizozim/ mg fehérje)	% $\left(\frac{\text{szeparált sejt}}{\text{összes sejt}} \times 100\right)$
1,8	0,009	discontinuous albumin grádiens centrifugálás (31%-os albuminban ülepedő lymphocyták)	30,0	0,120	4
1,6	0,008	üveggyapot oszlop (szérum mentes)	13,5	0,075	10
2,0	0,009	üveggyapot ↓ nylon gyapot	35,0	0,140	3,5
1,8	0,011	vas por R 10	1,8	0,010	98

IV. táblázat

Izolált sejtek lizozim tartalma

Sejt	μg lizozim/10^7 sejt	Szerzők
Monocyta	50—200	Heise és Myrvik 1967.
Granulocyta	5— 10	Hindenburg és mtsai 1974.
„L-lymphocyta"	10— 30	Puskás és mtsai 1975.

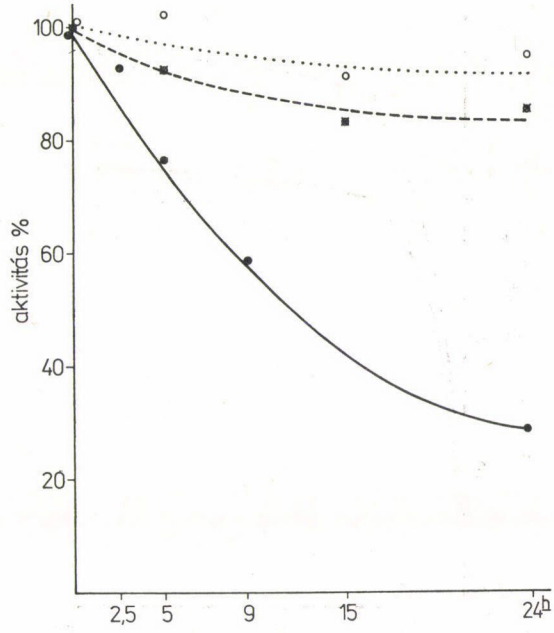
A tonsilláris lymphocyták lizozim termelését azzal hoztuk összefüggésbe, hogy a tonsilla palatina a külvilággal is érintkező, egyik legnagyobb nyirokszervünk, amelyben a lymphocyták a fokozott funkcionális igényekhez adaptálódtak. Kísérleteinkben gondosan ügyelnünk kellett arra, hogy az esetleges makrofágok jelenlétét az izolált sejtfrakcióban kizárjuk. Azt azonban még jelenleg sem sikerült egyértelműen bizonyítanunk, hogy esetleg a makrofágok valamelyik érési alakja van jelen abban a lymphocyta szubpopulációban, amelyet mi izoláltunk. Ha ilyen jelen is van, ennek a mennyisége elhanyagolhatóan kicsi ahhoz a viszonylag magas lizozim termeléshez képest, amelyre a szubpopuláció sejtjei képesek in vitro körülmények között. Az ún. „L-szubpopuláció" sejtjeiben a lizozim-szintézis és az IgA-termelés szabályozására vonatkozó vizsgálatokat végzünk.

A tonsilláris lymphocyták fehérje szintézisének hőmérséklettől függő változása

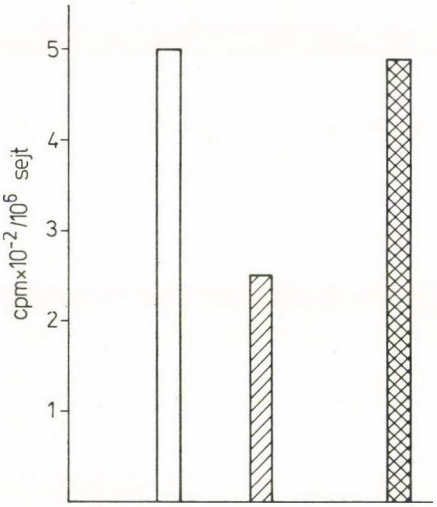
Vizsgálatainkban megállapítottuk, hogy a tonsillák előzetes tárolása +4 °C-on jelentősen csökkenti a szervből izolált lymphocyták fehérjeszintézisét, ugyanakkor a sejtek RNS-DNS szintézise nem változik (24. ábra, Farkas és mtsai 1977). A frissen izolált sejtek +4 °C-on történő inkubálása csökkenti az aminosav inkorporációt, de nem befolyásolja a sejtek aminosav felvételét (25, 26. ábra).

A fehérjeszintézis csökkenése a 37 °C-on történő inkubálással rekuperálódik, és eléri azoknak a sejteknek a fehérje szintetizáló sebességét, amelyeket előzetesen nem inkubáltunk +4 °C-on (25. ábra). A rekuperáció idő és hőmérséklet függő folyamat, amely cikloheximiddel gátolható (27., 28. ábra). Ismeretes, hogy a sejtekkel kapcsolatos vizsgálatoknál a sejtkinyerést és a vizsgálatokat megelőző folyamatot +4 °C-on végzik.

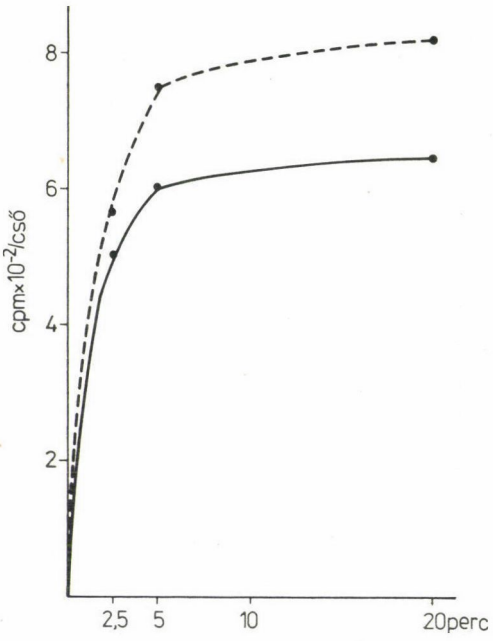
Vizsgálataink eredményei arra utalnak, hogy az előzetes +4 °C-on történő kezelés időtartama jelentős mértékben befolyásolhatja a későbbi vizsgálati eredményeket. Ezért ajánlatos az előkészítő, +4 °C-on történő eljárásokat azonos idő intervallumon belül végezni. A sejtek fehérjeszintézisének csökkenése, amelynek a +4 °C-on történő előzetes tárolása az oka, arra utal, hogy a fehérjeszintézis folyamatának valamely szakasza „elakad".



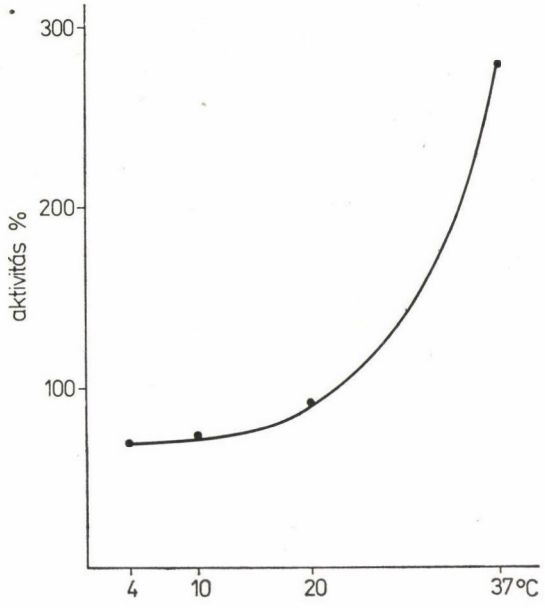
24. ábra. A tonsillák 0—24 órás +4 °C-os tárolása után szeparált lymphocyták ^{14}C-valin (• — •), ^{3}H-uridin (■ — — ■), ^{3}H-timidin (o····o) inkorporációja, a tárolás nélküli tonsillákból frissen izolált sejtek inkorporációjának százalékában.



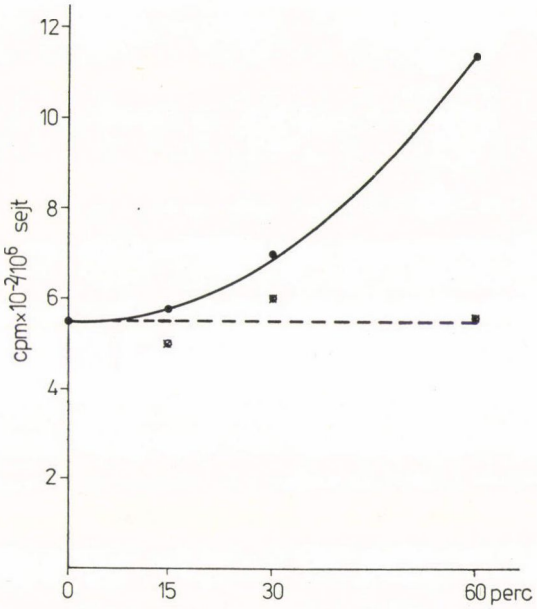
25. ábra. A tárolás nélküli tonsillákból izolált lymphocyták 60 perces ^{14}C-valin inkorporációja: előinkubálás nélkül □, előinkubálva: 60 percig +4 °C-on ▨, 60 percig +4 °C-on, és ezt követő 60 percig 37 °C-on ⊠.



26. ábra. A tárolás nélküli tonsillákból izolált lymphocyták aminosav felvétele: előinkubálás nélkül •——•, 90 perces +4 °C-on történő előinkubálást követően •- - -•.



27. ábra. 24 óráig +4 °C-on tárolt tonsillákból izolált lymphocyták 60 perces ^{14}C-leucin inkorporációja +4 °C, +10 °C, +20 °C, +37 °C-on történő 30 perces előinkubálást követően, az előinkubálás nélküli sejtek inkorporációjának százalékában.

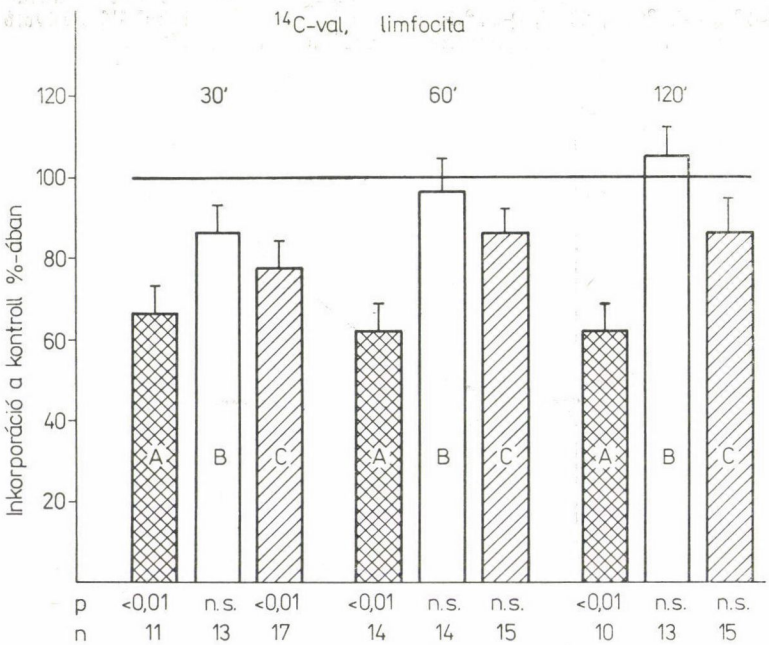


28. ábra. A tarolás nélküli tonsillákból izolált lymphocyták 0—60 perces 37 °C-os előinkubálását követő ^{14}C-valin inkorporációja, ha a rendszer nem tartalmazott cycloheximidet • —— •, ha az előinkubálás alatt jelenlevő 5 γ/ml cycloheximidet az előinkubálás végén eltávolítottuk a rendszerből ☒ - - - ☒.

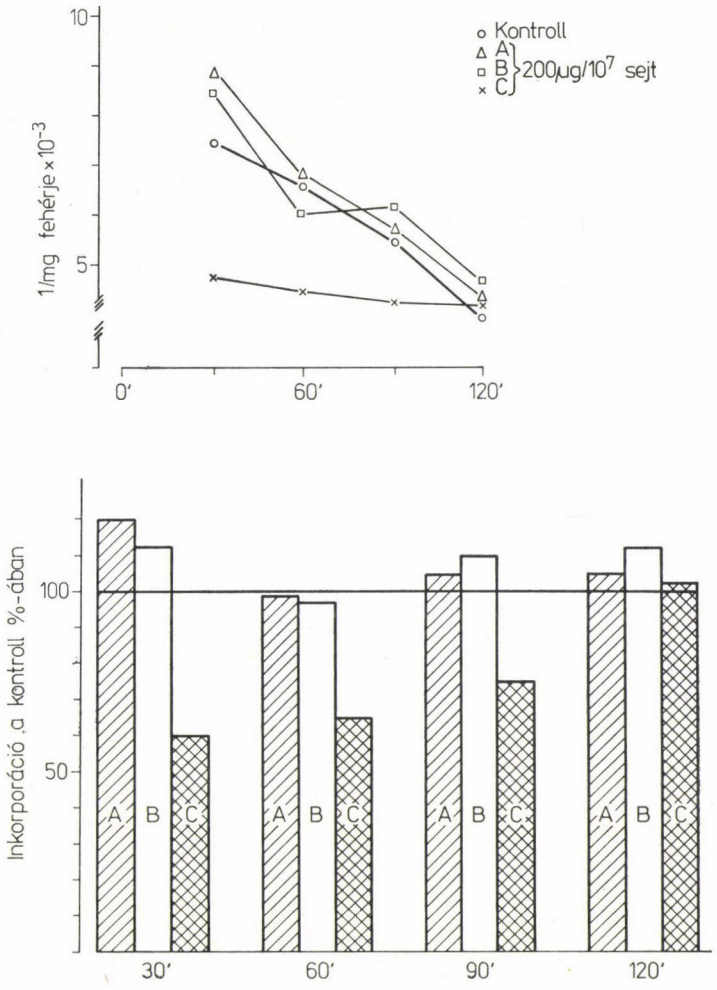
A fehérjeszintézis blokkolódhat a transzláció valamelyik szakaszában, vagy az azt követő posztszintetikus fázisban. Lehetséges továbbá, hogy a fehérjeszintézishez szükséges valamelyik faktor inaktiválódik +4 °C-on. A fehérjeszintézis rekuperálódik a +4 °C-on történő tárolást követő 37 °C-on történő inkubálás következtében, ami tehát a folyamat reverzibilis jellegére utal.

Lymphocyták citotoxin termelésének vizsgálata

A B-lymphocyták a környezetbe ellenanyagot, immunglobulinokat szekretálnak. A T-lymphocyták citotoxikus és feltételezhetően még sok egyéb más faktorokat is szintetizálnak, amelyek a lymphocyták közötti kölcsönhatás szabályozásához szükségesek. Vizsgálatainkban kimutattuk, hogy a kultúrákban tartott lymphocyták médiumából izolált fehérjetermészetű anyagok befolyásolják a friss lymphocyták tulajdonságait. Bizonyítottuk, hogy azok in vitro körülmények között lizálják a lymphocytákat, ill. a makromolekulák szintézisét gátolják (29., 30., 31. ábra, T. Szabó és Antoni 1975., T. Szabó és mtsai in press). A lízist Cr^{51}-el jelzett lymphocyták alkalmazásával (32. ábra),



29. ábra. Lymphocyták 4 órás inkubálási médiumából, ammóniumszulfáttal 3 frakcióban kicsapott fehérjék hatása a lymphocyták ^{14}C-valin inkorporációjára. — A: 0—30% telítés; B: 30—70% telítés; C: 70—100% telítés. Inkorporáció mérés: 10^7/ml sejt Hanks-médiumban inkubálva, a jelzett időpontokban 30 perces pulzusjelzés. A fehérje-frakciók nélkül inkubált kontroll sorozatok inkorporációjának %-ában fejeztük ki a fehérjék jelenlétében mért jelzettséget. Az egyes frakciókból 200 μg-t adtunk 10^7 sejthez.

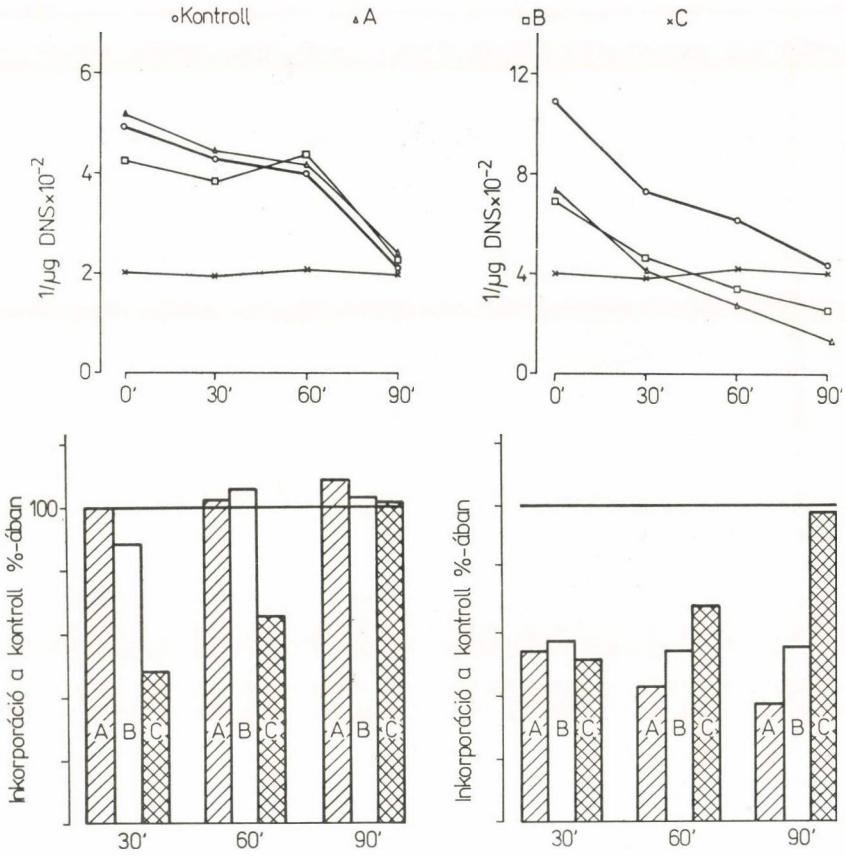


30. ábra. A fehérjefrakciók hatása a lymphocyták RNS szintézisére. Inkorporáció mérés: 10^7/ml sejt Hanks-médiumban inkubálva, a jelzett időpontokban 30 perces pulzus jelzés ^{3}H-uridinnel. Az inkubálás után a TCA-val kicsapott sejtek jelzettségét mértük. Az ábra felső részén a specifikus aktivitást, az ábra alsó részén a kontrollhoz viszonyított inkorporációt mutatjuk be.

a makromolekulák szintézisében a gátlást jelzett prekurzorok alkalmazásával mértük. A komponenseket tisztítottuk. A tisztított komponensek közül egyesek csak a lymphocyták fehérjeszintézisét gátolják.

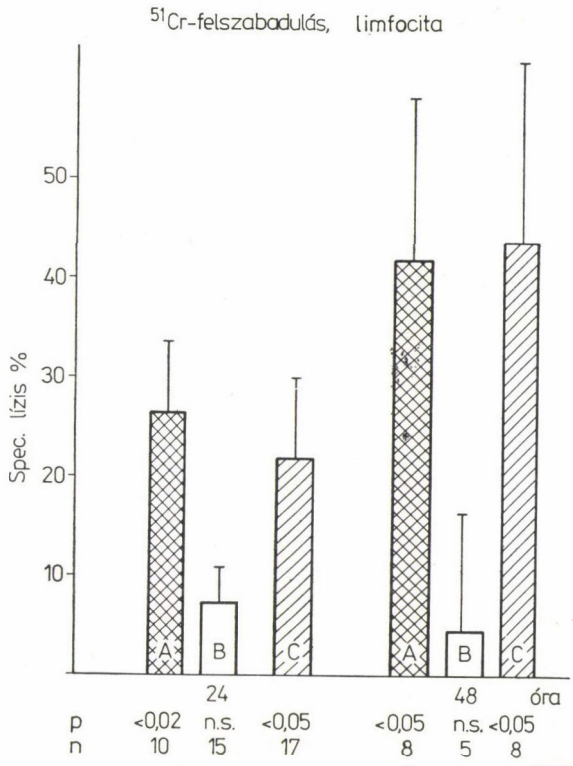
Plazma membrán

A lymphocyták funkciójának megismerésében jelentős fejlődést jelentett a plazma membrán szerepének tanulmányozása, különös tekintettel a felületi ellenanyagok, továbbá a lymphocyta felületének változására, amely a



31. ábra. A fehérjefrakciók hatása a lymphocyták DNS szintézisére. Inkorporáció mérés: 5×10^6/ml sejt Eagle-médiumban inkubálva, 100 µg fehérje jelenlétében. Az ábrán jelzett időpontokban 60 perces pulzus jelzés ^{3}H-timidinnel. Az ábra felső részén a sejtekből izolált DNS-re vonatkoztatott specifikus aktivitást, az ábra alsó részén a kontrollhoz viszonyított jelzettséget mutatjuk be.

különböző mitogének hatására következik be. A lymphocyta membránra vonatkozó ismereteinket jelentős mértékben támasztotta alá az a felismerés, hogy a fluid mozaikmodell az eucaryota plazma membránjára jellemző állapot. A plazma membrán az eucaryoták — így a lymphocyták esetében is — nemcsak a sejt és a külső környezet közötti elhatárolást jelenti, hanem a plazma membrán közvetítő szerepét is a külső környezet és a sejt belső tere között. Más szóval a plazma membránoknak „átvezető" funkciója és szerepe van az eucaryota-sejtekben. A lymphocyták histokompatibilis antigén tulajdonságának felismerésében az antigén kémiai szerkezetének vizsgálatához szükséges a plazma membrán izolálása. A lymphocyták és más sejtek membránjának preparálásáról több szerző számolt be. Vizsgálatainkban a humán tonsilláris lymphocytákból preparáltunk mag- és mitokondrium mentes készít-



32. ábra. Az ábrán bemutatott fehérjefrakciók jelenlétében mért ^{51}Cr-felszabadulás, 24, 48 órás inkubálás után (5×10^6 sejt/ml, 100 μg fehérjefrakció/ml).

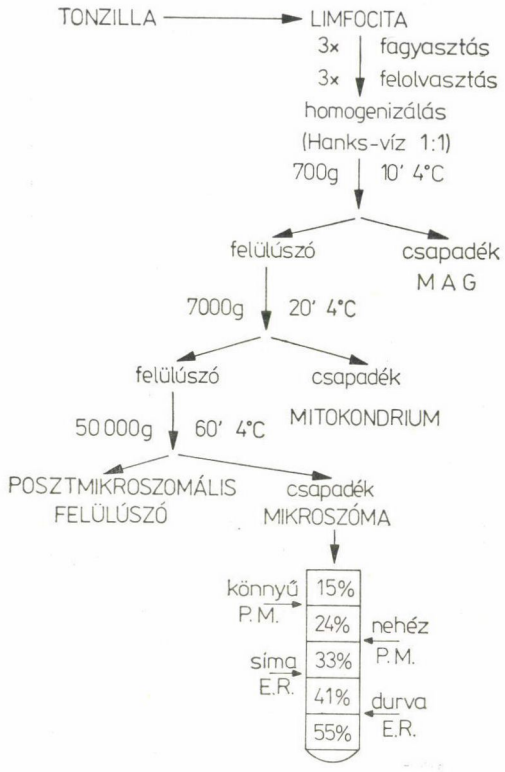
ményeket, amelyekből az egyes receptor fehérjék szeparálására eljárásokat dolgoztunk ki. A vizsgálatainkban használt tonsilla-sejtek membrán preparálását az alábbi ábra szerint végeztük (33. ábra, Hrabák és mtsai 1974, Hrabák 1976).

A frakcionálás során a DNS és RNS tartalmat követtük (Hrabák és mtsai, in press). Az egyes frakciók jellemző adatait táblázatban tüntetjük fel.

V. táblázat

Humán tonsilla-lymphocyták szubcelluláris frakcióinak kémiai összetétele

Frakciók	Fehérje (össz-sejt %-ában)	DNS	RNS	Hexóz	Hexózamin	Sziálsav
		μg/mg fehérje egységekben				
Teljes sejt	100	189	62,5	18,6	2,92	5,36
Magfrakció	50,7	779	67	27,2	5,65	5,04
Mitokondrium	7,1	88	105	50,5	5,02	8,9
Mikroszomális fr.	5,0	44,6	88,8	57	15,7	19,4
Citoszól	37,2	28,9	10,5		1,66	



33. ábra. Plazma membrán frakciók izolálása humán tonsilla lymphocytákból.

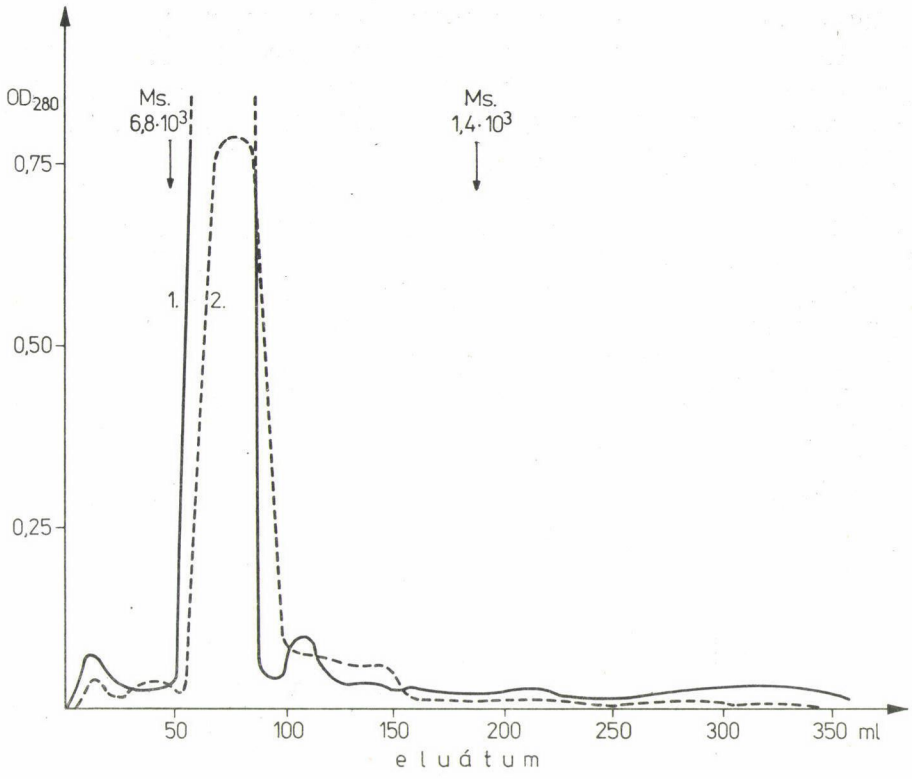
A tisztítás során követtük a membrán frakcióra jellemző 5' nukleotidáz és a glukóz-6-foszfatáz aktivitást.

A táblázatból látható, hogy elsősorban sziálsav és neutrális hexózokban gazdag glikoprotein frakciót izoláltunk. Az izolált frakció összetételét és homogenitását kromatográfiás és gélelektroforetikus módszerekkel vizsgáltuk. A frakció Sephadex-G 150 gélszűrés alapján homogénnek bizonyult, diszulfid

VI. táblázat

Humán tonsilla lymphocyták subcelluláris frakcióinak enzim aktivitás értékei

Frakciók	^{14}C-valin inkorporáció (dpm/mg · feh.)	Citokróm oxidáz U/mg feh.h	Gl-6-Páz	Savas foszfatáz	5'-AMPáz
			μMP/mg feh. h		
Homogenátum (teljes sejt)		0,027	0,278	1,029	1,63
Magfrakció	4 910	0,112	0,310	0,855	1,44
Mitokondrium	7 720	0,340	0,241	1,862	2,32
Mikroszóma	45 900	0,036	0,340	1,030	2,82
Citoszól	34 400	0,01	0,348	1,170	1,45

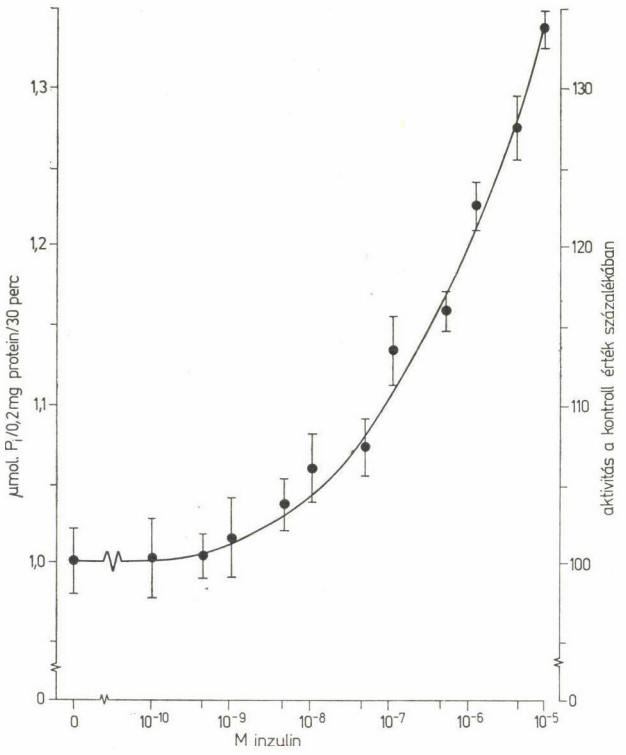


34. ábra. A LIS-kivonat gélszűrése Sephadex G 150 oszlopon (oszlop mérete: 1 × 80 cm). A moelkulasúlyok kalibrálására szérum albumint és ribonukleázt használtunk.

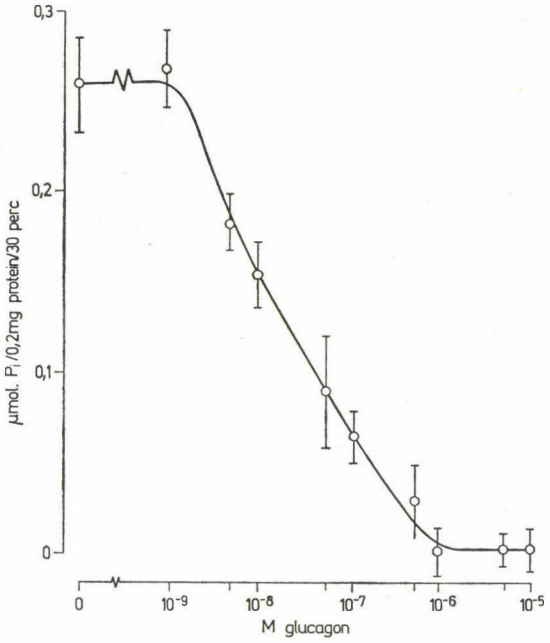
hidakat nem tartalmazott, molsúlya 45—50 000 körüli érték (34. ábra). DEAE cellulóz oszlopon kromatografálva a frakció erősen savanyú karakterű, két nagyobb frakcióra bontható (Hrabák és mtsai 1973), az SDS poliakrilalamid-gél elektroforetikus módszerrel három frakcióra bontható (Ms: 40 000, 46 000, 49 000). A frakció a sejt összfehérje tartalmának kb. 0,035%-át tartalmazza, ami a membrán fehérjék 3,5%-át jelenti. Az izolált frakció biológiai aktivitást mutat in vitro, gátolja a humán lymphocyták és a birka vörösvértest között a rosettaképzést (Hrabák és mtsai 1975). A frakciók a lectinek stimuláló hatását gátolják a koncentráció függvényében. A gátlást annak tulajdonítjuk, hogy az általunk izolált membránfrakció szénhidrát determinánsai kötődnek a lectinekhez, és ez gátolja az utóbbiak membránhoz kötődését. Ez arra utal, hogy az izolált frakció *lectin receptor tulajdonsággal rendelkezik* (Hrabák és mtsai in press). A membrán receptorok és a membrán kötött enzimek közötti kölcsönhatások megismerésében tanulmányoztuk a lymphocyta membránok ATPáz enzimeire a peptid hormonok hatását. Az insulin és glukagon az egyes membrán ATPázokra eltérően hat. Az insulin 1—10 μM koncentrációban

20—30%-kal fokozta a Mg^{2+} függő ATPáz hatását (35. ábra), de hatástalan volt a $Na^{+} + K^{+}$ ATPázra, továbbá a $Mg^{2+} + Ca^{2+}$-dependens ATPázra. A glukagon 10 nM koncentrációban gátolja a $Mg^{2+} + Ca^{2+}$-dependens ATPázt, de nem hatott a másik kettőre (36. ábra, Szamel és mtsai 1976). Az insulin hatását az együttesen adott — önmagában hatástalan glukagon —, az utóbbiét pedig az inzulin megszüntette (37., 38. ábra). Ha a mikroszóma frakcióról solubilizáltuk a receptorokat, vagy a mikroszóma kinyerés előtt kezeltük a sejteket detergenssel, ez a hormonhatást felfüggesztette (39. ábra, Szamel és mtsai 1977). Vizsgálataink alapján megállapítottuk, hogy a hormon — ATPáz kölcsönhatás kialakulásához a membrán felületén a receptorok jelenléte szükséges. Ezek alapján valószínűnek tartjuk, hogy a receptor-kötött hormonok a membrán ATPázokra gyakorolt hatása a membrán konformáció változásával függ össze.

A lymphocyták membránjával kapcsolatban tanulmányoztuk a helyi érzéstelenítők (lidocain és származékai) hatását. Vizsgálataink alapján megállapítottuk, hogy a helyi érzéstelenítők 10^{-2} mol koncentrációban gátol-



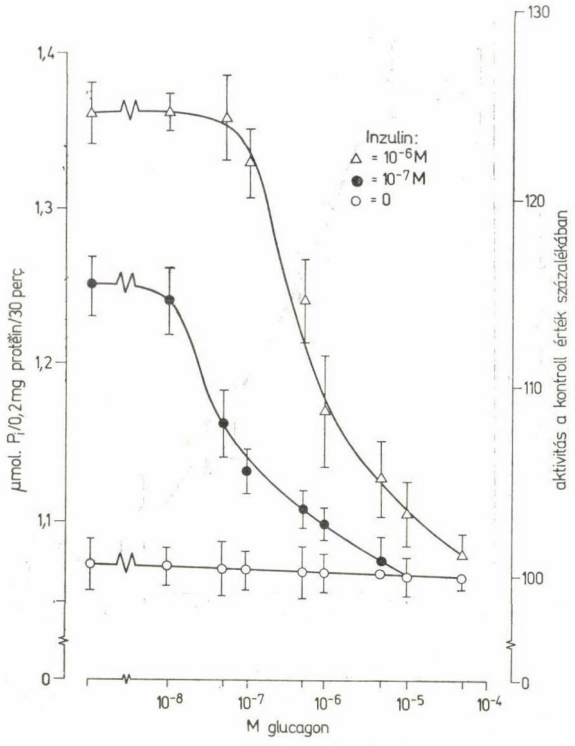
35. ábra. 50 mM Tris-HCl pufferban (pH 7,4), amely 5 mM ATP-t, 5 mM $MgCl_2$-t tartalmazott, mértük emelkedő koncentrációjú inzulin aktiváló hatását a Mg^{2+}-dependens ATPáz aktivitásra.



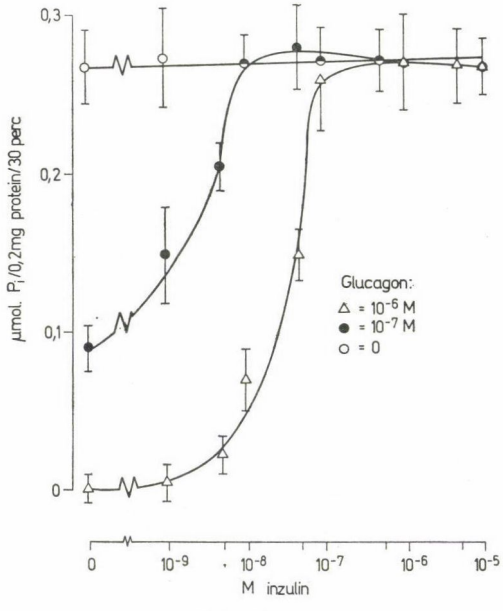
36. ábra. 50 mM Tris-HCl pufferban (pH 7,4) 5 mM ATP-t, 5 mM $MgCl_2$-t, 25 μM $CaCl_2$-t tartalmazó reakcióelegyben mértük emelkedő koncentrációjú glukagon gátló hatását a Ca^{2+}-aktivált ATPáz aktivitásra.

ják a lymphocyták a ^{3}H-timidin és ^{3}H-uridin felvételét és inkorporációját (40. ábra). A helyi érzéstelenítőknek ez a hatása a sejtekhez történő hozzáadásakor azonnal bekövetkezik. A gátló hatás reverzibilis: ha az érzéstelenítőt a rendszerből eltávolítjuk, új médiumba visszük a sejteket, a makromolekulák bioszintézise tovább folyik (Bojta és mtsai 1977, Hrabák és mtsai 1977). A lymphocytákkal szemben termelt lytikus antiszérum hatását a lidocain potencírozta (41. ábra). A lidocain hatására a membrán érzékenyebbé válik az antiszérumban jelenlevő lytikus faktorokkal szemben (Antoni és Bojta 1977). A lidocainnak ez a lízist fokozó hatása Ca^{2+} koncentráció növelésével kivédhető (42. ábra).

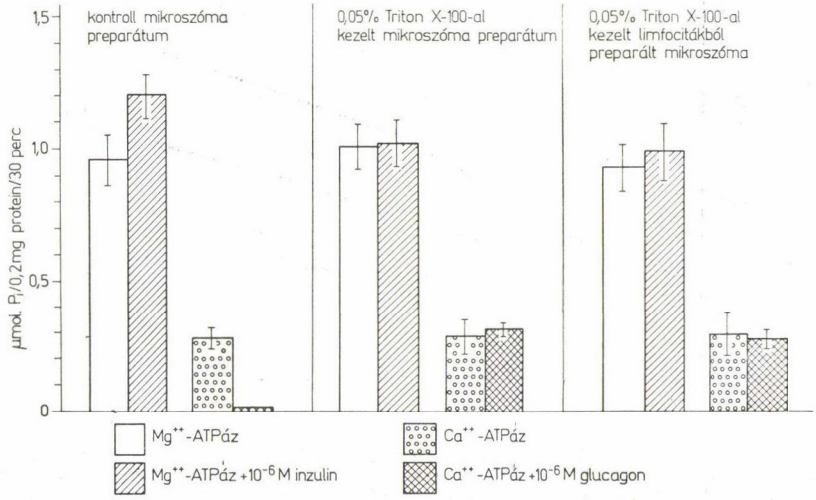
Általánosan ismert, hogy a lymphocyták felületén immunglobulinok vannak jelen. Az immunglobulinoknak ezt a csoportját felületi immunglobulinoknak nevezzük. Vizsgálatainkban — melyet indirekt immunfluorescens módszerrel végeztünk — a humán tonsillákból kinyert lymphocyták felületén IgA, IgG és IgM immunglobulinokat mutattunk ki. Eljárást dolgoztunk ki az immunglobulinokat specifikusan, ill. aspecifikusan kötő lymphocyták elkülönítésére (Puskás és mtsai 1977). Vizsgálataink alapján megállapítottuk, hogy a tonsilla lymphocyta populációban 8% IgA, 16% IgG és 8% IgM szintetizáló sejt van (VII. táblázat, Antoni és mtsai in press).



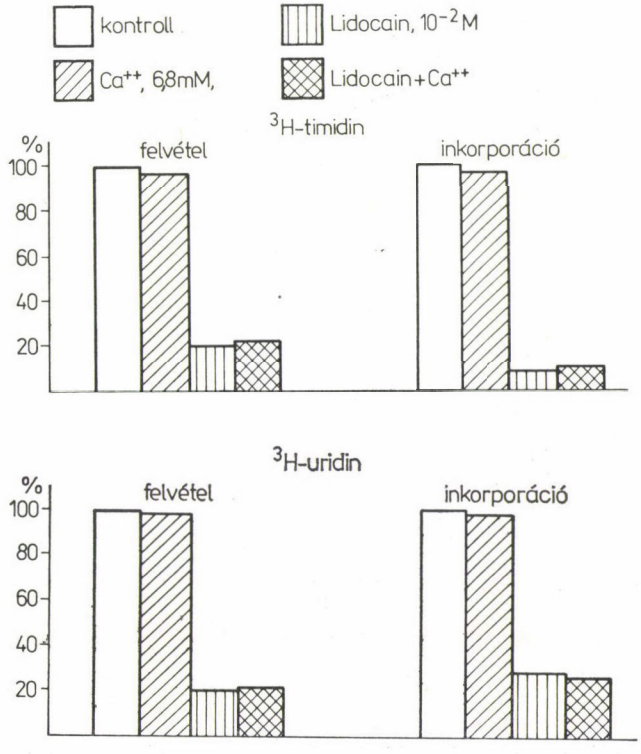
37. ábra. 50 mM Tris-HCl pufferban, 5 mM ATP és 5 mM $MgCl_2$ jelenlétében emelkedő koncentrációjú glukagonnal az inzulin Mg^{2+} dependens ATPáz aktiváló hatása felfüggeszthető.



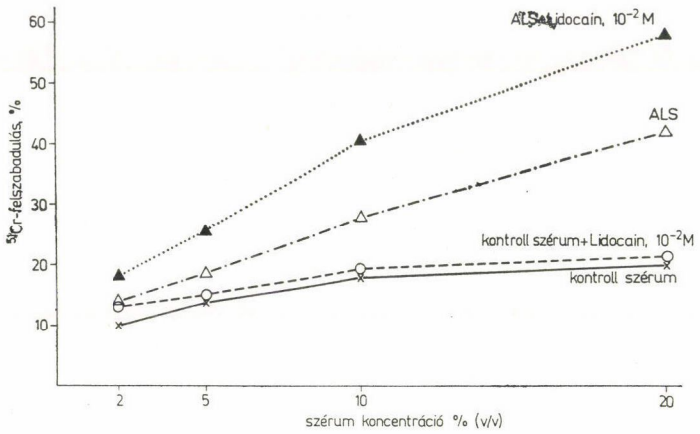
38. ábra. 50 mM Tris-HCl pufferban, 5 mM ATP-t, 5 mM $MgCl_2$-t, 25 μM $CaCl_2$-t tartalmazó reakcióelegyben az inzulin a glukagon Ca^{2+} aktivált ATPázt-gátló hatását felfüggeszti.



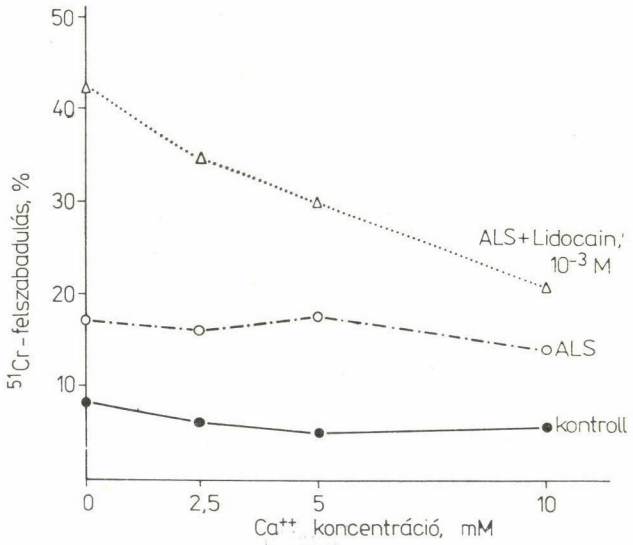
39. ábra. **A mikroszoma frakciót, ill. a lymphocyta sejtszuszpenziót a mikroszoma preparálás előtt 0,05% Triton X-100-zal kezeltük 0 °C-on 20 percig. Ez a detergens koncentráció mind az inzulin, Mg^{2+} ATPázt aktiváló, mind a glukagon Ca^{2+} ATPázt gátló hatását megszünteti.**



40. ábra. **Lidokain hatása humán tonsilla lymphocyták timidin, ill. uridin felvételére és inkorporációjára.**



41. ábra. **Lidokain hatása az immuncitolízisre. A patkányban termelt antilymphocyta szérum (ALS) citolitikus hatását a ^{51}Cr-al jelzett humán tonsilla lymphocytákból felszabaduló ^{51}Cr mennyisége jelzi. (A sejtek kezdeti krómtartalma felel meg 100%-nak.)**



42. ábra. **Calcium ionok hatása a lidokainnal potencírozott immuncitolízisre.**

A cAMP molekuláris hatásmechanizmus vizsgálata humán tonsilláris lymphocytákban

A cAMP-nek, mint intracelluláris mediátornak a felfedezése egy elvileg új szabályozási mechanizmus felismerését jelentette az eucaryota sejtekben. Az elmúlt évtizedben nyilvánvalóvá vált, hogy a cAMP nemcsak több polipeptid hormon mediátor anyaga, hanem más szabályozási folyamatokban,

VII. táblázat

Immunglobulint szintetizáló lymphocyták (%)		
IgA	IgG	IgM
átlag		
7,8	16,5	7,9
Immunglobulint szintetizáló + adszorbtive kötő lymphocyták (%)		
IgA	IgG	IgM
átlag		
15,2	29,0	22,0

ill. rendszerekben is mediátor szerepet lát el. A sejtmembránban lokalizált adenilcikláz-hatására a cAMP ATP-ből képződik. Az adenilcikláz sejttípusonként más-más membrán receptorokhoz kapcsolódik. Ennek megfelelően az adenilciklázt sejt-típusonként más hormon, illetve hormonszerű anyag képes aktiválni. Egy adott sejtben a cAMP-szint emelkedés tehát nagyon specifikus membránreakció eredményeképpen jön létre. Az intracellulárisan képződött cAMP mindig az adott differenciált sejt programjának megfelelően speciális funkciót aktivál, vagyis mindig olyan folyamatokat, amelyekre nézve az adott sejtben a genetikai információ előírható. A cAMP szerepével kapcsolatban a lymphocyta proliferációban két egymással ellentétes hipotézis ismert. Az egyik szerint a mitogén stimulust követően a cAMP-szint növekedik és ezt követi a foszfát inkorporáció a H 1 hiszton frakcióba és más, citosolban levő fehérjékbe. A lymphocyták mitogenezisében a cAMP a feltételezés szerint pozitív mediátor szerepet játszik. A másik hipotézis szerint a cAMP gátolja a poliferációt. A cAMP-szint emelkedése az intracelluláris foszfodieszteráz gátlásával vagy prostaglandinok, illetve cAMP analógok adásával gátolja a mitogénekkel stimulált RNS DNS szintézist. Újabban a lymphocyták mitogenezisének folyamatában kétféle cAMP függő proteinkináz ellentétes hatásáról számolnak be, amely feloldhatja a korábbi két ellentmondó munkahipotézist (Byus és mtsai 1977). A ciklikus nukleotidok, a cAMP és a cGMP nagyon valószínűen szerepet játszanak az immunválasz reakció intracelluláris mediátoraiként is. A cAMP immunológiai hatása minden valószínűség szerint a cAMP magi folyamatokat befolyásoló működésével áll összefüggésben. A cAMP magi folyamatokat reguláló hatásának vizsgálatára a lymphocyták bizonyulnak az egyik legjobb kísérleti objektumnak. A cAMP sokféle folyamatot aktiválhat, vagy gátolhat, de jelenlegi ismereteink szerint csak egy olyan molekuláris szintű folyamat ismert, amelyben a cAMP közvetlenül részt vesz. Ez a folyamat a cAMP

dependens proteinkináz aktiválása. Ezért vizsgálataink első feladataként a lymphocyta proteinkináz aktiválásának tanulmányozását tűztük ki. A humán tonsilla lymphocyta sejtplazmája magas hisztonkináz aktivitást mutatott, és az enzimtisztítás során kiderült, hogy a lyphocyta legalább két különböző hiszton foszforiláló enzimmel rendelkezik. Ezeket egymástól DEAE cellulóz kromatográfia alkalmazásával sikerült elválasztani. A két hisztonkináz különbözik a cAMP iránti érzékenységben, pH optimumban, stabilitásban és enzimkinetikai paraméterekben. A két enzim frakció közül az egyiket, amelyik ciklikus nukleotidokkal nem aktiválható cAMP independensnek, míg a másikat, amelyik cAMP érzékenységet mutatott, cAMP dependens enzimnek neveztük (Faragó és mtsai 1973).

A két enzim által foszforilált H2b hiszton triptikus peptidjeinek fingerprint analízisével kimutattuk, hogy a cAMP dependens enzim főleg egyetlen kitüntetett helyen foszforilálja a H2b-t, míg a cAMP independens enzim több oldalláncot foszforilál. A lymphocytákból nyert cAMP dependens enzim a borjú thymus H2b hiszton aminosav szekvenciájának 36- vagy 38-as pozíciójában levő szerin csoportot foszforilálja (VIII. táblázat, Faragó és mtsai 1975). A hisztonkináz hatásról feltételezik, hogy az a sejtmagban, kromatinszinten érvényesül. Az általunk izolált enzimeket a citoplazmában találtuk, míg vizsgálataink további részében a humán tonsilláris lymphocyták magjában tanulmányoztuk a proteinkináz aktivitást. Hasonlóan más sejtek magjából nyert kivonatokhoz, a humán tonsilláris lymphocyta magjából nyert kivonat is hisztonkináz aktivitással rendelkezik és cAMP independensnek bizonyult. Azonban a magkivonatban olyan jelentős mennyiségű cAMP-kötő fehérjét találtunk, amely nem származhatott a sejtek feltárásakor a plazmából a maghoz keveredő szennyezésből. DEAE cellulóz kromatográfiás eljárással kimutatható volt a magban is a cAMP dependens hisztonkináz, de

VIII. táblázat

Borjú thymus H2b hiszton aminosav szekvenciája

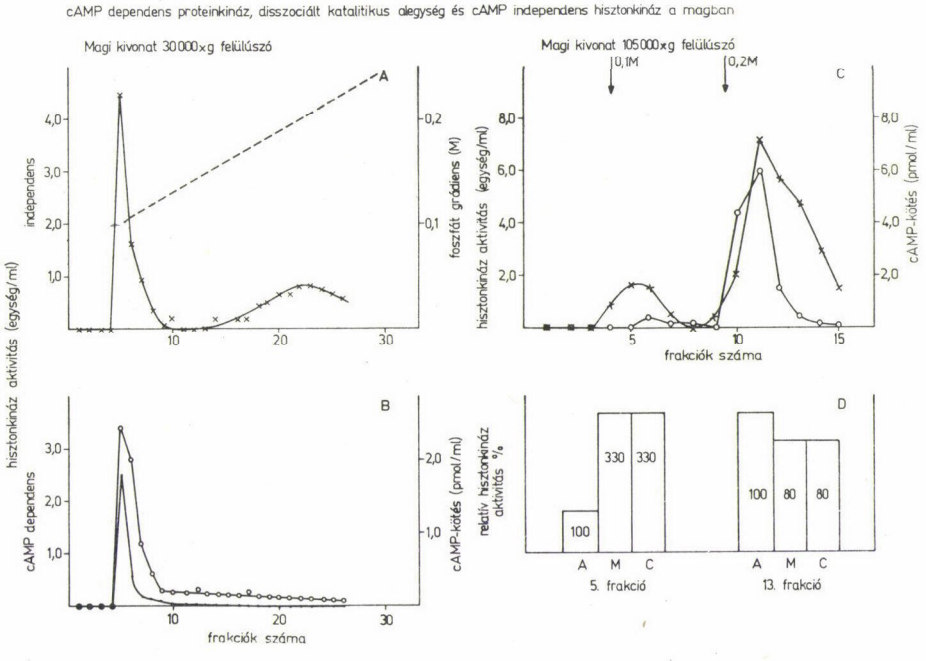
5 10 15 20
H_2N-Pro-Gln-Pro-Ala-Lys-Ser-Ala-Pro-Ala-Pro-Lys-Lys-Gly-Ser-Lys-Lys-Ala-Val-Thr-Lys-Ala-
25 30 35 40
Gln-Lys-Lys-Asp-Gly-Lys-Lys-Arg-Lys-Arg-Ser-Arg-Lys-*Glu-Ser-Tyr-Ser-Val-Tyr-Val-Tyr-Lys-*
45 50 55 60 65
Val-Leu-Lys-Gln-Val-His-Pro-Asp-Thr-Gly-Ile-Ser-Ser-Lys-Ala-Met-Gly-Ile-Met-Asn-Ser-Phe-
70 75 80 85
Val-Asn-Asp-Ile-Phe-Glu-Arg-Ile-Ala-Gly-Glu-Ala-Ser-Arg-Leu-Ala-His-Tyr-Asn-Lys-Arg-Ser-
90 95 100 105
Thr-Ile-Thr-Ser-Arg-Glu-Ile-Gln-Thr-Ala-Val-Arg-Leu-Leu-Leu-Pro-Gly-Glu-Leu-Ala-Lys-His-
110 115 120 125
Ala-Val-Ser-Glu-Gly-Thr-Lys-Ala-Val-Thr-Lys-Tyr-Thr-Ser-Ser-Lys-COOH

Iwai, K., Ishikawa, K. és Hayashi, H., Nature, 226. 1056 (1970).

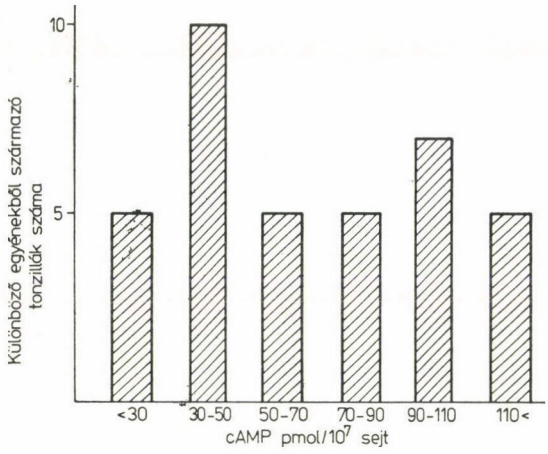
magi kivonatban a cAMP dependens enzim disszociált alegységei is megtalálhatók. Az irodalomból jól ismert az a tény, hogy a cAMP dependens proteinkináz cAMP hatására katalitikus és cAMP kötő regulátor alegységre disszociál. Ez magyarázhatja a magas cAMP receptor aktivitását a magi kivonatnak (43. ábra, Faragó és mtsai 1974).

A friss tonsilla lymphocyta cAMP tartalma igen magas más szövetek cAMP tartalmához viszonyítva. A sejtek átlagos cAMP tartalma 60 pmol/10^7 sejt, megközelítőleg 60 pmol/mg szövet körüli érték, azonban ha az egyedi tonsillákból származó lymphocyták cAMP tartalmát vizsgáljuk, kiderül, hogy ez nagyon széles határok között változik. Saját eredményeink (44. ábra) mellett feltüntetjük az irodalomban található, humán lymphocytákra vonatkozó adatokat is (IX. táblázat).

Az általunk vizsgált egyedi tonsillák nagy csoportjánál a cAMP szint 30—50 pmol/10^7sejt, ez az érték jól megegyezik a keringő vér-lymphocyták



43. ábra. A magi kivonatok DEAE cellulóz oszlopról eluálódó frakcióinak hisztonkináz aktivitását megmértük cAMP jelenlétében és cAMP nélkül (x-x-x-). A kettő különbségét tüntettük fel cAMP dependens aktivitásként (-•-•-). A és B ábrán (30 000x g felülúszó kromatográfiája) látható, hogy a frakciók cAMP-kötő aktivitása (○ - ○ - ○ -) nem teljesen párhuzamos a cAMP-dependens enzim-aktivitással. C ábrán (105 000x g felülúszó kromatográfiája) látható, a 0,1 M foszfáttal eluálódó disszociált katalitikus alegység, amelyik nem köt cAMP-t, és a 0,2 M foszfáttal eluálódó cAMP independens hisztonkináz. A jelentős cAMP-kötő aktivitás ellenére cAMP dependens proteinkináz holoenzim ebben a preparátumban nincs. D ábra a C ábrán elkülöníthető két hisztonkináz frakció relatív aktivitását mutatja. — A: 0,1 mg/ml H2b jelenlétében, M: 1,0 mg/ml H2b jelenlétében, C: 1,0 mg/ml H2b + cAMP jelenlétében.



44. ábra. Különböző tonsillákból nyert lymphocyták megoszlása cAMP tartalmuk szerint.

IX. táblázat

Humán lymphocyták cAMP tartalma

Sejt	Kezelés	cAMP tartalom pmol/10^7 sejt	Szerzők
Perifériás vér, lymphocyta	—	36,8	Wedner és mtsai 1975.
Perifériás vér, lymphocyta	—	25,8	Atkinson és mtsai 1975.
Izolált T-sejtek	—	5,3	”
Perifériás vér, lymphocyta	—	38,6	Shneyour és mtsai 1976.
Lymphocyta	tripszin	364,0	”
Thymocyta	—	1,4	”
Thymocyta	tripszin	4,8	”
Perifériás vér, lymphocyta	—	70,4	Niaudet és mtsai 1976.
Lymphocyta	isoproterenol	257,2	”
Thymocyta	—	12,4	”
Thymocyta	isoproterenol	78,0	”
Izolált T-sejtek	—	10,1	”
Tonsilla és adenoid sejtek		46,4	”

cAMP-tartalmára vonatkozó irodalmi adatokkal. A tonsillák jelentős részében azonban a lymphocyták cAMP tartalma olyan magas értékeket ér el, amelyeket perifériás lymphocyták esetén csak tripszines vagy isoproterenolos kezelés hatására találnak. A tonsilla-lymphocyták emelkedett cAMP szintje is a cAMP immunológiai reakciókban játszott szerepére utal.

A cAMP dependens lymphocyta enzimnek in vitro 37 °C-on, pH 7,0 körül már 10^{-7} M cAMP mellett is több mint a fele aktivált, disszociált állapotban van. A lymphocytában található 10^{-5} M nagyságrendű cAMP-koncentráció mellett érthető, hogy a magban (és a plazmában is) a cAMP dependens proteinkináz egy része disszociált formában van. A humán lymphocyta sejtenként 10^4 nagyságrendű cAMP-receptor (cAMP-t kötő regulátor alegység) molekulát tartalmaz.

Újabb vizsgálatainkban kimutattuk, hogy a cGMP parciálisan kompetitív gátolja a ^{3}H—cAMP kötődését a humán tonsilla lymphocytákból isolált cAMP dependens proteinkináz regulátor alegységéhez. A ^{3}H—cGMP kötődés Scatchard-analízise alapján a részlegesen tisztított proteinkináz preparátum egy nagy affinitású és egy kis affinitású cGMP-kötőhelyet tartalmaz. A cAMP hatására a nagy affinitású kötőhely eltűnik, míg a kis affinitású kötést a cAMP nem befolyásolja. A cAMP és cGMP-kötőhelyek nem azonosak (Faragó és mtsai 1977).

cAMP independens hisztonkinázokat más szövetekből is izoláltunk és azt összehasonlítottuk a humán tonsilláris lymphocytákból izolált enzimekkel. A más szövetekből izolált cAMP independens hisztonkináz enzimkinetikai tulajdonságai hasonlónak bizonyultak a lymphocytákból izolált independens hisztonkinázéhoz. A H2a és H2b hisztonok, amelyek asszociációra hajlamosak, enzimaktivitást gátló hatásúaknak bizonyultak 0,01 mg/ml-nél magasabb koncentrációban. Ez a jelenség H 1 hiszton szubsztrát esetében nem volt tapasztalható. A foszforilált H2a és H2b hisztonok triptikus peptidjeinek fingerprint analízise azt mutatta, hogy a lymphocyta enzim szubsztrátspecifitása azonos a más szövetből származó hisztokinázéval (Romhányi és mtsai 1977).

Összefoglalás: A humán tonsilla palatinából izoláltunk lymphocytákat. A humán tonsilla lymphocyták az izolálást követő 3—4 óráig inkorporálnak timidint. A nagy átmérőjű sejtek (blastok) a kultúrából eltűnnek, nyugvó kis lymphocytákká alakulnak át. Ezzel egyidejűleg a DNS-polymeráz aktivitás is csökken a sejtekben. A lymphocyták felületén immunglobulinok találhatók, amely sejteknek azonban csak egy része immunglobulin szintetizáló sejt. A felületi receptorok fontos szerepet játszanak a membrán ATPáz hormon kölcsönhatású folyamatokban.

A lymphocyta membránból glikoprotein frakciót izoláltunk, amelynek biológiai aktivitását bizonyítottuk. A sejtmembrán más tulajdonságait, a helyi érzéstelenítők, antilymphocyta savók hatását tanulmányoztuk, amelyek

alapján a lymphocyta membránt az eucaryotákhoz hasonlóan fluid mozaik típusúnak találtuk. A tonsillák +4 °C-on történt tárolása a lymphocyták fehérjeszintetizáló képességét csökkenti, amelyet 37 °C-on történő előinkubálás helyreállít. A T- és B-sejtek UV.-érzékenységénél különbségeket találtunk. A T-sejtek membránreceptora UV.-fényérzékeny, míg a B-sejteké kevésbé. A T- és B-sejtek az ún. repair folyamatban különbséget mutatnak, amit a sejtek különböző transzportálóképességével hozunk összefüggésbe. A tonsilláris lymphocyták esetében azt találtuk, hogy a B-lymphocyták jelentősen több uridint vesznek fel és inkorporálnak, mint a T-sejtek. Ez a megállapítás a nyugalmi sejtpopulációra vonatkozik, míg a stimulált sejtpopulációban a T-sejtek vesznek fel jelentősen több timidint a B-sejtekhez viszonyítva. A tonsilláris lymphocytákból lizozimet izoláltunk. A lizozimszintézist a tonsilláris sejtek ún. „L-lymphocyta" szubpopulációjában mutattuk ki. Megállapítottuk, hogy a tonsilláris lymphocyták in vitro körülmények között a médiumba citotoxinszerű anyagokat, továbbá DNS-t szekretálnak, amelynek szerepét összefüggésbe hozzuk a lymphocyták ellenanyag-szintézisével, ill. szintézis propagációjával más sejtekben.

A humán tonsilla palatina exstirpálható szerv. Ennek ellenére igen jelentős részét képezi a szervezet immunrendszerének, különös tekintettel a tonsilla palatina anatómiai lokalizációjára. A tonsilla az egyik legnagyobb nyirokszervünk, amely közvetlen kapcsolatban áll a külvilággal. Ilyenformán lehetőséget ad arra, hogy regionális immunfolyamatok indukálódjanak és a szervezet perorális immunizálásában fontos szerepet játszhat. Az immunfolyamatok gyógyszeres befolyásolása elkerülhetővé teheti a tonsilla palatina kiirtását, és funkciója az immunvédekező rendszer szabályozásában fokozottabbá válik. A tonsilla palatina lymphocyta elemeinek a pontosabb megismerése jó modellkísérleteket és eredményeket szolgáltat a humán immunfolyamatok megismeréséhez.

IRODALOM

Alexopoulos, C., Papayannis, A. G. és *Gardikas, C.:* Acta Haemat. **55,** 95 (1976).
Antoni, F.: Fül-Orr-Gégegyógy. **21,** 132 (1975).
Antoni, F.: Biomedizinische Tagung in Seibersdorf. (1977).
Antoni, F. és *Bojta, J.:* Biomedizinische Tagung in Seibersdorf (1977).
Antoni, F. és *Staub, M.:* Biochemical and Immunological Properties of Human Tonsillar Lymphocytes. Akadémiai Kiadó, Budapest (1978).
Antoni, F., Staub, M. és *Puskás, M.:* Orvostudomány **25,** 107 (1974).
Antoni, F. és *Puskás, M.:* 9th FEBS Meeting, Budapest abs: 470 (1974).
Antoni, F., Temesi, Á., Kiss, P., Puskás, M. és *Lipták, M.:* MBT. Pécs, II/21 (1977).
Atkinson, J. P., Wedner, H. J. és *Parker, C. W.:* J. of Immunology **115,** 1023 (1975).
Baló-Banga, J. M., Antoni, F. és *Altmann, H.:* Acta Physiol. Acad. Sci. Hung.: **44,** 101 (1973).
Bojta, J., Antoni, F. és *Temesi, Á.:* MBT. Pécs, I/33 (1977).
Burnet Macfarlane.: Self and Not-Self, Melbourne University Press. (1969).
Byus, C. V., Klimpel, G. R., Lucas, D. O. és *Russell, D. H.:* Nature **268,** 63 (1977).
Csuka, I., Farkas, Gy., Vincze, I. és *Antoni, F.:* 12th Ann. Meeting Eur. Soc. Radiat. Biol. Budapest, abs. 26 (1976).

Csuka, I., Vincze, I. és *Farkas, Gy.:* MBT. Pécs, S-3/3 (1977).
Faragó, A., Antoni, F., Takáts, A. és *Fábián, F.:* Biochim. Biophys. Acta **297,** 517 (1973).
Faragó, A., Antoni, F. és *Fábián, F.:* Biochim. Biophys. Acta **370,** 459 (1974).
Faragó, A., Romhányi, T., Antoni, F., Takáts, A. és *Fábián, F.:* Nature **254,** 88 (1975).
Faragó, A., Hasznos, P., Antoni, F. és *Romhányi, T.:* Biochim. Biophys. **538,** 493 (1978).
Farkas, Gy., Vincze, I. és *Antoni, F.:* MBT. Pécs, abs. III/11 (1977).
Greaves, M. F. és *Brown, G.:* J. Immunol. **112,** 420 (1974).
Heise, E. R. és *Myrvik, Q. N.:* J. Reticuloendothel. Soc. **4,** 510 (1967).
Hill, I. R. és *Porter, P.:* Immunology **26,** 1239 (1974).
Hindenburg, A., Spitznagel, J. és *Arnheim, N.:* Proc. Nat. Acad. Sci. USA. **71,** 1653 (1974).
Hollingsworth, J. W. és *Carr, J.:* Cell. Immunol. **8,** 270 (1973).
Hrabák, A., Antoni, F. és *T. Szabó, M.:* MIT. Pécs, abs. 18 (1973).
Hrabák, A., Antoni, F., T. Szabó, M. és *Merétey, K.:* FEBS 9th Meeting, Budapest (1974).
Hrabák, A., Antoni, F., T. Szabó, M. és *Merétey, K.:* MBT. Debrecen, abs. 140 (1975).
Hrabák, A.: MTA Biol. Oszt. Közl. **19,** 247 (1976).
Hrabák, A., Antoni, F. és *T. Szabó, M.:* IUPS 27. Kongresszus Páris, abs. 986 (1977).
Hrabák, A., Antoni, F., T. Szabó, M. és *Merétey, K.:* in press.
Hrabák, A., Antoni, F. és *T. Szabó, M.:* in press.
Iwai, K., Ishikawa, K. és *Hayashi, H.:* Nature **226,** 1056 (1970).
Köteles, G. J., Antoni, F. és *Szabó, L. D.:* Acta Physiol. Acad. Sci. Hung. **22,** 1 (1962).
Niaudet, P., Beaurain, G. és *Bach, M. A.:* Eur. J. Immunology **6,** 834 (1976).
Nossal, G. J. V.: The nature of the immune response. 181—183 p. in: Functional linkage in biomolecular systems. [Ed. by: F. O. Schmitt és D. M. Schneider] Chapter 8. New York, Raven Press. 350 p. (1975).
Paul, W. E. és *Benacerraf, B.:* Science **195,** 1293 (1977).
Piffkó, P., Köteles, G. J. és *Antoni, F.:* Pract. Oto-rhino-laryngol. **32,** 350 (1970).
Puskás, M., Antoni, F., Staub, M., Farkas, Gy. és *Piffkó, P.:* Pract. Oto-rhino-laryngol. **34,** 160 (1972).,
Puskás, M., Staub, M. és *Antoni, F.:* Biochem. Med. **13,** 359 (1975).
Puskás, M., Staub, M. és *Antoni, F.:* Biochem. Biophys. Acta, Suppl. 193 (1975).
Puskás, M. és *Antoni, F.:* 3rd European Immunology Meeting (1976).
Puskás, M., Antoni, F. és *Jobbágy, A.:* MBT. Pécs, abs. P-1/39 (1977).
Rogers, J. C., Boldt, D., Kornfeld, S., Skinner, S. A. és *Valeri, C. R.:* Proc. Nat. Acad. Sci. USA. **69,** 1685 (1972).
Rogers, J. C.: Proc. Nat. Acad. Sci. USA. **73,** 3211 (1976).
Romhányi, T., Faragó, A., Antoni, F. és *Sajgó, M.:* 11th FEBS Meeting Copenhagen, abstract LA 105 (1977).
Sasvári-Székely, M., Staub, M. és *Antoni, F.:* Stud. Biophys. **50,** 161 (1975).
Sasvári-Székely, M., Vitéz, M., Staub, M. és *Antoni, F.:* Biochem. Biophys. Acta **395,** 221 (1975).
Schechter, I.: 11th FEBS Meeting Copenhagen (1977).
Scott, D. W. és *Josephs, S. H.:* Cell. Immunol. **20,** 64 (1975).
Shneyour, A., Patt, Y. és *Trainin, N.:* J. of Immunology **117,** 2143 (1976).
Staub, M., Warner, H. R. és *Reichard, P.:* Biochem. Biophys. Res. Comm. **46,** 1824 (1972).
Staub, M., Faragó, A. és *Antoni, F.:* First International Collogvium, Várna, p. 409. Plenum, New York (1975).
Staub, M., Antoni, F. és *Sellyei, M.:* Biochem. Med. **15,** 246 (1976).
T. Szabó, M. és *Antoni, F.:* Acta Biochim. Biophys. Acad. Sci. Hung. **10,** 31 (1975).
T. Szabó, M., Antoni, F. és *Hrabák, A.:* közlés alatt.
Szamel, M., Somogyi, J. és *Antoni, F.:* MÉT. Vándorgyűlés, Budapest, abs. 59 (1976).
Szamel, M., Varró, A., Somogyi, J. és *Antoni, F.:* MBT. Pécs, abs. 46 (1977).
Várterész, V., Köteles, J. G., Antoni, F. és *Szabó, L. D.:* Int. J. Radiat. Biol. **6,** 541 (1963).
Wedner, H. J., Dankner, R. és *Parker, C. W.:* J. of Immunology **115,** 1682 (1975).

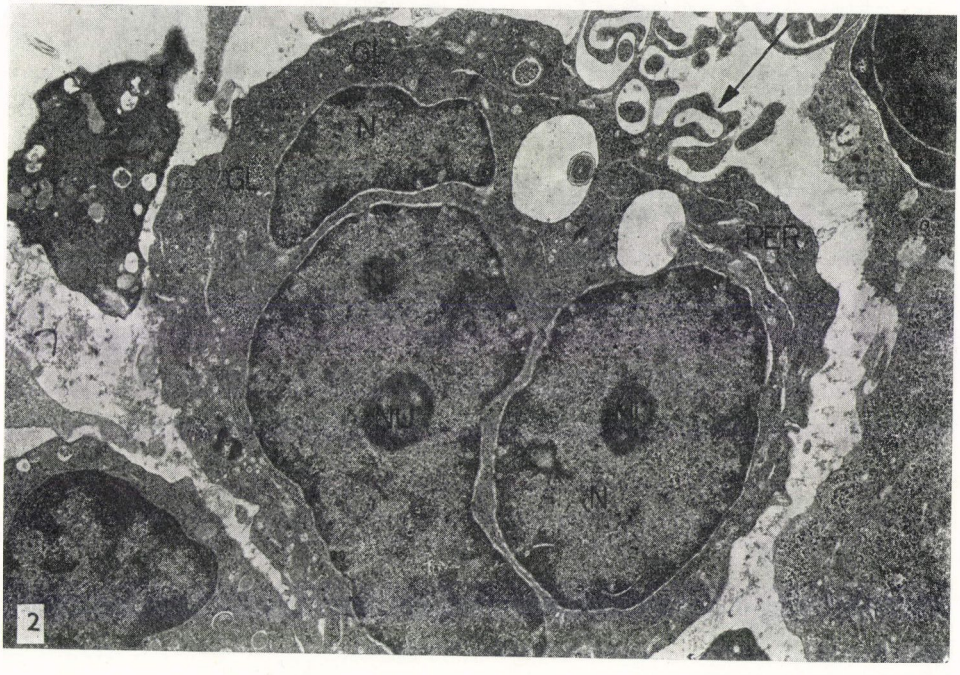
1828—1978

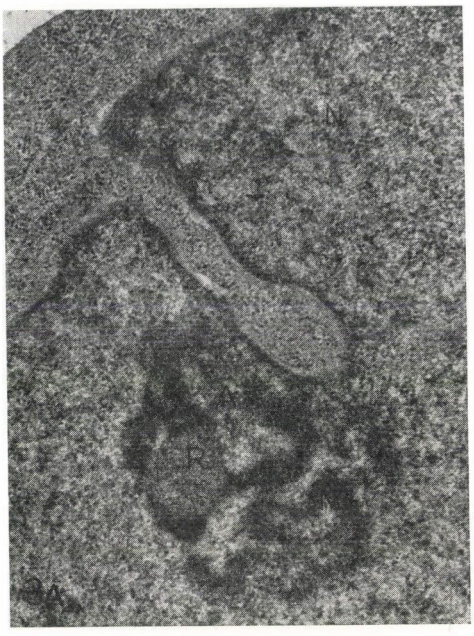
MEGJELENT
AZ AKADÉMIAI KÖNYVKIADÁS
150. ÉVÉBEN

A kiadásért felel az Akadémiai Kiadó igazgatója. Műszaki szerkesztő: Sándor István
A kézirat nyomdába érkezett: 1977. XII. 7. — Terjedelem: 16,10 (A/5) ív

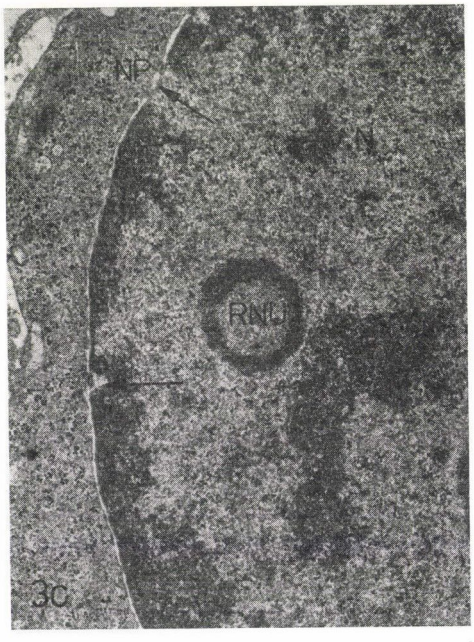
78.5251 Akadémiai Nyomda, Budapest — Felelős vezető: Bernát György

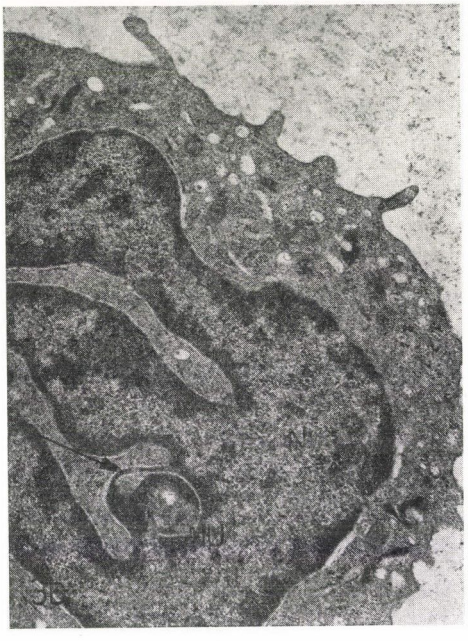

GP
N
G
GR
RER
N
GR
1

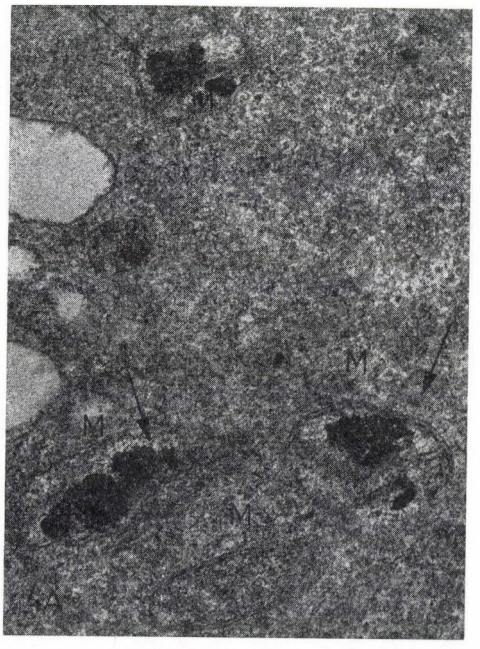

GL
N
GL
RER
N
2


N
3A

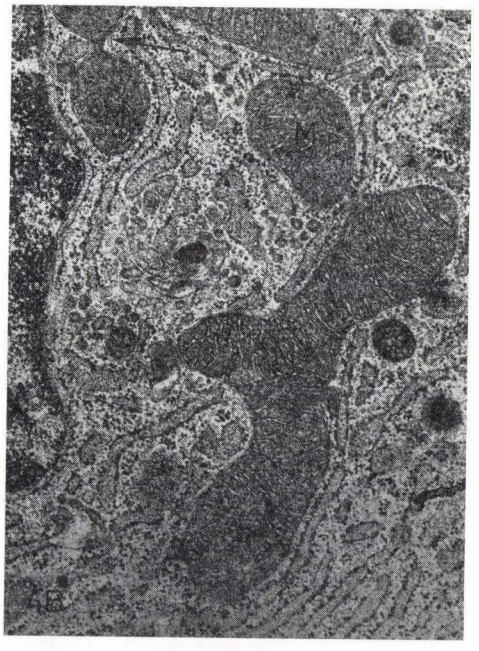

N
3B


NP
N
RNU
3C

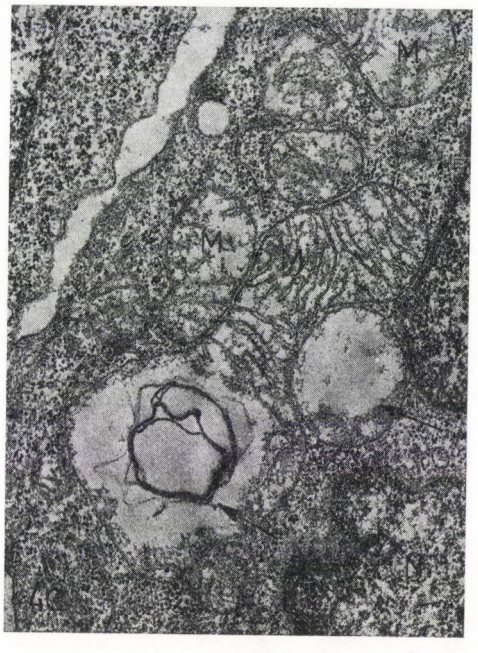

N
3D



4A



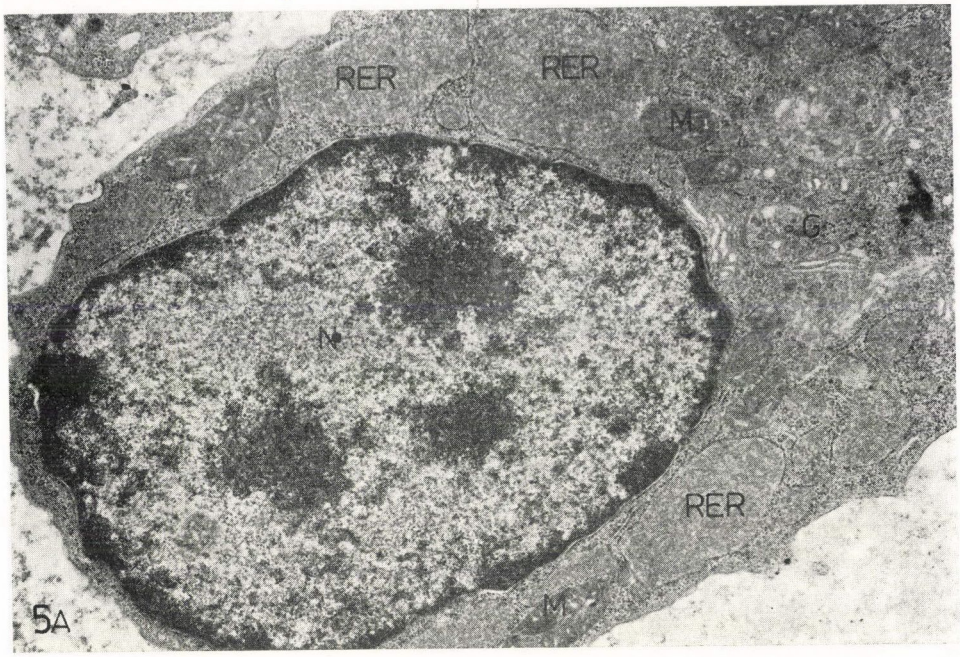
4B



4C

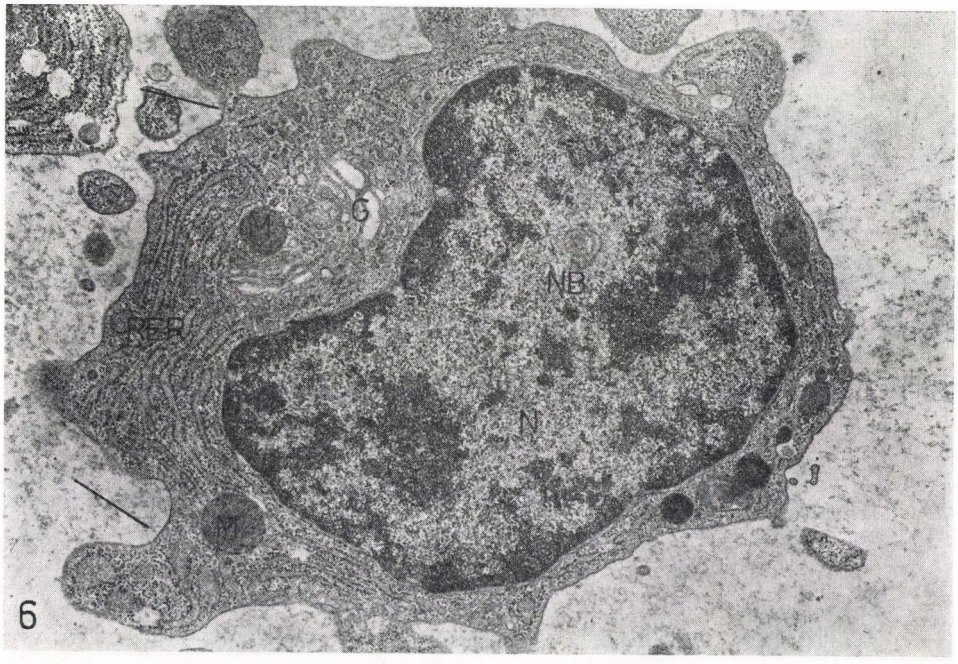


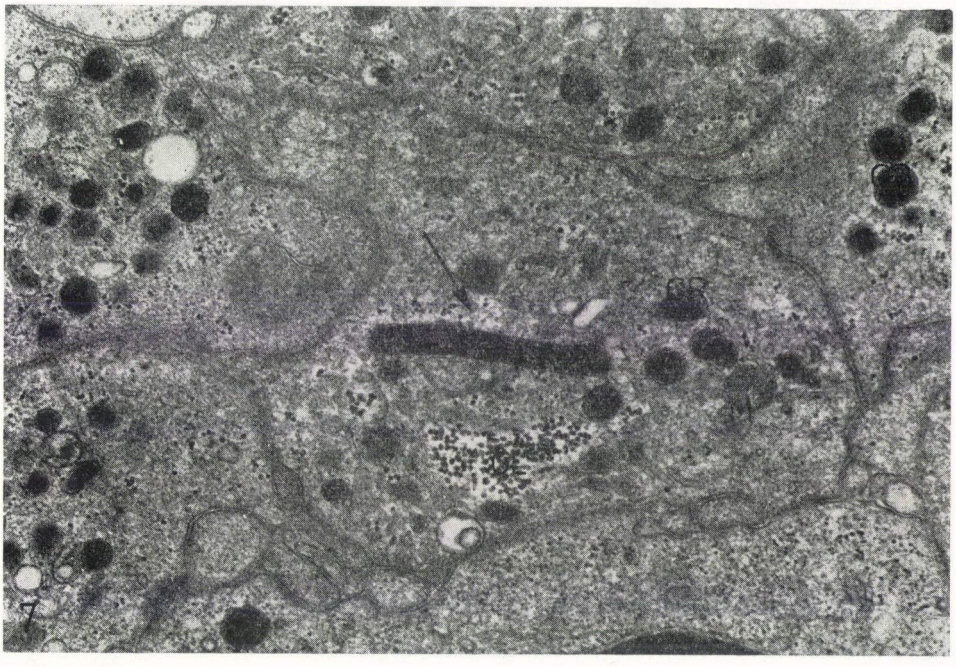
4D

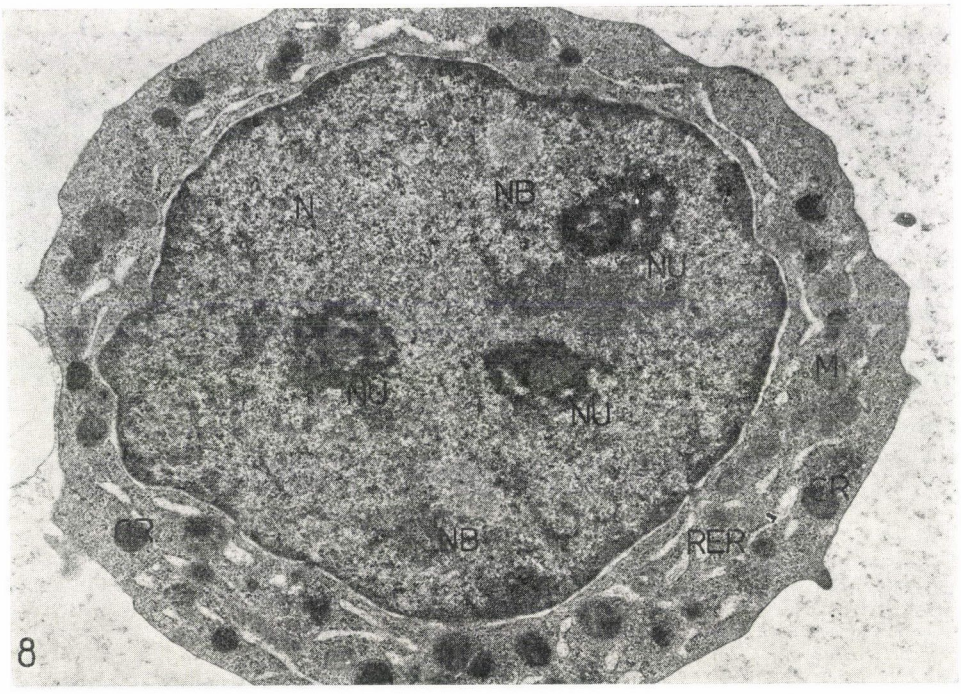

RER
RER
M
G
N
RER
M
5A


M
RS
RS
5B

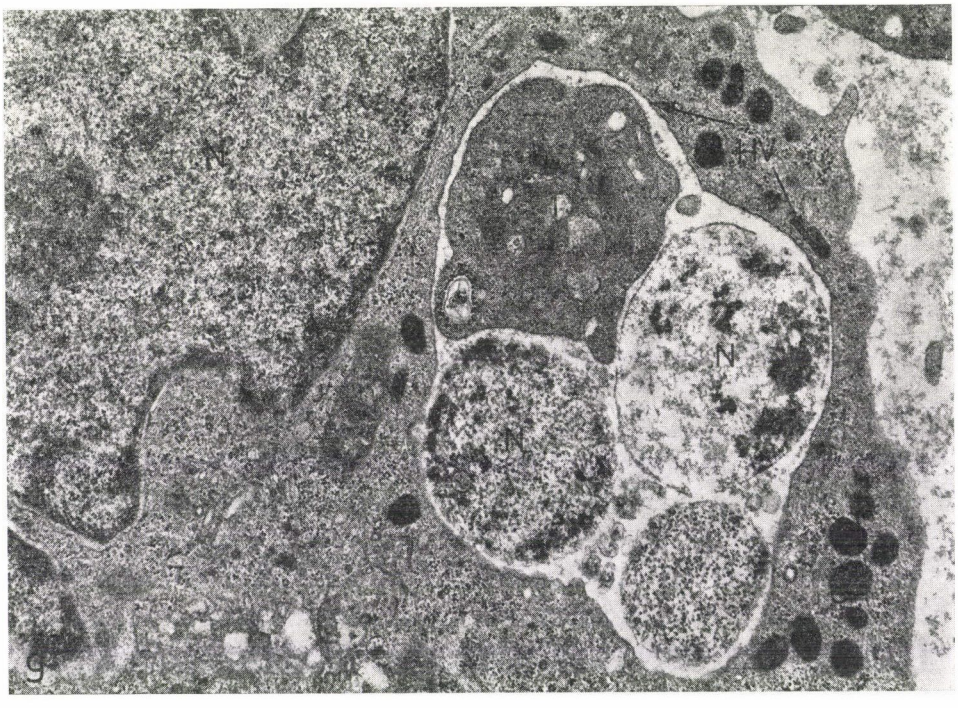

M
RER
M
RB
5C


G
NB
RER
N
M
6

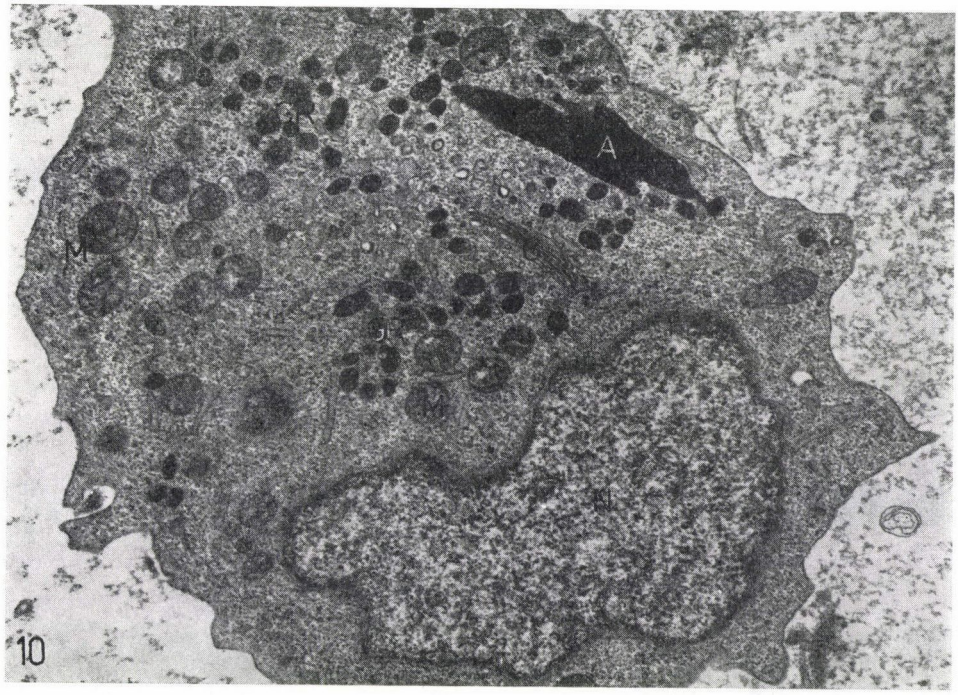

GR
7

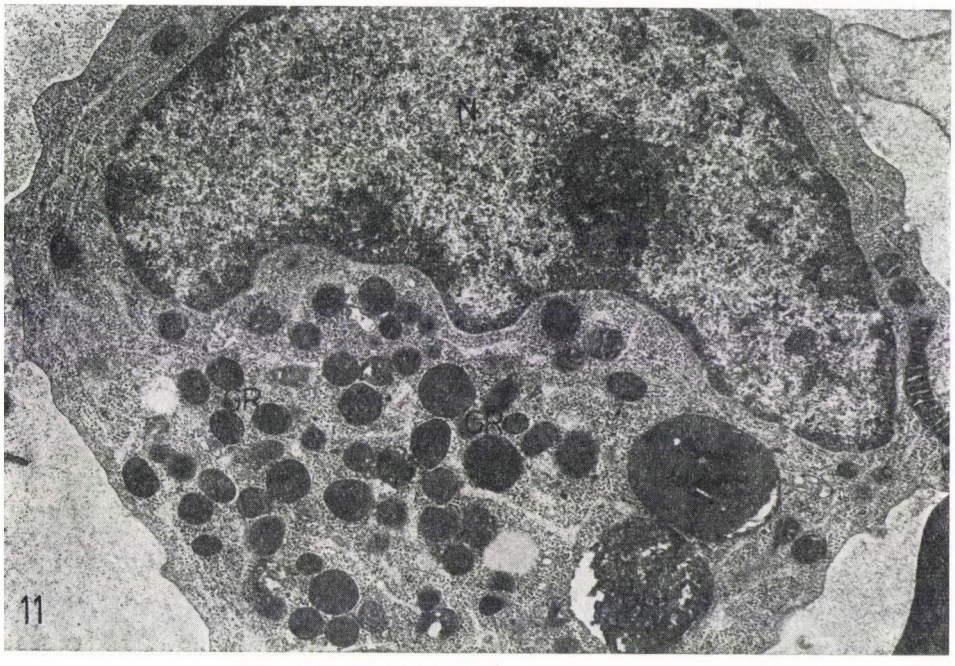


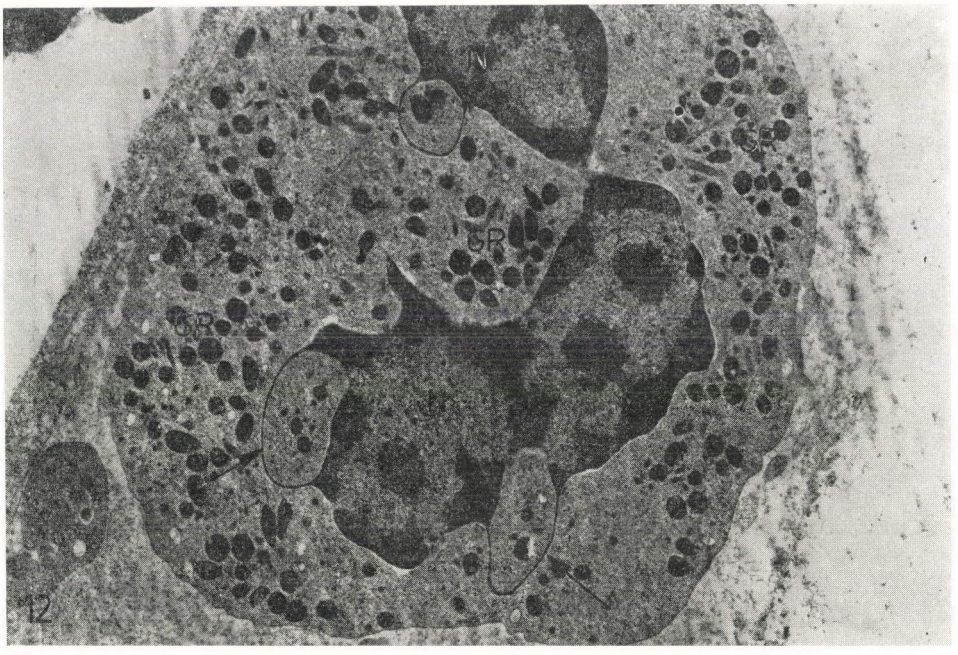
8



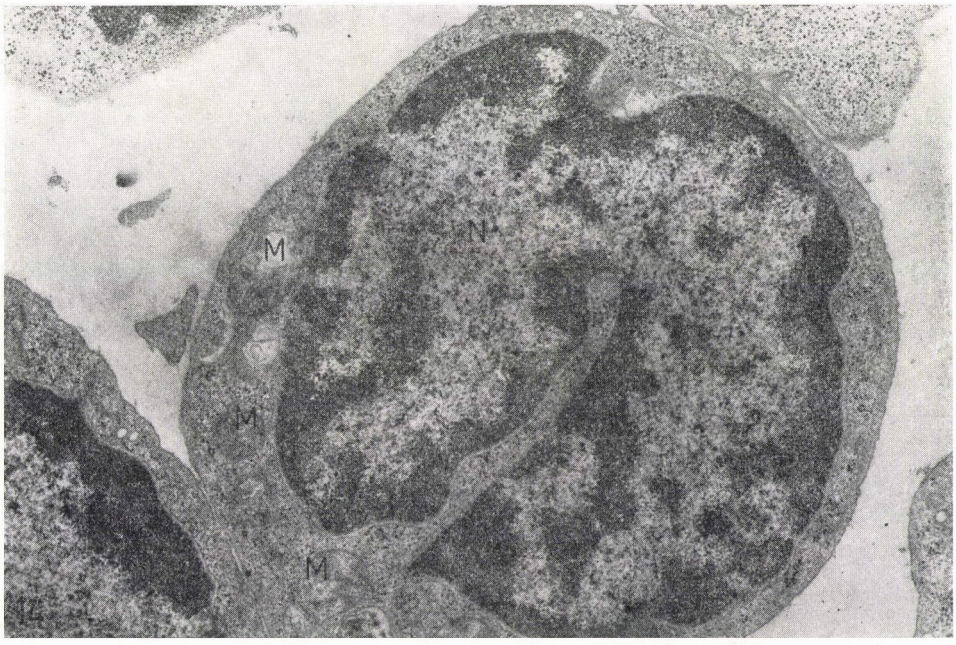
9


A
M
M
N
10


N
GR
GR
11

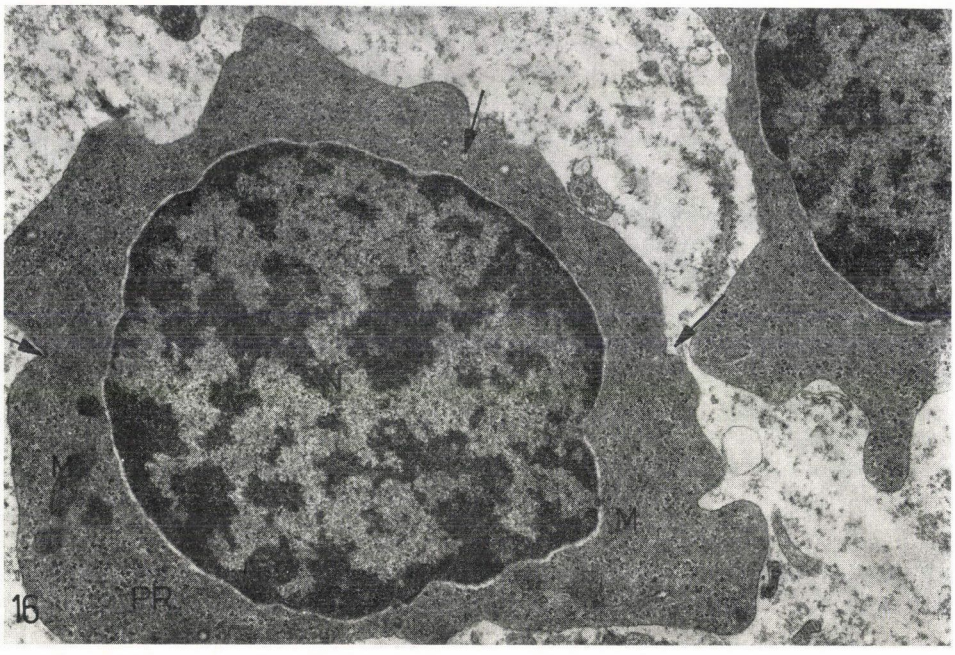

N
GR
GR
GR
12


GR
N
RER
M
N
13
M
RER

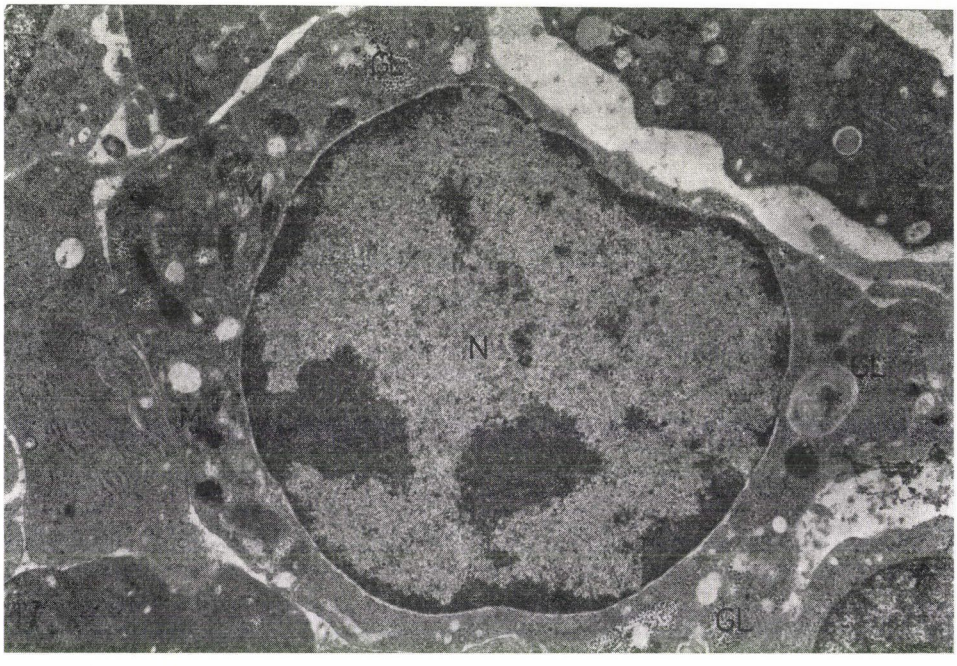




15



16



17

1. ábra: A kis nagyítású elektronmikroszkópos felvételen szembetűnők a bizarr alakú sejtmagok (N). A sejtek cytoplasmájában durva felszínű endoplasmás reticulum (RER) szegmentumok, Golgi-komplexek (G), és elektrondenz granulumok (GR) találhatók. Acut myeloid leukaemia; csontvelő, myeloblastok.

Nagyítás: 6 000× (109 716)

2. ábra: A sejtmagokban (N) a heterochromatin kondenzáció késik, centralisan nucleolusok (NU) persistálnak. Az érett cytoplasmában durva felszínű endoplasmás reticulum (RER) lamellák láthatók. Fokozott sejtfelszíni aktivitás jelei figyelhetők meg, ami rendszerint megelőzi a sejtmag kilökődését (nyíl) Glycogén, (GL). Többmagvú erythroblast. DiGuglielmo-syndroma.

Nagyítás: 12 000× (108 912)

3a. ábra: A myeloblast laza, reticularis szerkezetű nucleolusában finom fibrillumokból felépülő pars amorpha (A) és granularis szerkezetű pars reticulosa (R) különíthető el. A cytoplasma mélyen invaginálódik a nucleolus szomszédságában (nucleolaris marginizatio). Acut myeloid leukaemia; perifériás vér.

Nagyítás: 21 200× (110 151)

3b. ábra: Nucleolus segregatio. A fibrillaris komponensek a granularis komponensektől erősen elektrondenz, homogén mezők formájában különülnek el (nyíl). A nucleolus állományában helyenként felismerhetők a mérsékelten elektrondenz, fibrilláris komponensek is. — Erythroleukaemia; csontvelő, erythroblast.

Nagyítás: 26 400× (108 775)

3c. ábra: Gyűrű alakú nucleolus (RNU). A fibrilláris szerkezetű centrális részt gyűrű alakban veszi körül a denzebb nucleolonema. A magmembrán folytonosságát magpórusok (NP) szakítják meg, melyekben a kis nagyítású felvételen is jól látszik a diaphragma (nyíl). — Erythroblast. DiGuglielmo-syndroma.

Nagyítás: 16 800× (108 783)

3d. ábra: A nucleolus (NU) szomszédságában magi csatorna látható, ami intranucleáris vesiculává szélesedik (nyíl). — Acut myeloid leukaemia; csontvelő, myeloblast.

Nagyítás: 13 600× (110 115)

4a. ábra: Vas tartalmú mitochondriumok; A mitochondriumok (M) mátrixában igen elektrondenz, amorph, vas tartalmú particulumok találhatók. Helyenként még felismerhetők a mitochondrium cristák, illetve a külső és belső mitochondrium membrán (nyíl). — Acut myeloid leukaemia; reticulocyta csontvelőben

Nagyítás: 49 500× (109 721)

4b. ábra: A lamelláris típusú mitochondriumokban (M) a mitochondrium mátrix elektrondenz. Az egyik mitochondrium bizarr alakú, megnagyobbodott. Az ábra bal felső sarkában a mitochondrium membránok befűződése a mitochondriumok „osztódására" utal. (nyíl) — Myeloma; csontvelő, plasmasejt.

Nagyítás: 21 200× (109 137)

4c. ábra: Hydropicus degeneratio jeleit mutató mitochondriumok (M), melyekből néhány helyen teljesen eltűntek a cristák és a mitochondrium mátrix (nyíl). Az egyik mitochondriumban laza, lamelláris ozmiofil structura látható. — Acut lymphoid leukaemia. Perifériás vér.

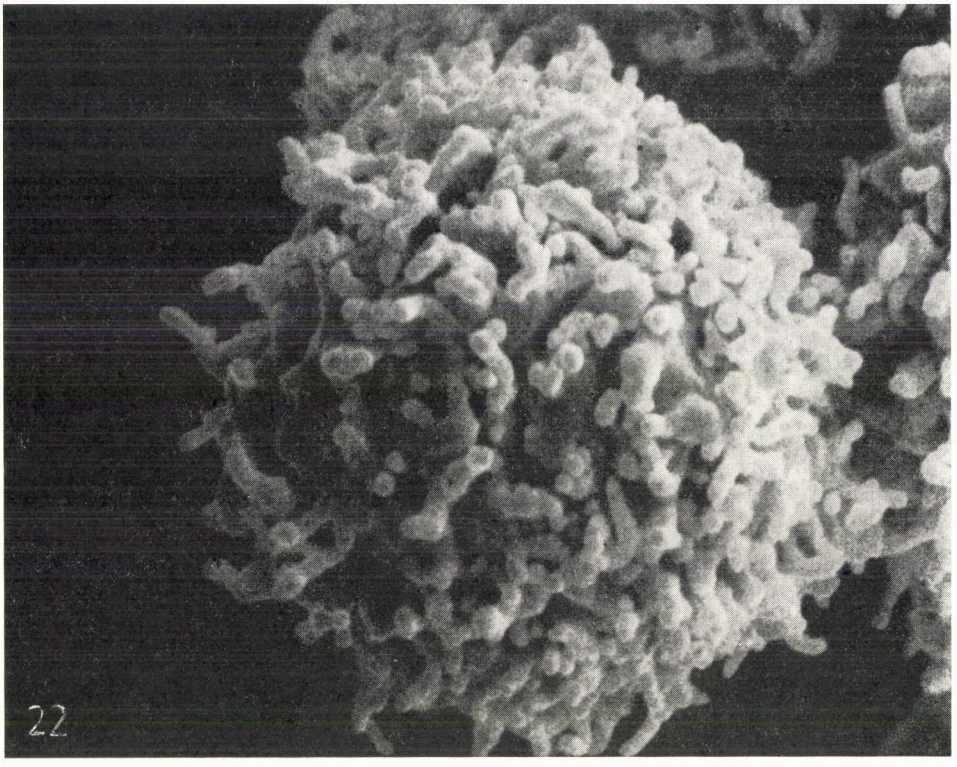
Nagyítás: 21 500× (110 121)

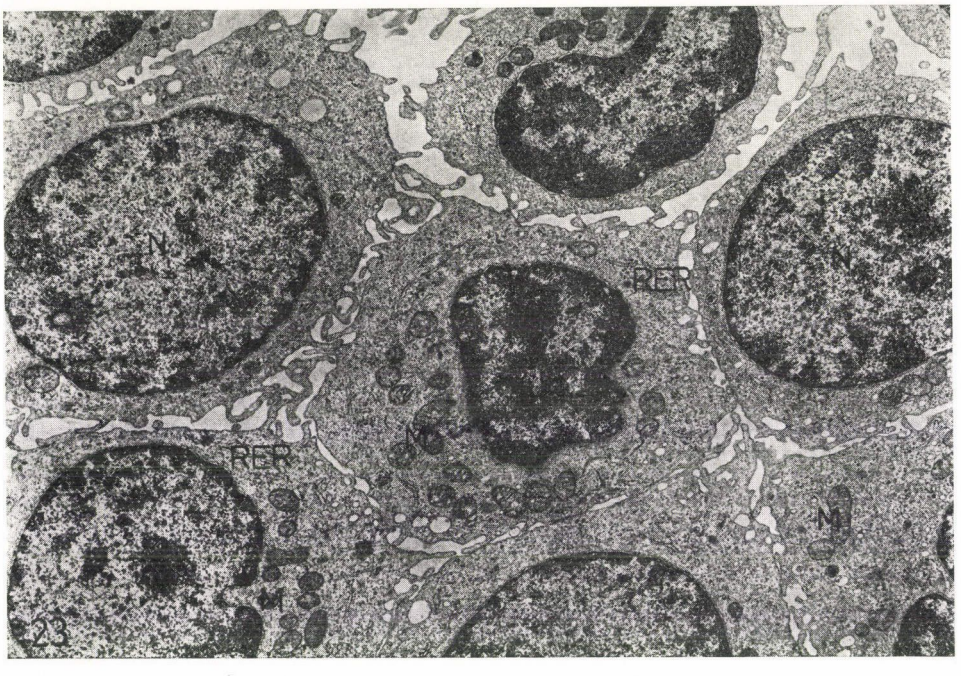
4d. ábra: Mérsékelten duzzadt mitochondriumok (M). A cristák töredezettek, az egyik mitochondrium mátrixában szabályos, kristályszerű structura (nyíl) transzverzális metszete látható. — Szőrös sejtes leukaemia, perifériás vér.

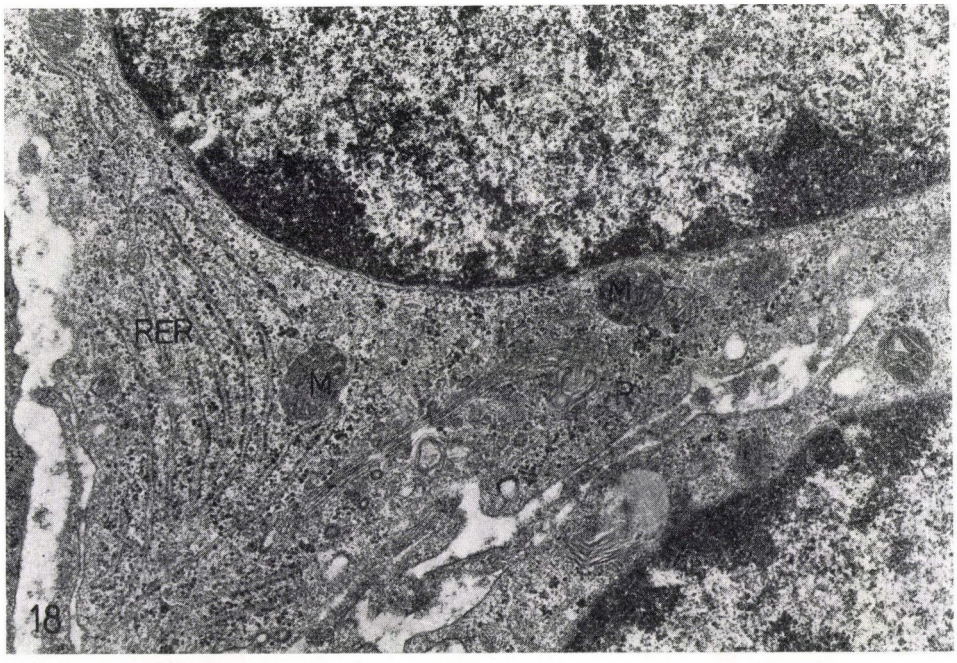
Nagyítás: 46 400× (110 434)

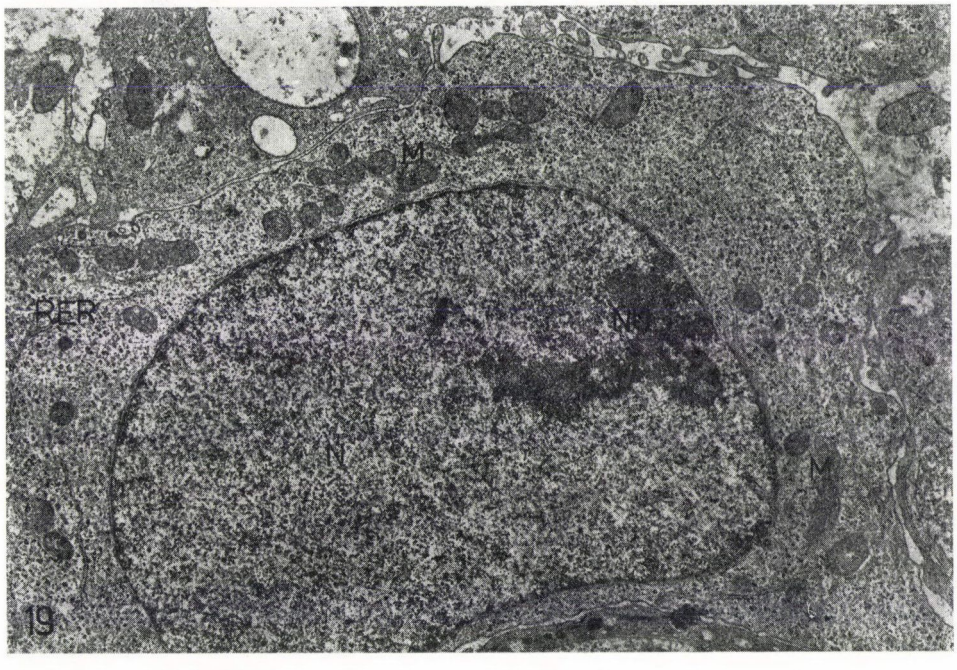
5a. ábra: A plasmasejt cytoplasmájában extrém mértékben kitágult durva felszínű endoplasmás reticulum (RER) sacculusok találhatók, melyeket közepesen elektrondenz, finom szerkezetű anyag tölti ki. A sejtmag (N) közelében mérsékelten tágult Golgi-membránokon (G) kívül néhány mitochondrium látható (M). — DiGuglielmo-syndroma; csontvelő

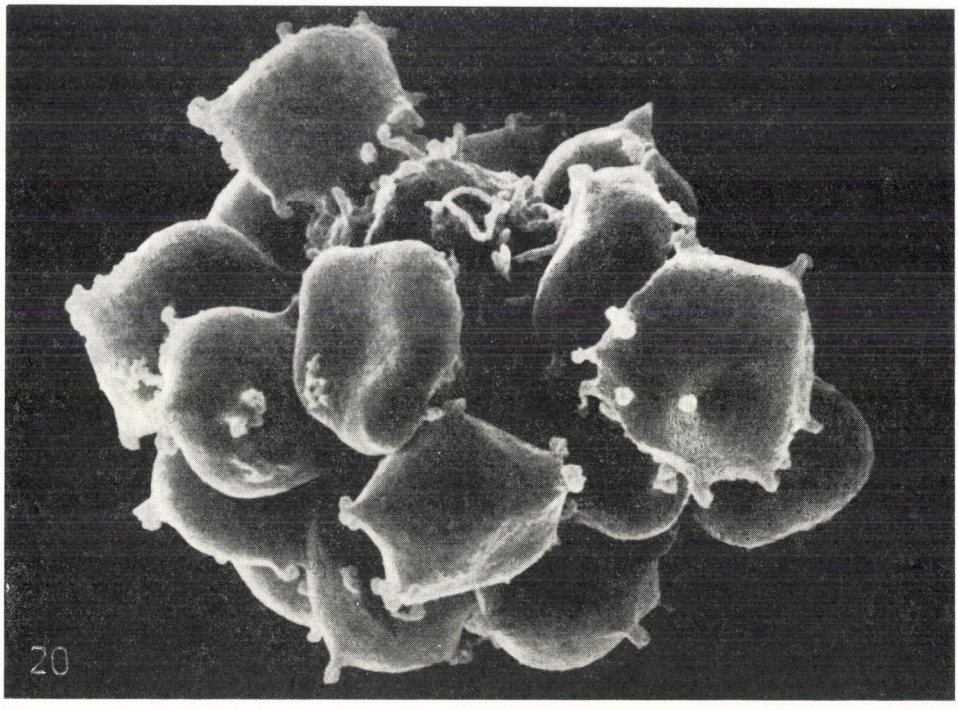
Nagyítás: 12 000× (108 064)

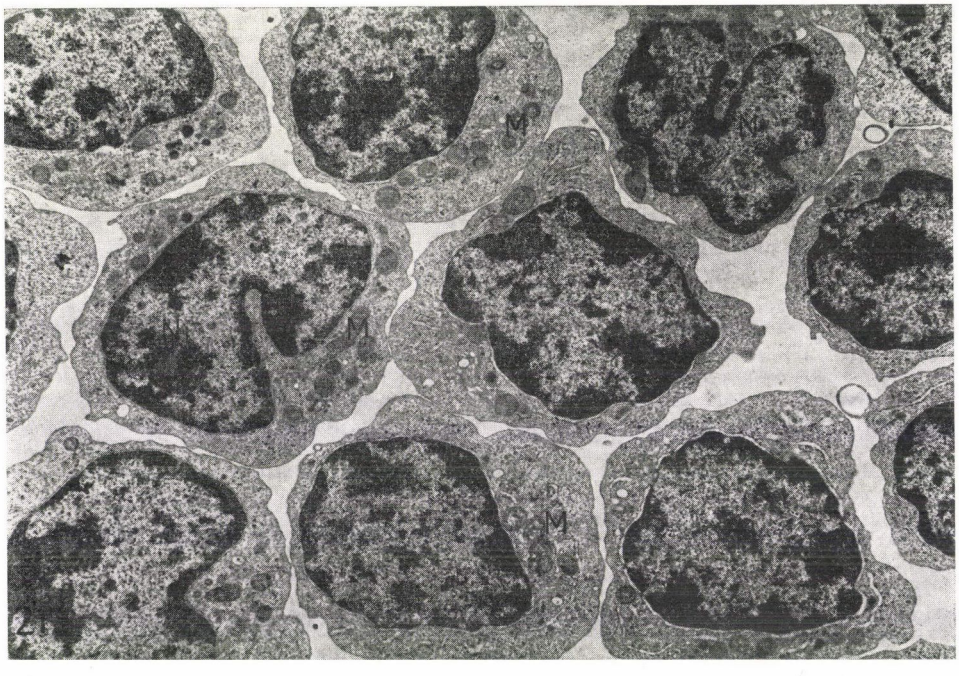

22


N
RER
RER
M
M
23


N
M
RER
M
18


M
RER
N
N
M
19


20


M
M
M
M

5b. ábra: A tubuloreticularis structurák (TRS) kapcsolata helyenként világosan látszik a durva felszínű endoplasmás reticulum membránokkal (nyíl). Szőrös sejtes leukaemia; perifériás vér.
Nagyítás: 45 000× (110 448)

5c. ábra: Russel-testek (RB) képződése durva felszínű endoplasmás reticulum (RER) cysternákban. A különböző átmérőjű, kerekded, elektrondenz, glycoproteinekben gazdag granulumok „érési folyamat" után kijutnak a cytomatrixba (nyíl). Mitochondrium (M). — Myeloma; csontvelő, plasmasejt.
Nagyítás: 20 000× (109 141)

6. ábra: A sejtmagban a kevéssé elektrondenz euchromatin dominál. A karyoplasmában perifériásan hypertrophiás nucleolus (NU) és spirális elrendeződésű fibrilláris nuclear body (NB) látható. A cytoplasmában durva felszínű endoplasmás reticulum cysternák (RER) mellett Golgi-vesiculák (G) és mitochondriumok láthatók (M). A sejtfelszínen clasmacytosis jelei figyelhetők meg (nyíl). — Myeloma; csontvelő, plasmasejt.
Nagyítás: 12 000× (109 148)

7. ábra: A thrombocyták cytoplasmájában néhány elektrondenz membránnal határolt granulum (GR), egy bizarr alakú elongált granulum (nyíl) és glykogen részecskék (GL) láthatók. Mitochondrium (M). Acut promyelocyta leukaemia. —
Nagyítás: 2 000× (110 106)

8. ábra: A myeloblast sejtmagjában (N) több laza szerkezetű nucleolus (NU), illetve finom, fibrillaris szerkezetű nuclear body (NB) látható. A cytoplasmában számos durva felszínű endoplasmás reticulum szegmentum (RER) elektrondenz granulumok (GR) és néhány mitochondrium látható (M). — Acut myeloid leukaemia. Csontvelő.
Nagyítás: 12 500× (110 156)

9. ábra: Éretlen fagocytáló myeloblast. A membránnal határolt nagy heterophag vacuolumban (HV) bekebelezett thrombocyta (T) és karyolysis jeleit mutató sejtmagok (N) láthatók. Granulum (GR). — Acut myeloid leukaemia. Csontvelő.
Nagyítás: 18 700× (110 120)

10. ábra: A sejtmag (N) laza chromatin szerkezetű. A cytoplasmában néhány azur granulum (GR), egy finom kristály-structurát mutató Auer-pálca (A) és mitochondriumok (M) láthatók. Golgi készülék (G). Myeloblast, acut myeloid leukaemia. Csontvelő.
Nagyítás: 12 600× (114 201)

11. ábra: A cytoplasma granulumokkal zsúfolásig kitöltött (GR), ezenkívül két óriás granulum (OG) látható degeneratív jelenségekre utaló finomszerkezettel. Sejtmag (N). Nucleolus (NU). — Acut myeloid leukaemia. Relapsus. Csontvelő.
Nagyítás: 13 200× (111 487)

12. ábra: A sejtmag (N) széli részén vékony chromatin híddal határolt cytoplasma vesiculák (nyíl) láthatók. A cytoplasmát érett, elektrondenz granulumok (GR) töltik ki. Acut myeloid leukaemia. Csontvelő. Kezelés utáni remissio.
Nagyítás: 12 000× (107 294)

13. ábra: Asynchron fejlődésű granulocyta. Az érett, szegmentált mag (N) mellett a cytoplasmában csak néhány granulum figyelhető meg (GR). Néhol rövid szabálytalan durvafelszínű endoplasmás reticulum cysternák (RER) és mitochondriumok persistálnak (M). Acut myeloid leukaemia. Perifériás vér.
Nagyítás: 12 000× (110 168)

14. ábra: A lymphoblast sejtmagját (N) csaknem kettészeli egy mély hasadék. A cytoplasmában hydropicus degeneratio jeleit mutató mitochondriumok (M) láthatók. Acut lymphoid leukaemia. Perifériás vér.
Nagyítás: 13 500× (OsO_4 fixálás) (99 215)

15. ábra: A sejtmag szabálytalan alakú (N), szomszédságában microfibrillum köteg (MF) látható. A cytoplasmában kis méretű granulumok (GR), néhány rövid durvafelszínű endoplasmás reticulum szegmentum (RER) és mitochondriumok találhatók (M). Megfigyelhetők a sejtfelszíni aktivitás morfológiai jelei (nyíl). Monoblastos leukaemia. Perifériás vér.
Nagyítás: 12 000× (OsO_4 fixálás) (109 719)

16. ábra: Normál polychromasiás erythroblast human csontvelőben. A sejtmag (N) és a cytoplasma érése párhuzamosan halad. A cytoplasmában polyribosomák (PR) és mitochondriumok (M) láthatók. Jól megfigyelhetők a rhopheocytosis jelei (nyíl).
Nagyítás: 12 000 (106 942)

17. ábra: A sejtmag érése elmaradt a cytoplasmához viszonyítva (asynchronia). Az elektrondenz, haemoglobint tartalmazó cytoplasmában mono- és polyribosomák, glykogen depositumok (GL) mellett szembetűnnek az elektrondenz, vastartalmú mitochondriumok (M). — Pathologiás sideroblast. DiGuglielmo-syndroma.
Nagyítás: 10 000 × (108 069)

18. ábra: A normál erythroblastra jellemző polyribosomák helyett párhuzamos lefutású durvafelszínű endoplasmás reticulum cysternák (RER) és szabad ribosomák (R) láthatók. Sejtmag (N); mitochondrium (M). DiGuglielmo syndroma. Csontvelő.
Nagyítás: 20 000 × (108 057)

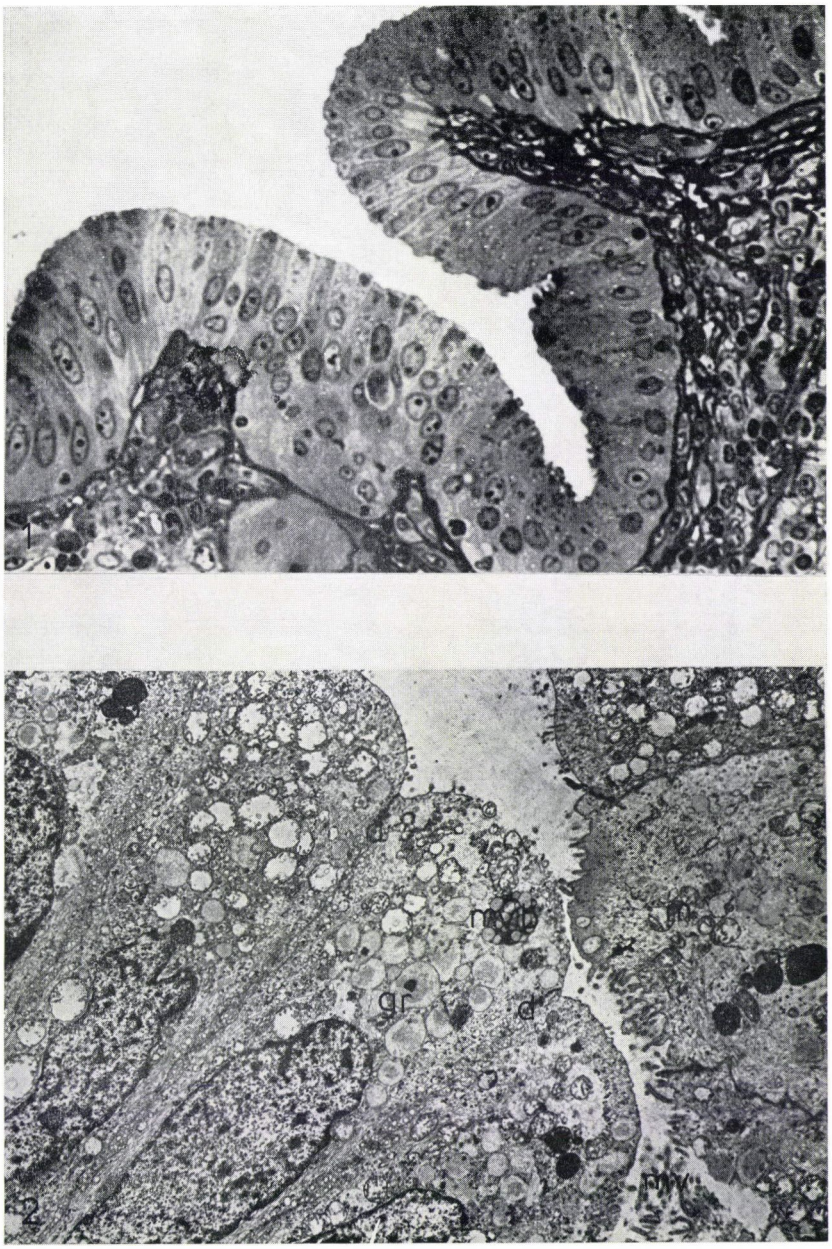
19. ábra: A megaloblast sejtmagja (N) elektronáteresztő, denz heterochromatint csak kis mennyiségben, a nucleolus (NU) szomszédságában tartalmaz. A cytoplasmában néhány durvafelszínű endoplasmás reticulum (RER) cysterna, monosomák és mitochondriumok (M) láthatók. Anaemia perniciosa. Csontvelő.
Nagyítás: 8 000 × (107 113)

20. ábra: Human T lymphocyta rozetta scanning elektronmikroszkópos képe. A birka vörösvérsejtek sphaero-echinocytáknak felelnek meg.
Nagyítás: 6 000 × (S 343/4)

21. ábra: Perifériás vérből izolált lymphocyták. Az érett sejtekre jellemző a heterochromatinban gazdag sejtmag (N) és a relative sok mitochondriumot tartalmazó cytoplasma (M). Chronicus lymphoid leukaemia.
Nagyítás: 5 000 × (106 283)

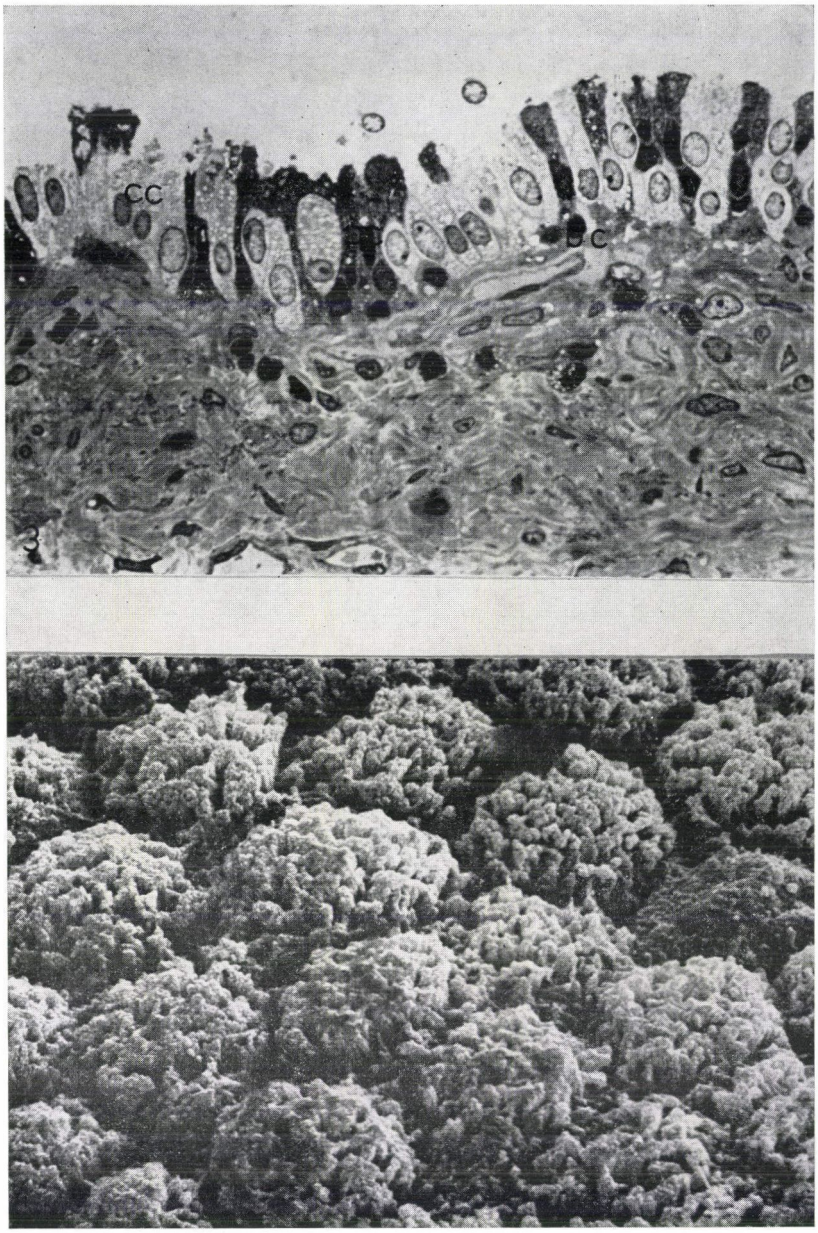
22. ábra: „Szőrös sejt" scanning elektronmikroszkópos képe. A sejtfelszínen számos karcsú villosus cytoplasma nyúlvány látható.
Nagyítás: 11 000 × (S 380/6)

23. ábra: A sejtek felszínén számos, organellumot nem tartalmazó cytoplasma nyúlvány látható. A sejtmagok (N) laza chromatin szerkezetűek. A cytoplasmában mitochondriumok (M) és durva felszínű endoplasmás reticulum szegmentek (RER) találhatók. Szőrös sejtes leukaemia. Perifériás vér.
Nagyítás: 6 000 × (106 594)

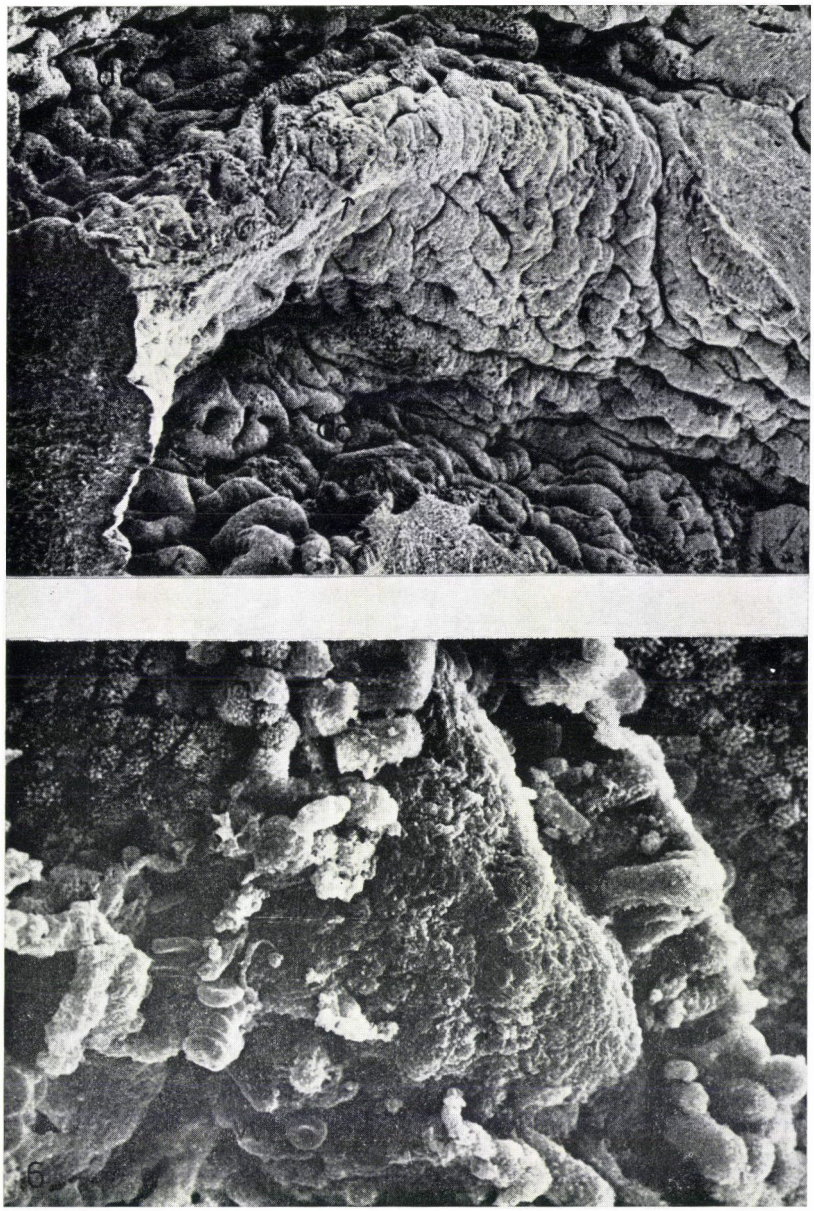


1. ábra. A Heister-billentyűt borító hám fénymikroszkopos képe félvékony metszetről. A hámréteg fő tömegét megnyúlt, oszlopszerű sejtek képezik, melyek hasonlóak az epehólyag hámsejtjeihez. A sejtmagok többnyire basalisan helyezkednek el. (Toluidinkék: 750 ×)

2. ábra. A Heister-billentyűt borító hám transmissiós elektronmikroszkopos felvétele. A lumen felé tekintő felszínen microvillusok (mv) láthatók. Az apicalis pólusban multivesicularis testecskék (mvb), dens testecskék (db) és membránnal határolt nyálka granulumok (gr) láthatók. A mitochondriumok (m) többsége subapicalisan helyezkednek el. A sejtek között desmosomák (d) láthatók. (Uranylacetát és ólomcitrát: 6480 ×)

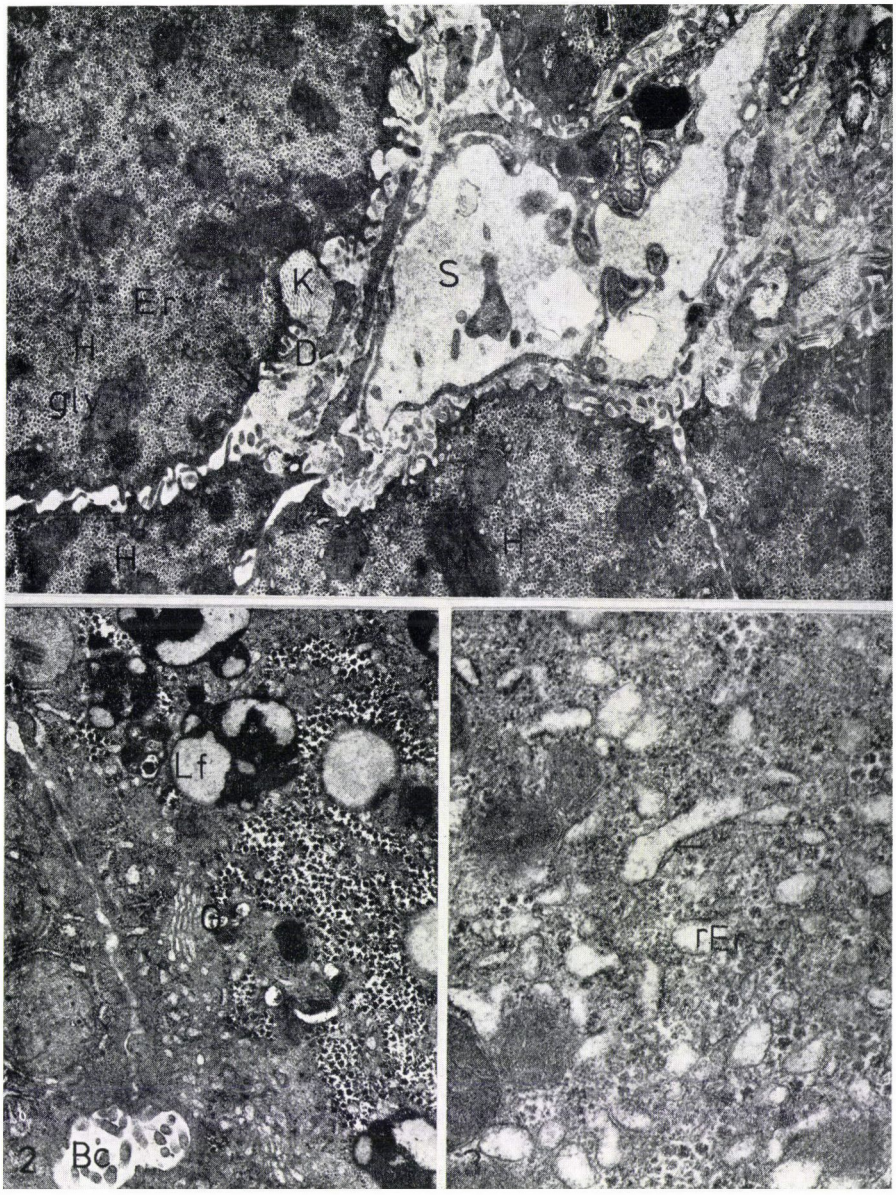


3. ábra. A Heister-billentyű fénymikroszkopos képe. Látható az epithelsejtek mindhárom típusa. Világos columnáris (cc) sötét pálcika alakú (pc) és basalsejtek (bc). (Toluidinkék: 1250 ×)
4. ábra. A Heister-billentyű scanning elektronmikroszkopos képe. Az epithel sejtek lumen felé tekintő, félgömbszerűen elődomborodó felszíne egyenetlen, a sejtek között mélyebb barázdák húzódnak. (17400 +)



5. ábra. A Heister-billentyű scanning elektronmikroszkopos képe. Látható a ductus cysticus (dc) lumenébe beemelkedő billentyű egy rövidebb szakasza, mely enyhén kanyargós lefutású. (↑) (174 ×)

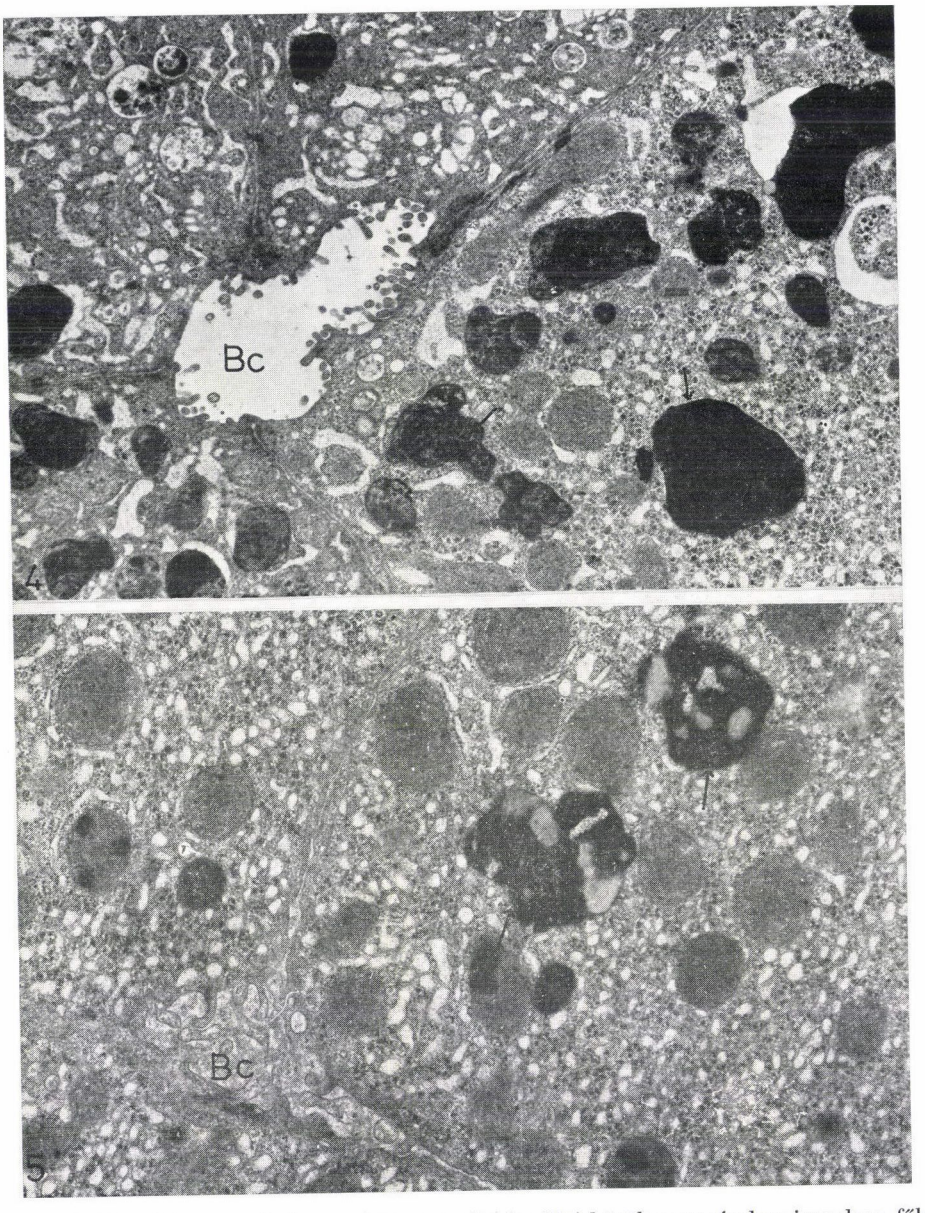
6. ábra. A Heister-billentyű scanning elektronmikroszkopos képe. A billentyű gerincén kis terjedésű hámfosztott terület látható, mely a környezettől élesen elhatárolódik. A széli részeken a hámsejtek duzzadtak és szabálytalanul illeszkednek össze (↑). A környezetet nyák és néhány vvt. borítja. A hámfosztott terület alapja egyenetlen. (1740 !)



1. ábra. Gilbert-kór. Sinusoid (S) körül elhelyezkedő májsejtek (H) vasculáris pólusának részletei, a megtömörült széli ektoplazmával (1). A Disse tér (D) tágult, helyenként kollagén rostok (K) is láthatók benne. A citoplazma bőven tartalmaz glikogént (gly), az endoplazmás retikulum (Er) vesicularizált, a mitokondriumok (M) parakrisztalloidokat tartalmaznak. (1. sz.: 51388) N:24 000 x

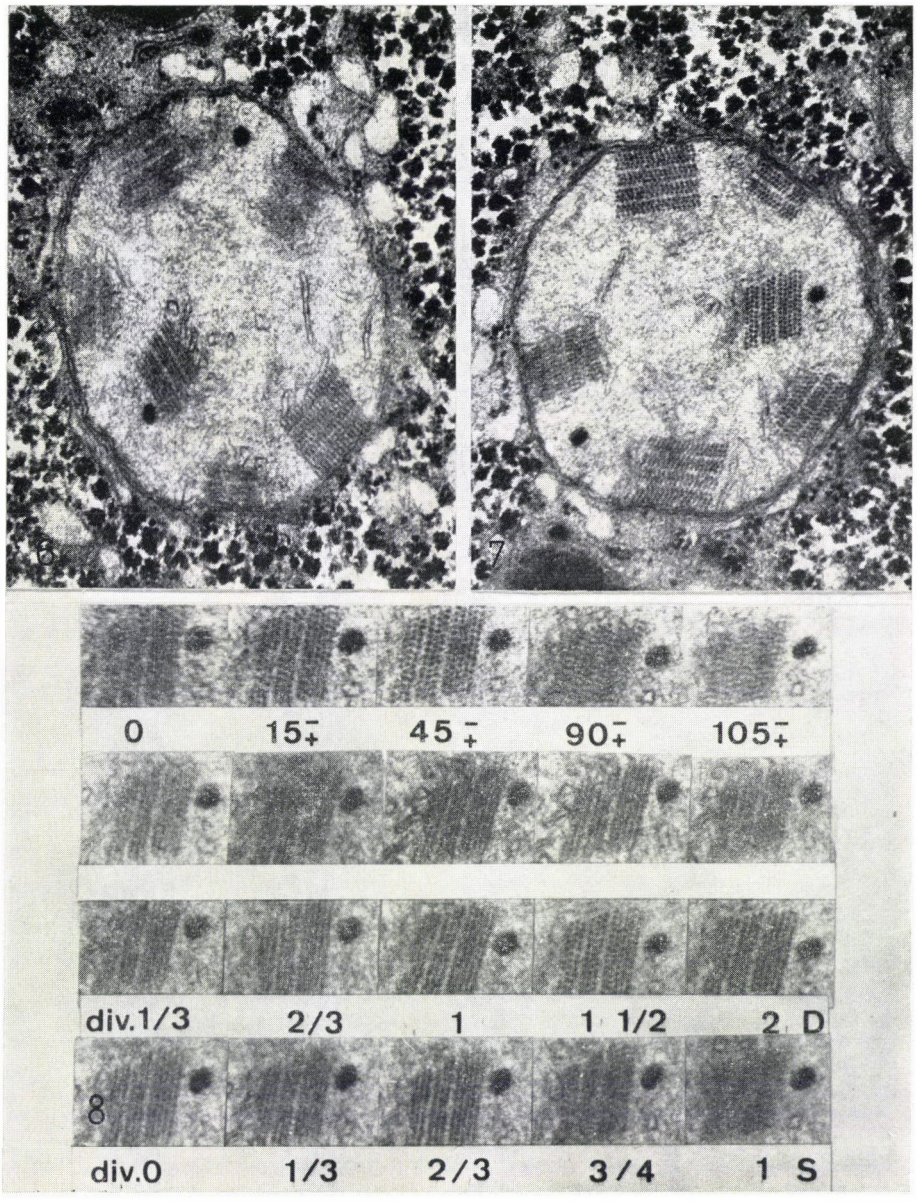
2. ábra. Gilbert-kór. Az epecanaliculus (Bc) körüli zónában elhelyezkedő Golgi-apparátus(G) tágult, lipofuszcin granulumok (Lf) szaporodtak fel. (1. sz.: 81122) N: 31 000 ×

3. ábra. Gilbert-kór. Májsejt citoplazmájának részlete. A durvafelületű endoplazmás retikulum (rEr) ciszternái tágultak, helyenként degranulálódtak (↑). (1. sz.: 50790) N: 35 000 ×



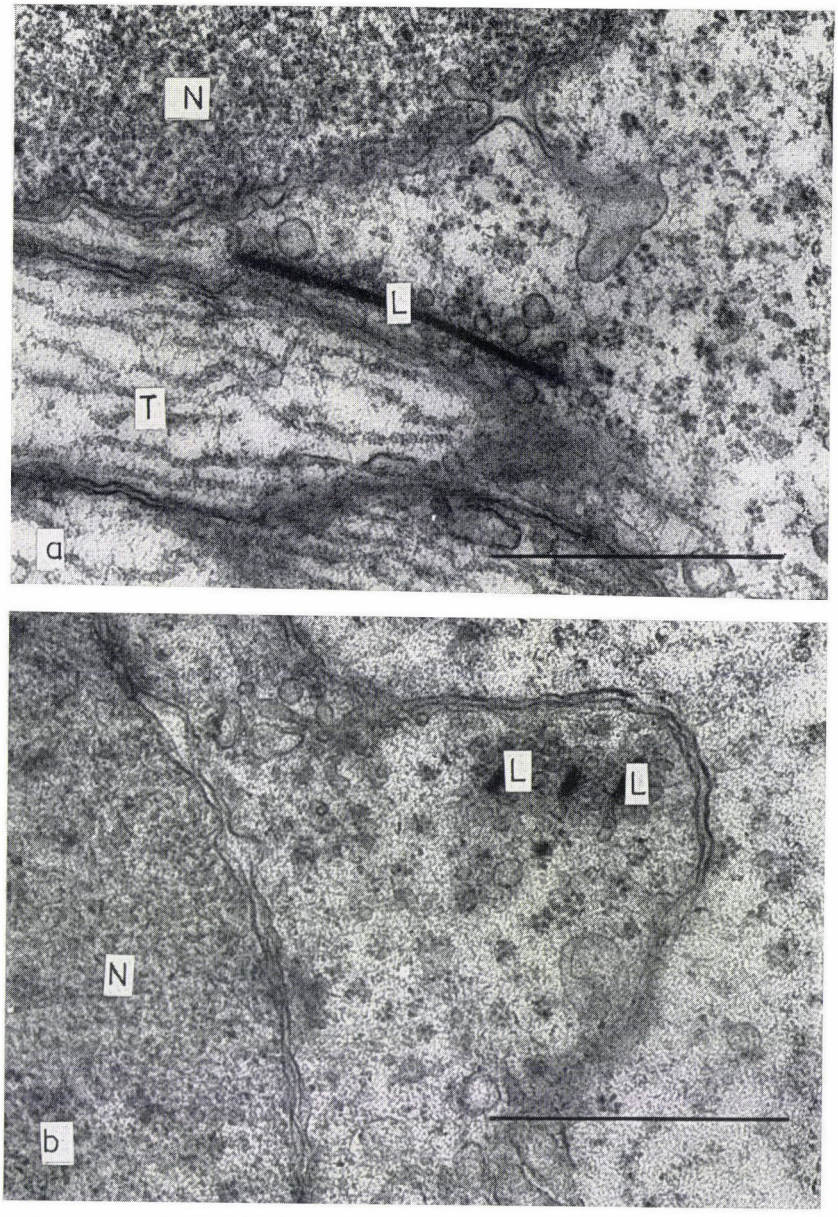
4. ábra. Dubin—Johnson-szindroma. Az epecanaliculus (Bc) körül nagyszámban igen denz, főleg granuláris komponensből álló pigmentrögök (↑) halmozódtak fel. (1. sz.: 102907) N: 9900 ×

5. ábra. Rotor-szindroma. Az epecanaliculus (Bc) körül denz pigmentgranulumok (↑) láthatók. (1. sz.: 103623) N: 16 5000 ×

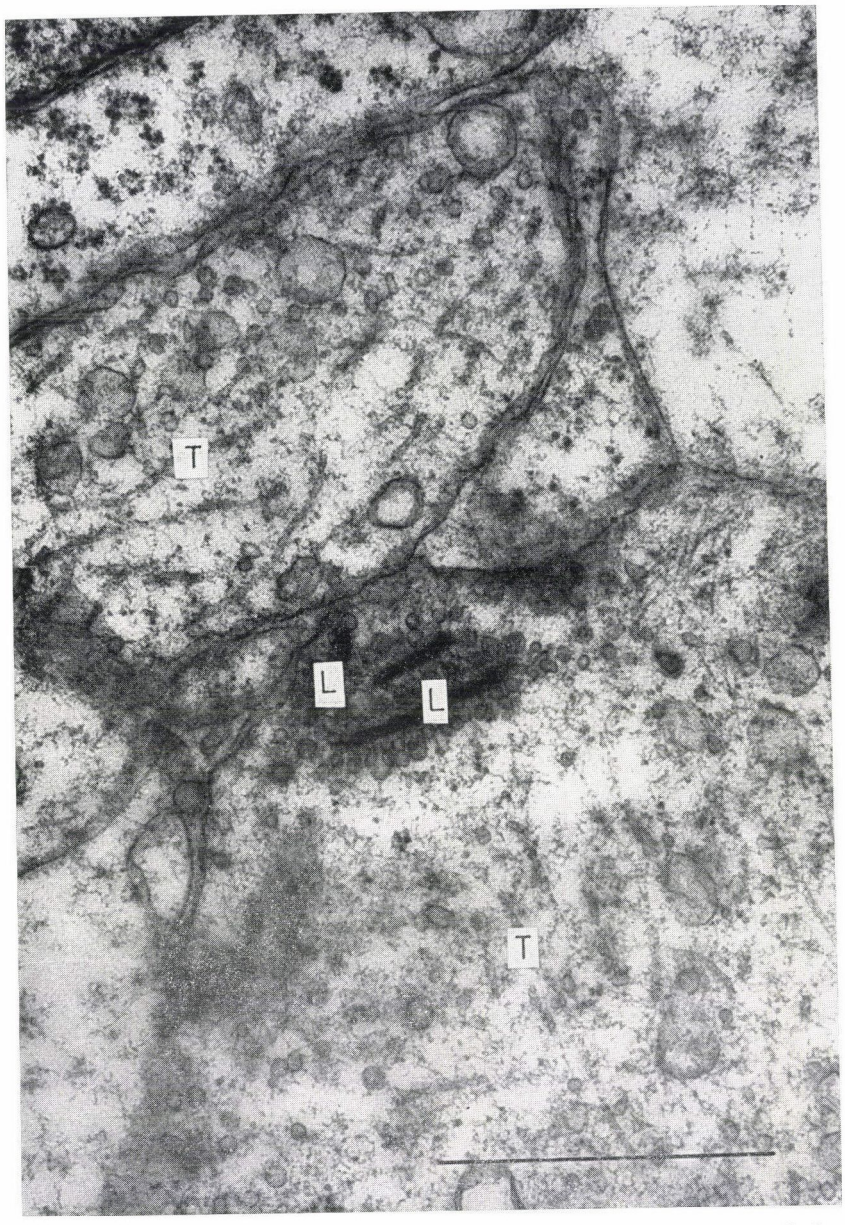


6—7. ábra. Gilbert-kór, parakrisztalloid tartalmú mitokondriumról készült goniometriás felvételek. A preparátum síkját a kiindulási helyzethez képest + 45°-kal elforgatva a granulummal „jelölt" inklúzió filamentózus szerkezetű. —45°-nál ugyanazon zárvány pontokból épül fel. B 11641 (1. sz.: B 11635) N: 60 000 ×

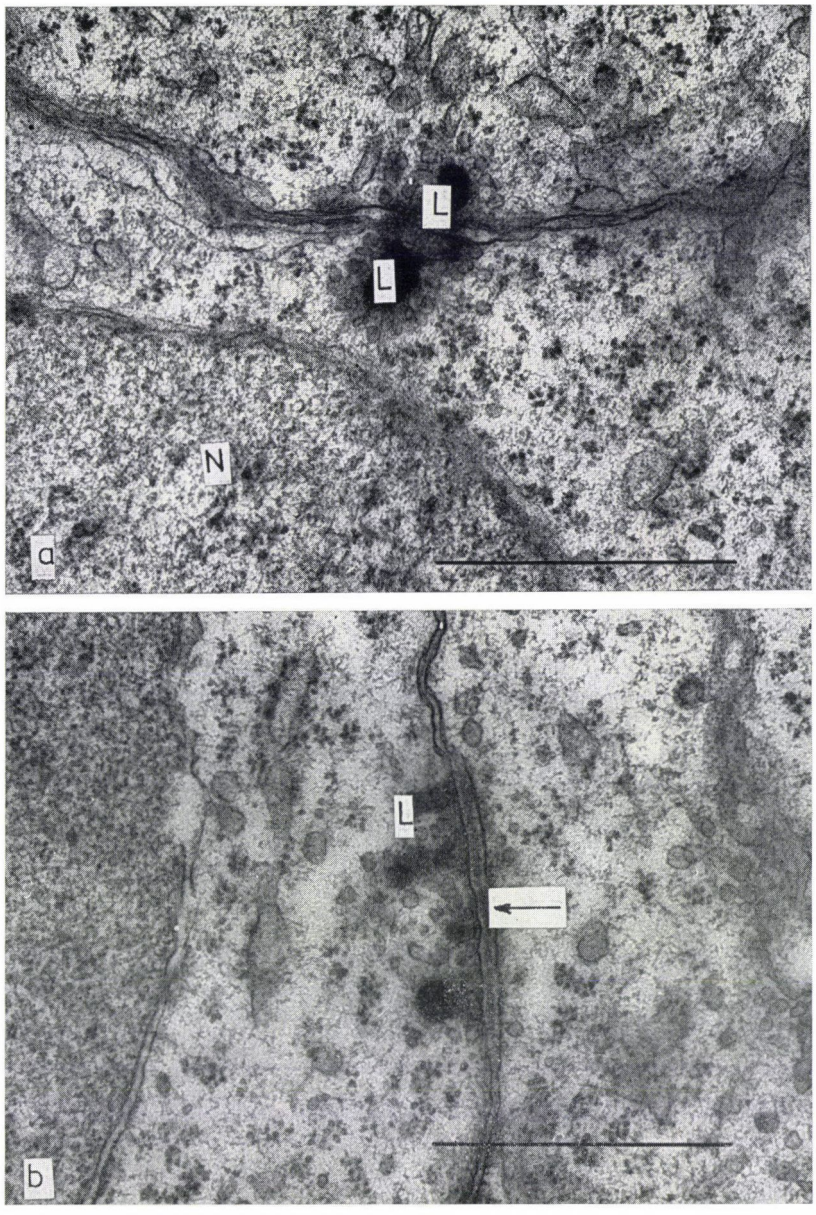
8. ábra. Gilbert-kór. A preparátum síkját goniometerrel döntve a parakrisztalloid alakja változik. A metszési síktól függően hol pontszerű (—15°, —45° stb.), hol filamentózus (+ 45°, 2/3) egységekből épül fel a zárvány. N: 70 000 ×



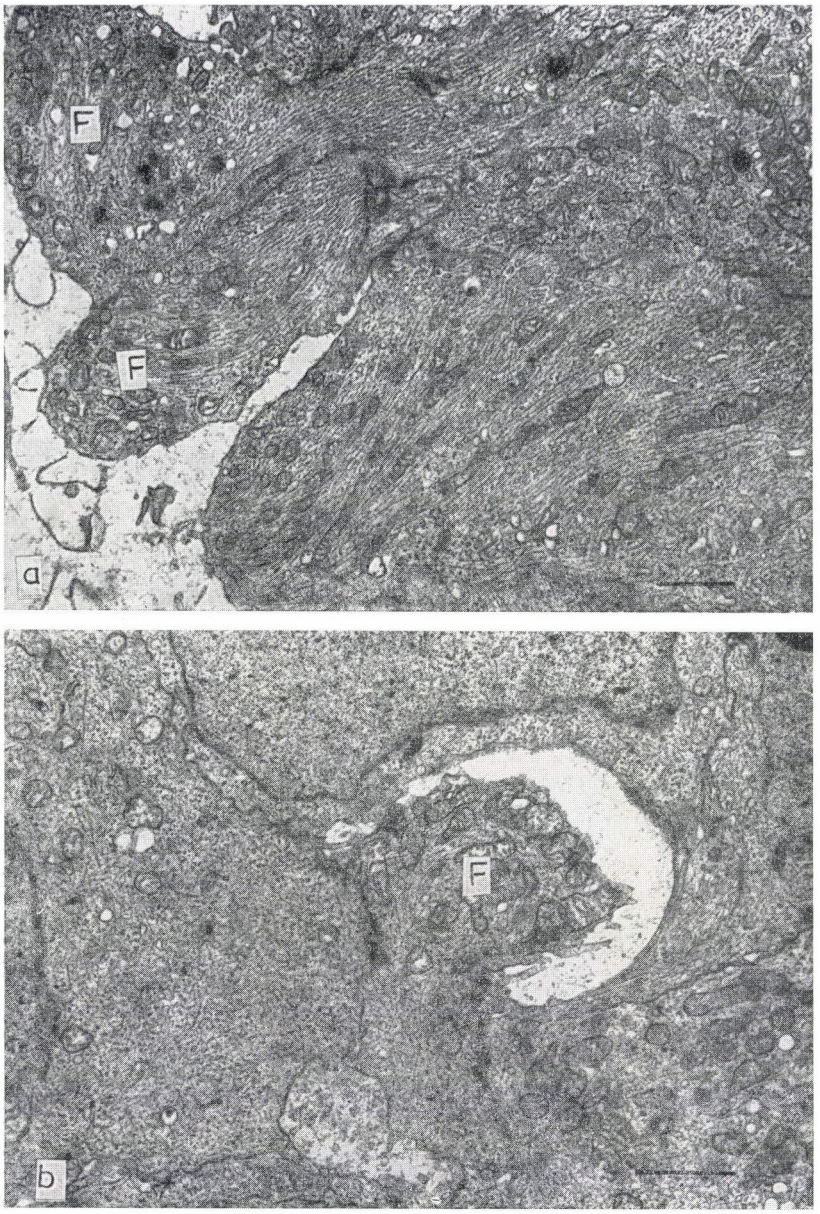
1. ábra. a) a cytomembránnal párhuzamosan elhelyezkedő synaptikus lamella (L) különböző nagyságú vesiculumokkal körülvéve. N = nucleus, T = neurotubulusok
b) 3 synapticus vesiculumokkal körülvett synaptikus lamella (L). N = nucleus



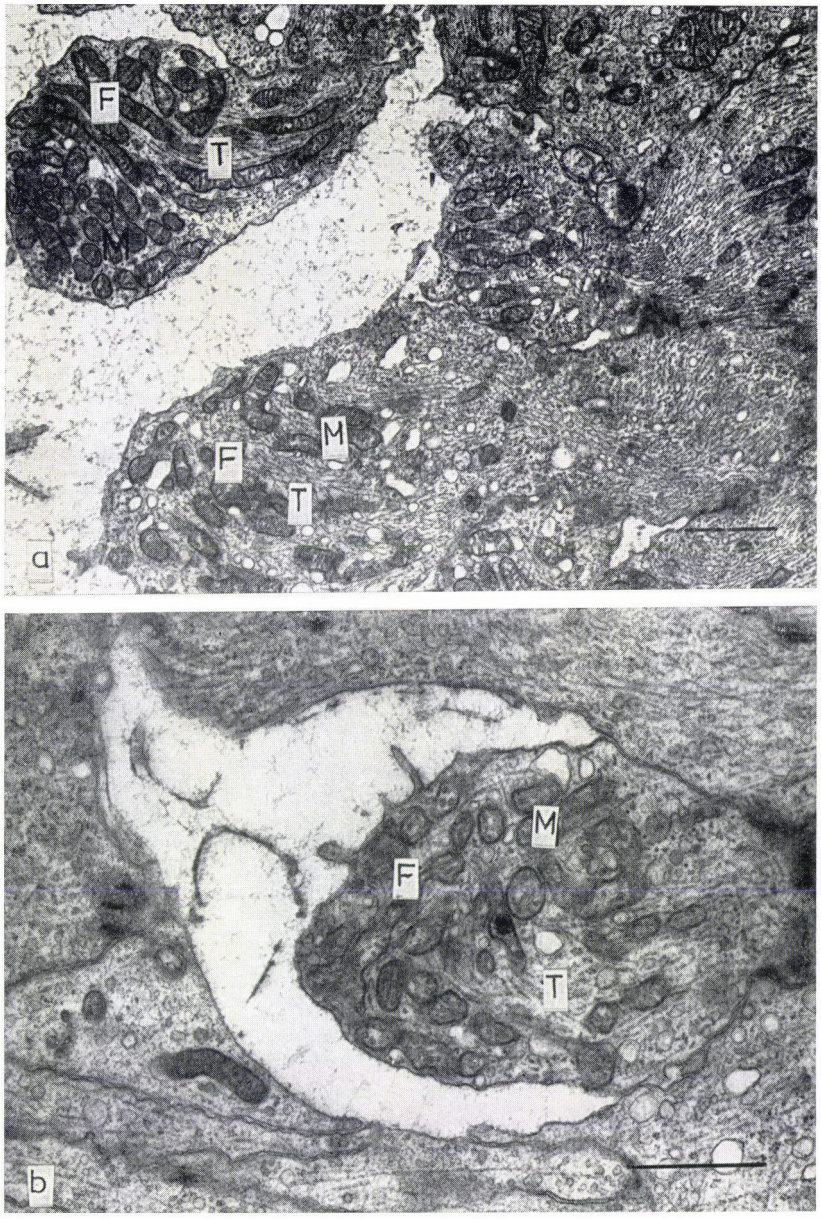
2. ábra. A sejthártya alatt elhelyezkedő synaptikus lamellák (L) T = neurotubulusok



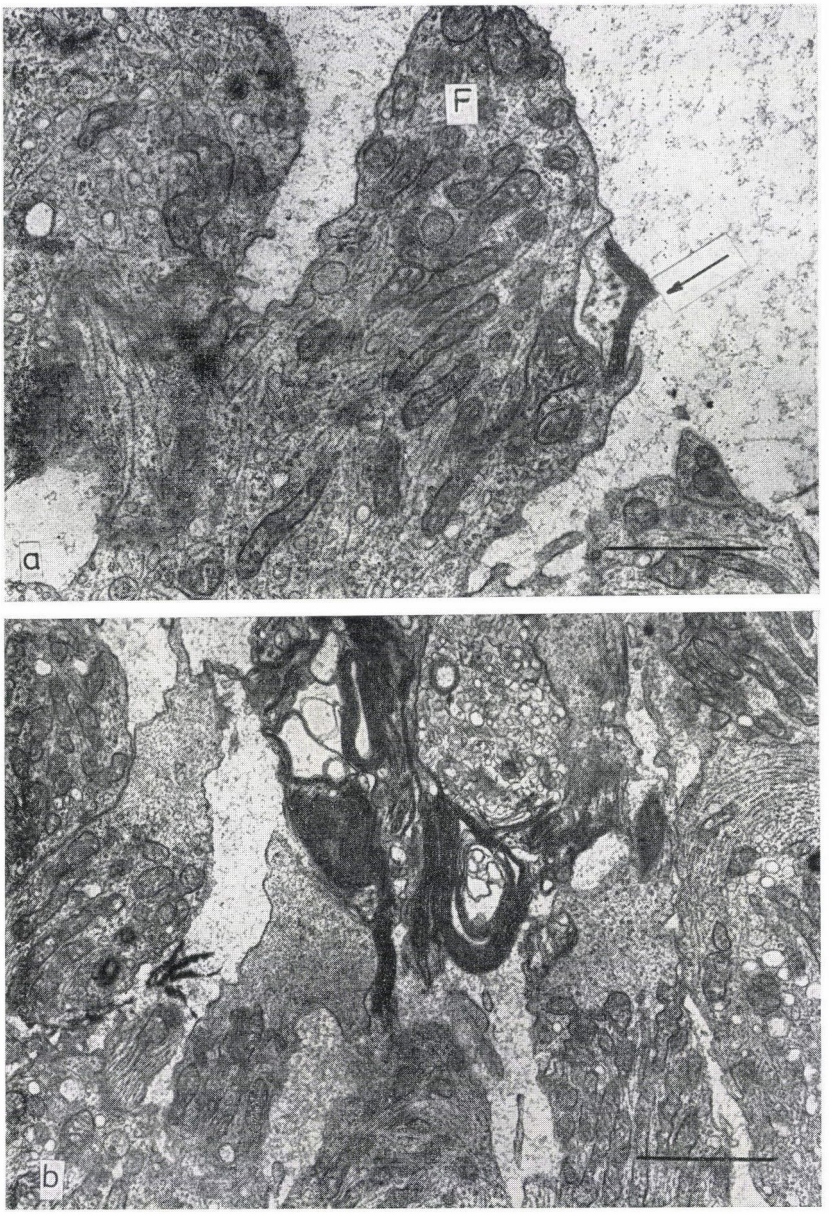
3. ábra. a) a sejthártya alatt elhelyezkedő vesiculumokkal körülvett lamellaszerű képlet (L). A sejtek közötti résben elektrodens anyag.
b) sejthártya alatti lamellák (L) csak egyik sejtben. A kiszélesedett sejtek közötti résben elektrodens anyag (→)



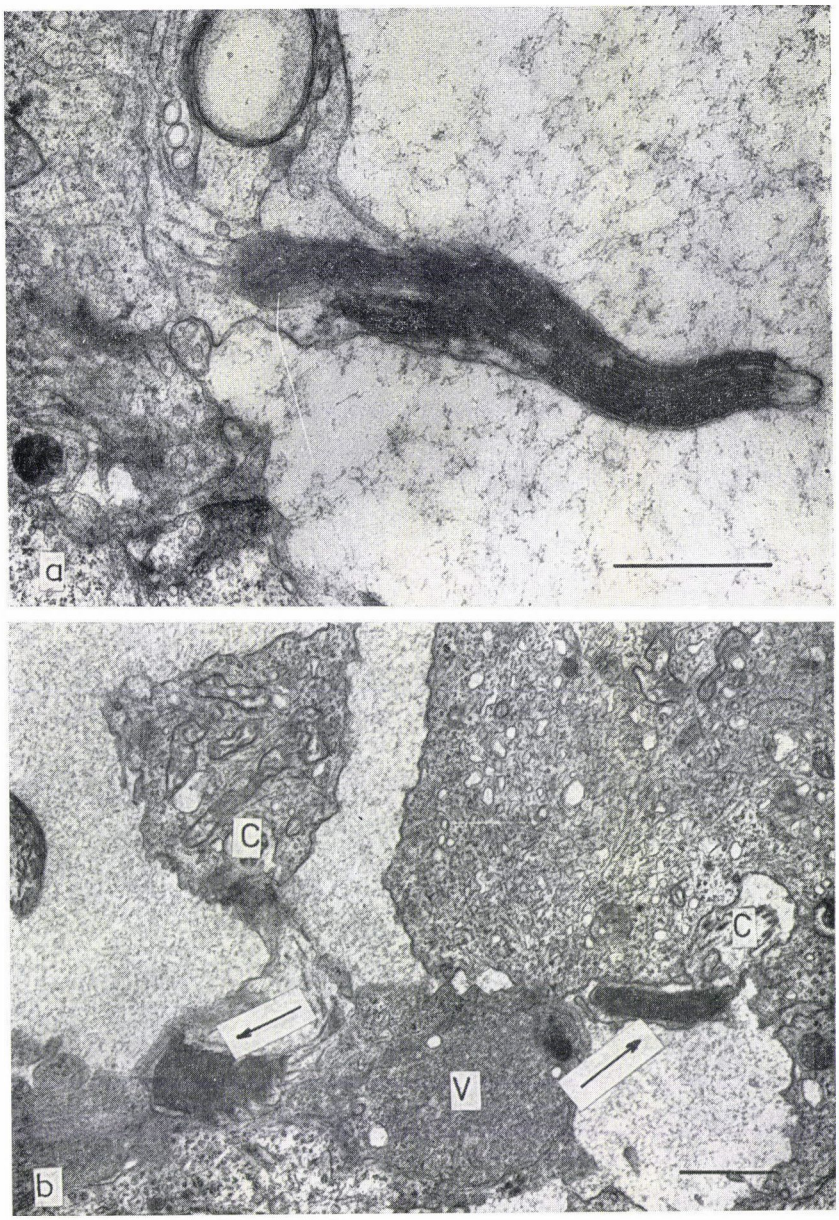
4. ábra. a) „fleurettes"-sejtek (F)
b) „fleurettes"-sejt nyúlványa (F)



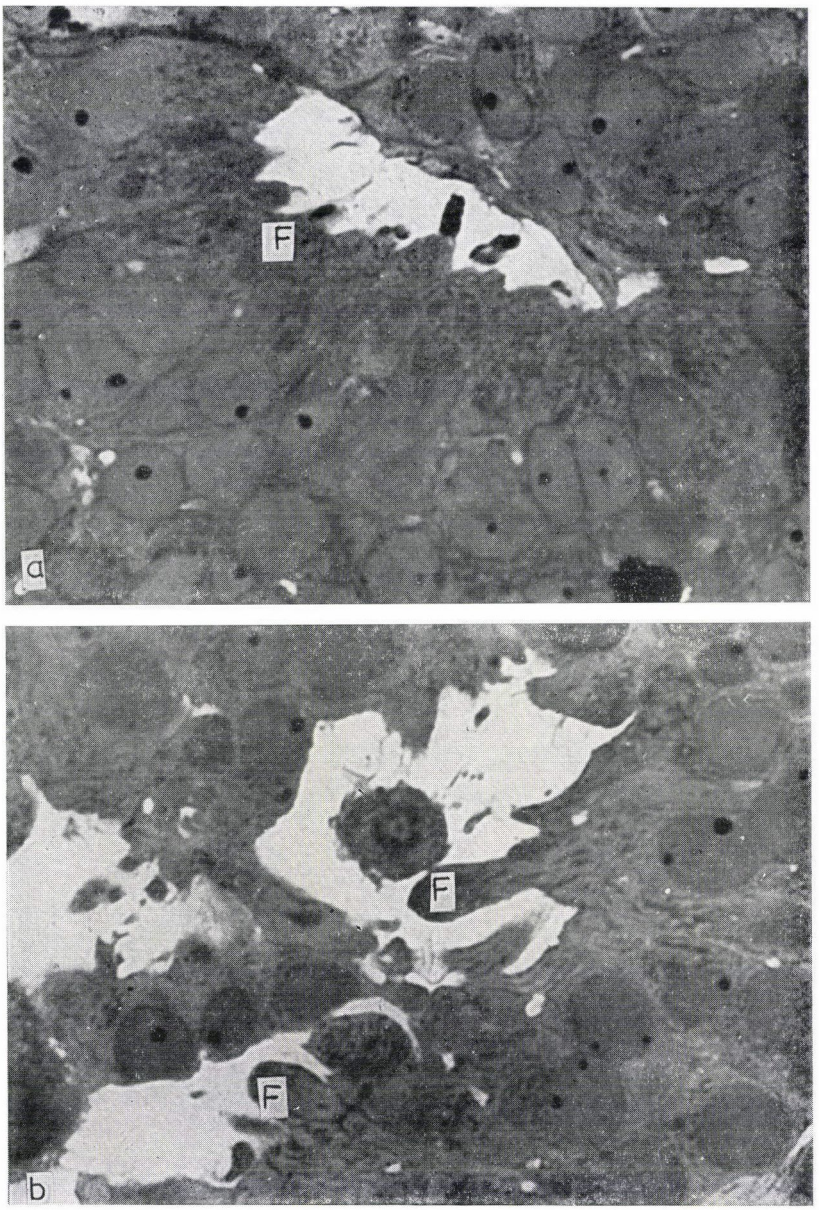
5. ábra. a) és *b)* „Fleurettes"-sejt nyúlványok (F), amelyekben mitochondriumok (M) és neurotubulusok (T) vannak



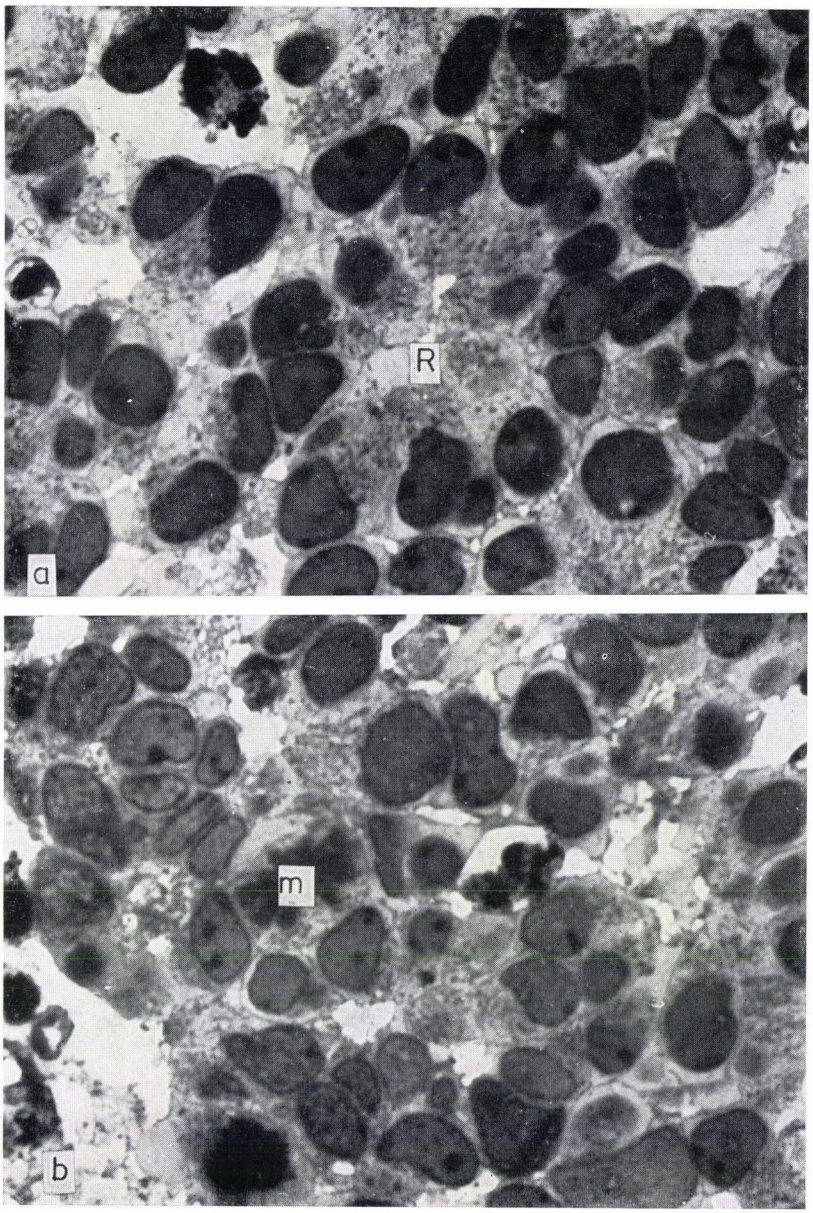
6. ábra. a) „Fleurettes"-sejtnyúlvány (F) apicálisan lamelláris szerkezetű képlet (→)
b) „Fleurettes"-sejtek között szabálytalan lamelláris szerkezetű, a photorezeptor nyúlványának külső tagját utánzó képlet



7. ábra. a) lamelláris szerkezetű sejtnyúlvány
b) ciliumokból (C) kiinduló lamelláris szerkezetű képletek (→). Synapticus vesiculumokkal telt sejtnyúlvány (V)



8. ábra. a) és *b)* Félvastag metszetek. „Fleurettes" sejtek csoportosan és isoláltan (F)



9. ábra. Félvastag metszetek. *a)* rosetta (R), *b)* sejtoszlás (m)



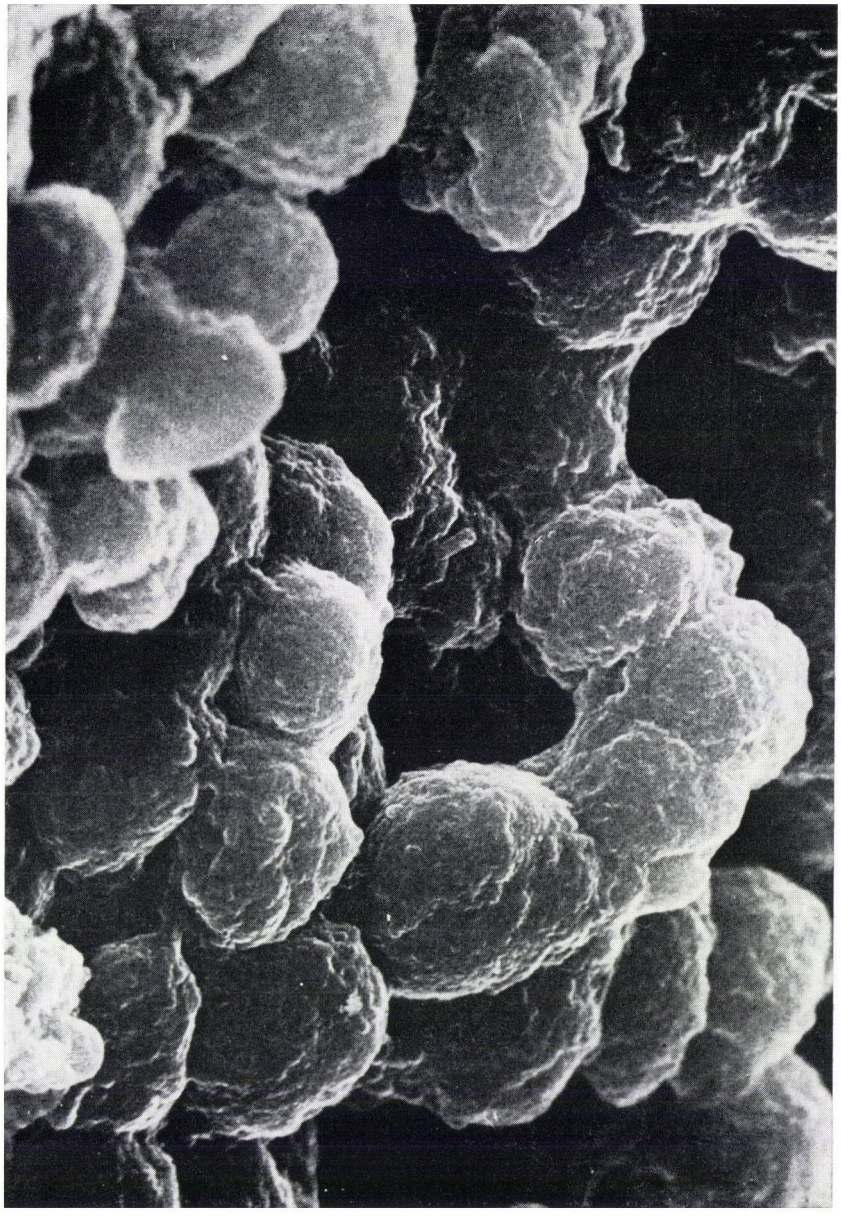
10. ábra. Rosetta elektronmikroszkopos képe. m = mitosis



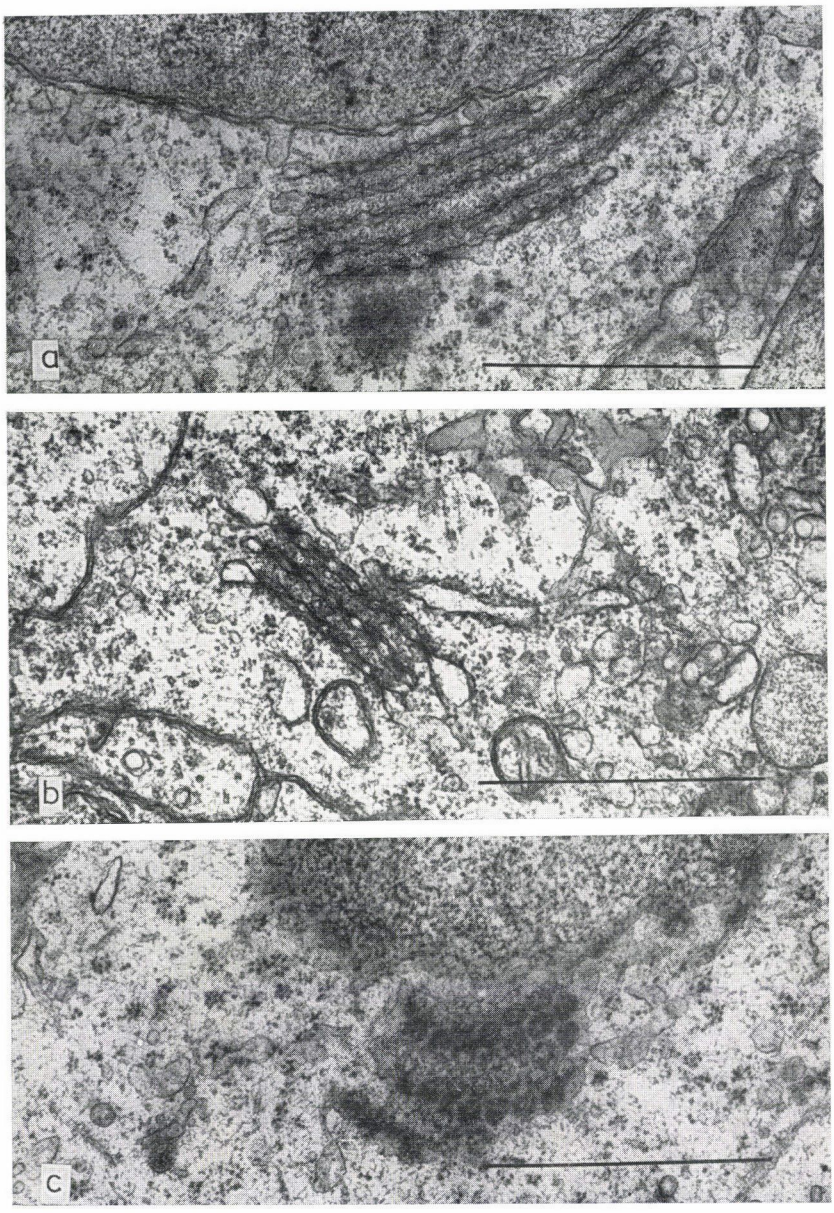
11. ábra. A retinoblastoma sejtek gömbölyűek kb. 7 μ átmérőjűek, de különböző nagyságúak. Scanning elektronmikroszkopos felvétel



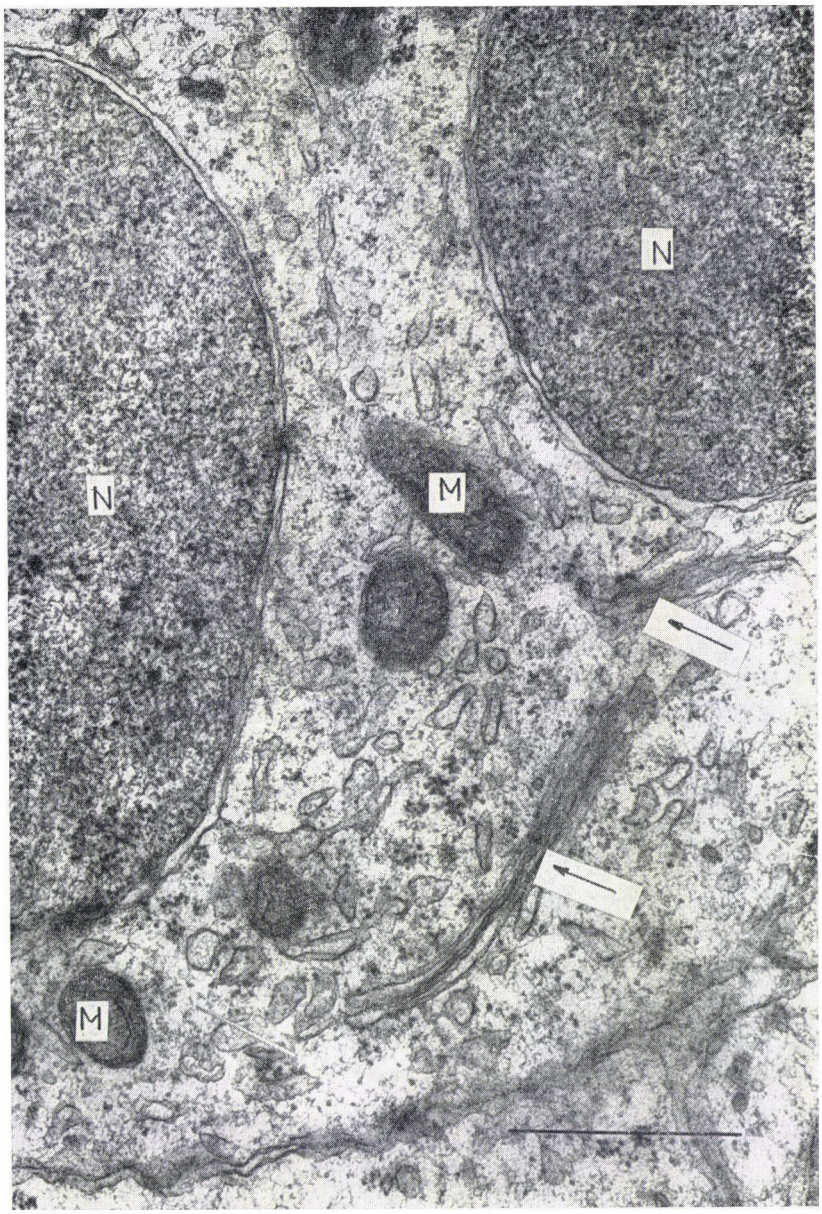
12. ábra. A sejtek csoportokat, girlandokat képeznek



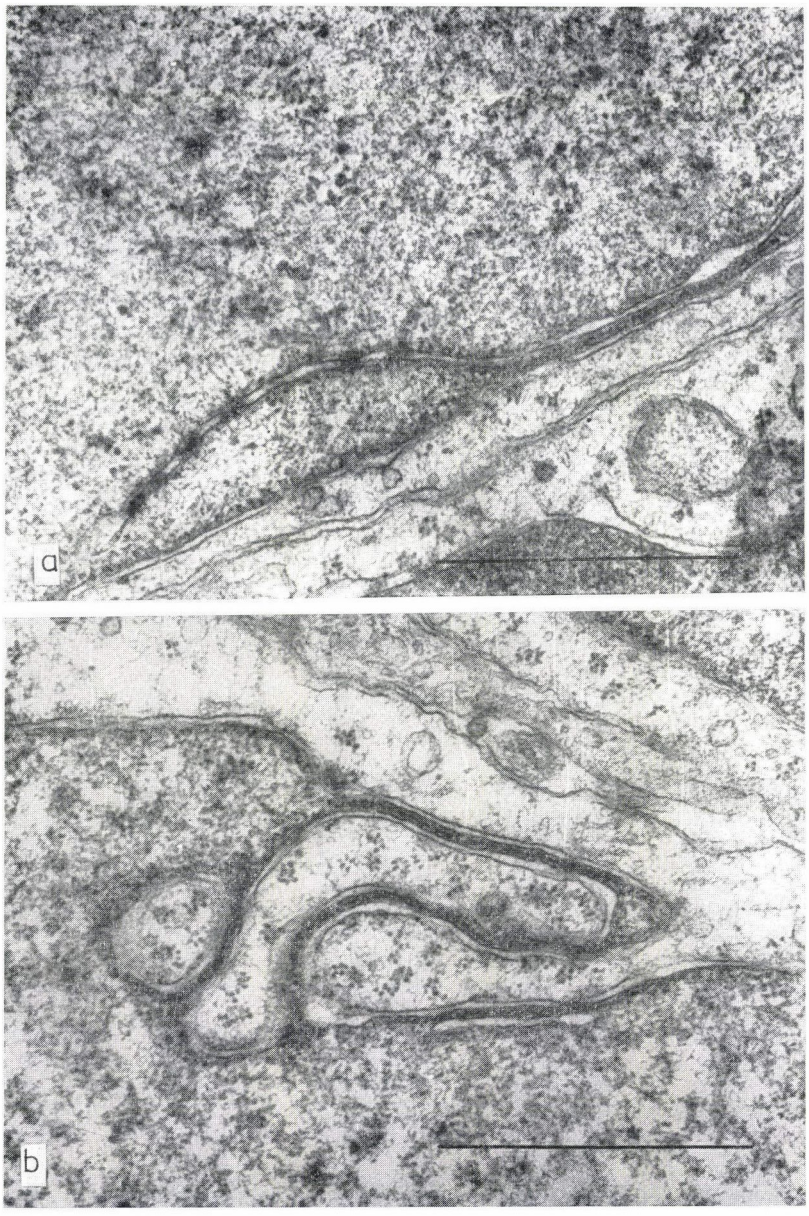
13. ábra. Rosettaszerűen elhelyezkedő sejtcsoportok



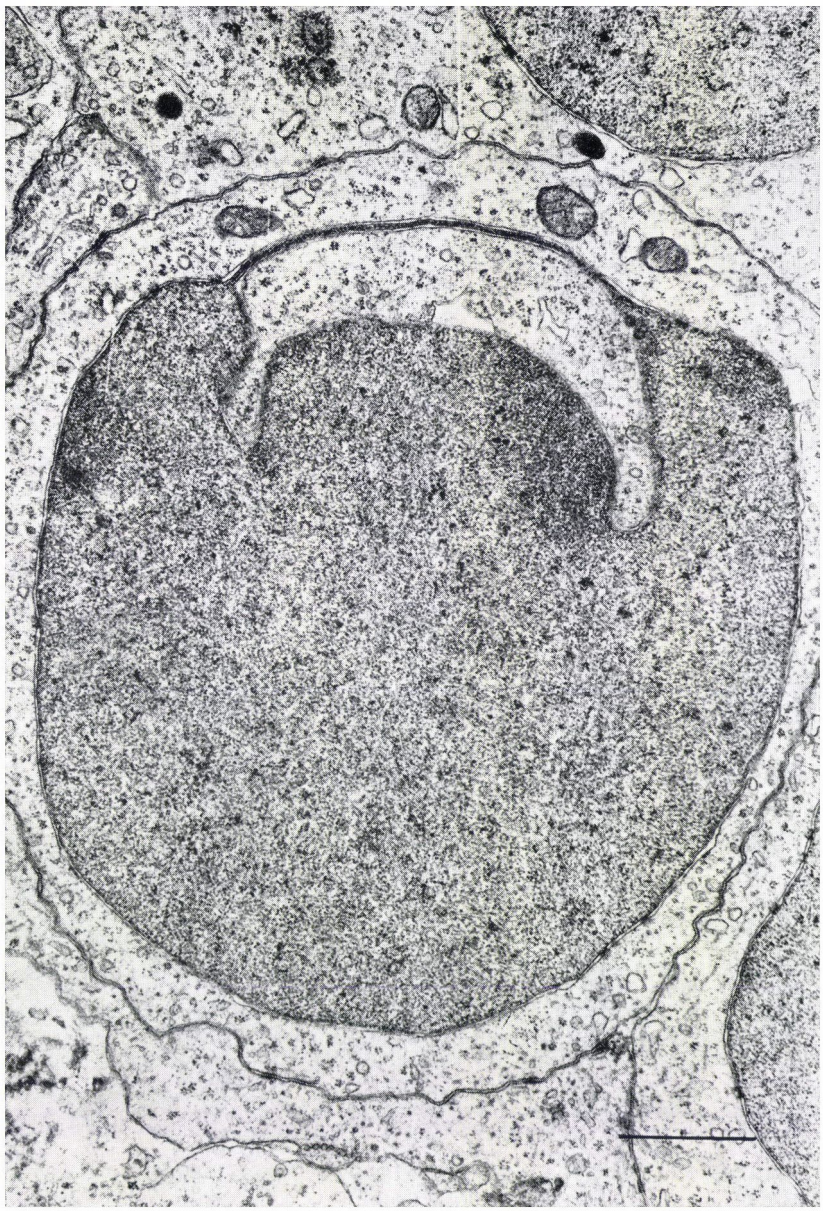
14. ábra. a), b), c) lamellae anullatae



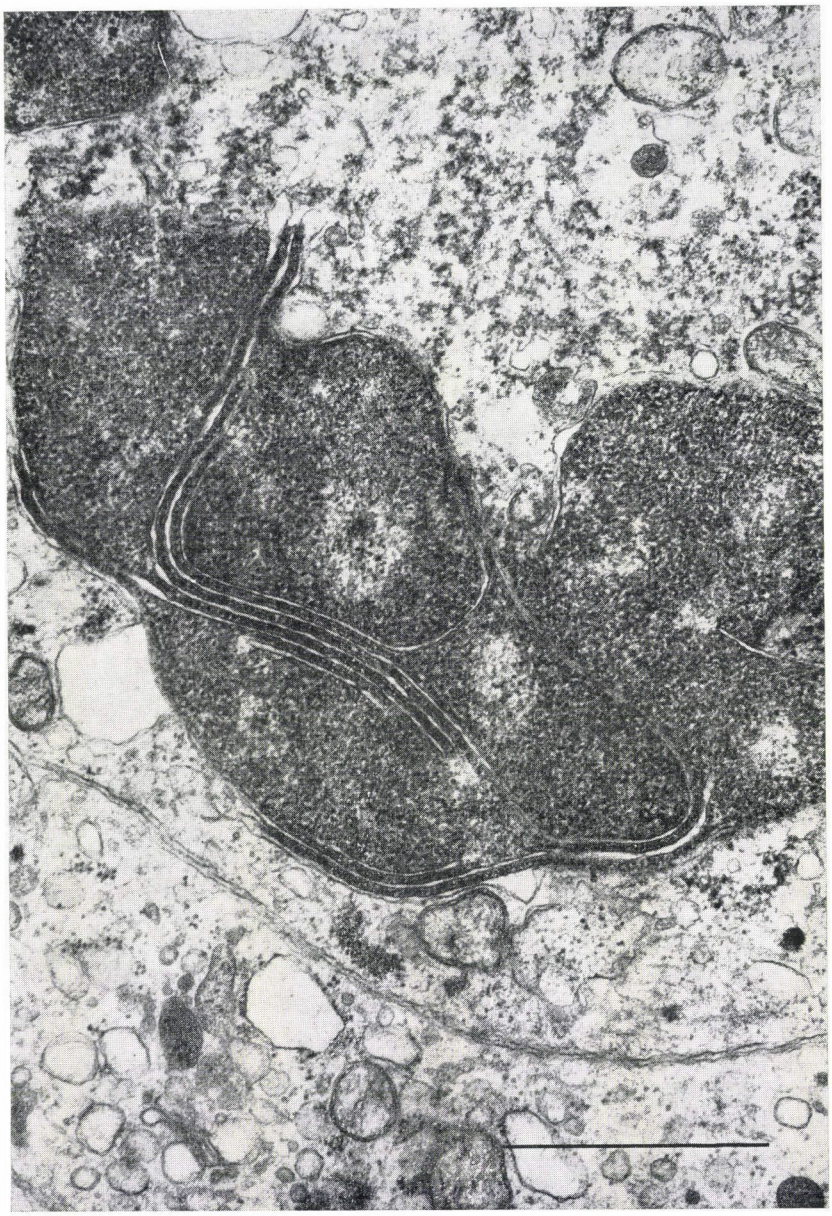
15. ábra. Quadrilamelláris membránok (→). N = nucleus, M = mitochondrium.



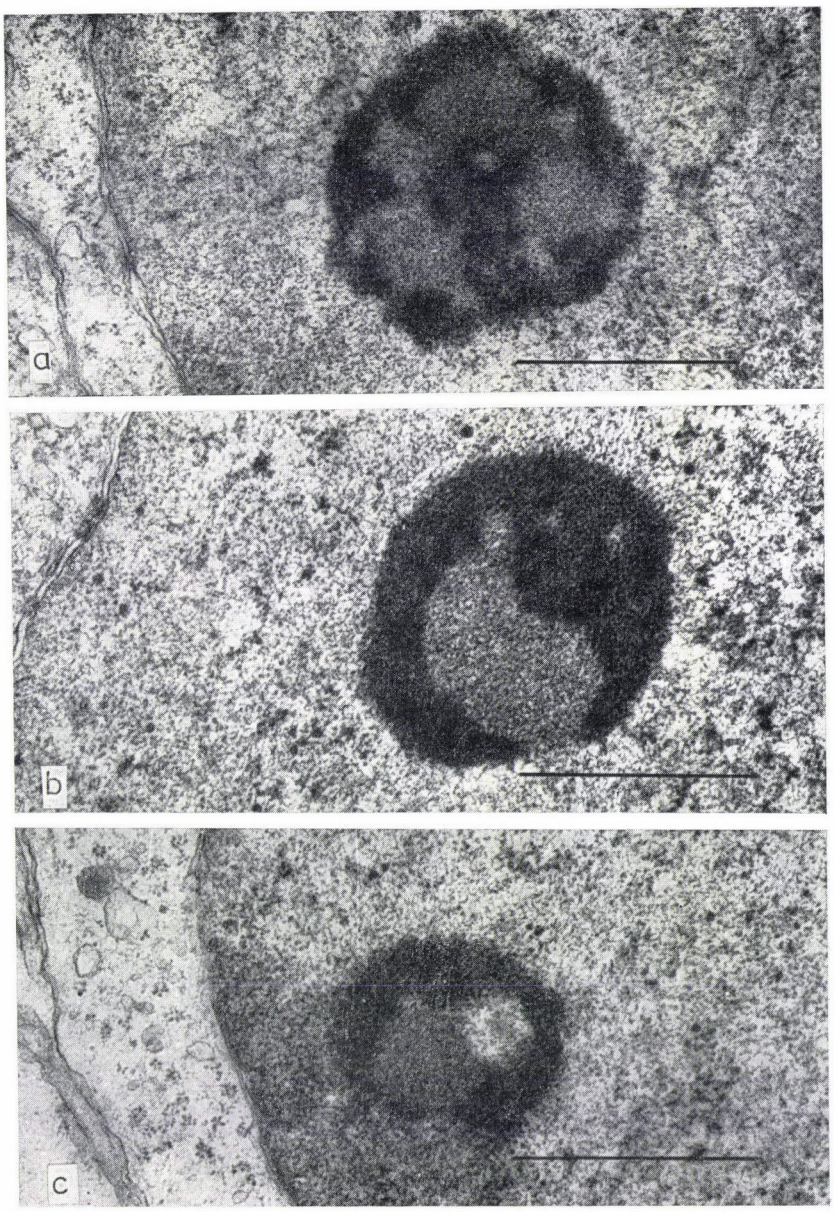
16. ábra. a) és *b)* A magmembrán megkettőződésének formái



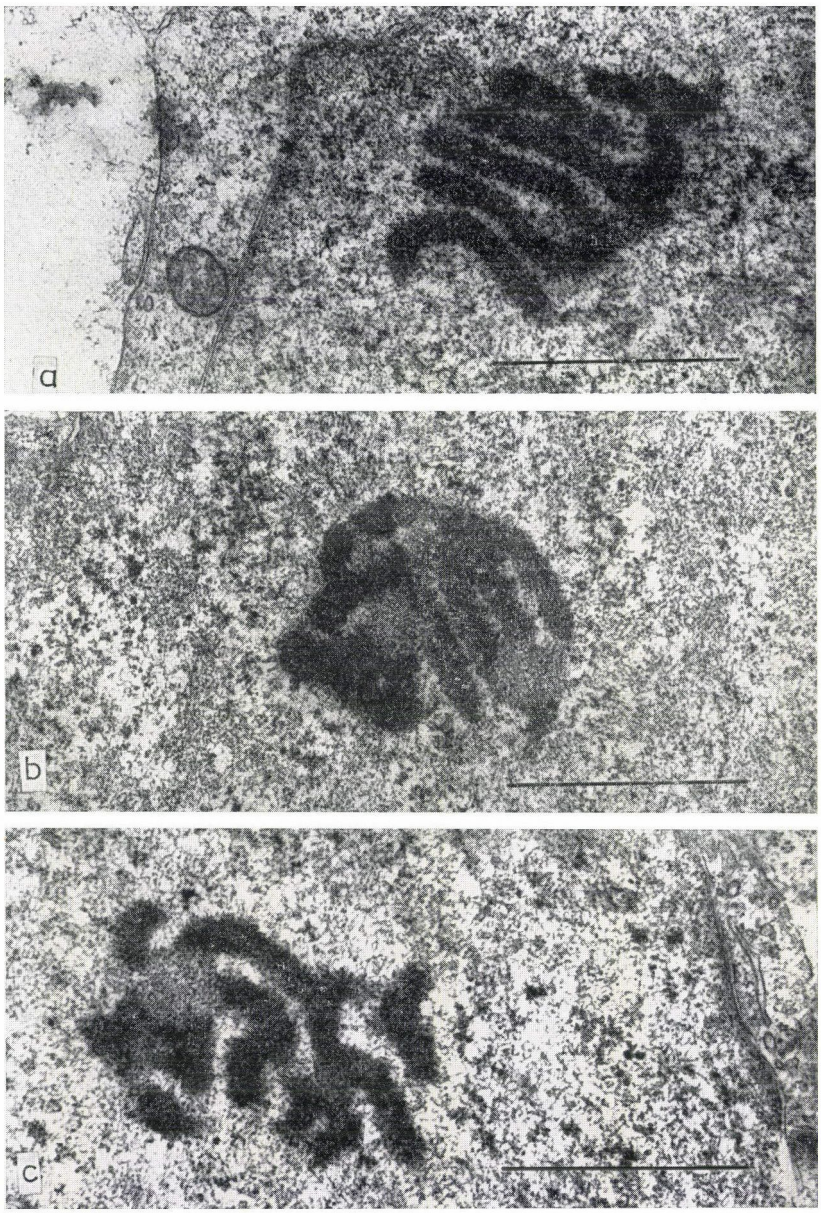
17. ábra. A magmembrán kettőzött alakja



18. ábra. Idő előtti membránképződés sejtoszláskor



19. ábra. Segregatio a magvacskákban



20. ábra. a), b), c) Filamentáris szerkezetű magvacskák

Ára: 36 Ft ISSN 0030—6045

TARTALOMJEGYZÉK

Solti Ferenc: Újabb adatok a humán végtagi-peripheriás keringés regulációjáról. (Végtag-keringés-vizsgálatok normális peripheriás érrendszer eseteiben.) 281

Lengyel Anna, Klembala Márta és Nász István: Adenovírusokkal kezelt emberi vörösvérsejtek lipoidjainak vékonyréteg kromatográfiás vizsgálata 299

Sonkodi Sándor, Tichy Béla, Varga László, Mező Imre és Teplán István: Angiotensin eltűnése a portalis keringésből altatott patkányban 309

Nemes Attila, Juhász-Nagy Sándor, Sótonyi Péter és Somogyi Endre: Intermittáló hypoxiás terhelés hatásai a myocardiumon. I. Physiologiai vizsgálatok koszorúereken 321

Somogyi Endre, Sótonyi Péter, Juhász-Nagy Sándor és Nemes Attila: Intermittáló hypoxiás terhelés hatásai a myocardiumon. II. Elektronmikroszkópos és elektronmikroszkópos cytokémiai vizsgálatok 327

Markwardt Franz: Farmakológiai jelentőségű szintetikus szerinproteináz-gátlók kidolgozása 339

Vizi E. Szilveszter: A neurokémiai ingerületátvitel preszinaptikus szabályozása 349

Nász István és Ádám Éva: Adenovírus hexon fehérjék kristályosítása 380

Mészáros Károly, Antoni Ferenc, Lapis Károly, Tompa Anna, Mandl József, Schaff Zsuzsa és Garzó Tamás: A galaktózamin májkárosító hatása 395

Suba Zsuzsanna, Lapis Károly és Gráf Ferenc: A finomszerkezeti vizsgálatok lehetőségei a vérképzőszervi betegségek diagnózisának felállításában 411

Antoni Ferenc: Az immunrendszer biokémiája 427

Megjelent: 1978. II. 28.

Index: 26.615