

A foetoplacentális egység szteroidjainak
és enzimeinek vizsgálata

Doktori értekezés

Fodor István

Készült: a József Attila Tudományegyetem Biokémiai
és Genetikai Csoportjában, Szeged.

1971.



Diss. B 814



Több összefoglaló munka tájékoztat a címben említett foeto-placentális egység szteroidjairól és a szteroid anyagcserében szerepet játszó enzimekről. Ezek közül talán legcélszerűbb kiemelni a "Foetus and Placenta" c. könyvet, amit a kérdés legismertebb szakértői állítottak össze /1/. Gyakorlatilag a könyv, de a hormon hatású szteroidokkal foglalkozó III. Nemzetközi Szteroid Kongresszuson elhangzott előadások 1970-ben /2/ leszögezték - az újabb eszközös adottságok mellett - az anyai szervezet, a placenta és a magzat szteroid anyagcsere lépéseit, elkülönítették az intermediér szteroidokat, és megvizsgálták az anyagcsere közti-termékek keletkezésében szerepet játszó enzimeket.

Mi több irányú vizsgálattal igyekeztünk különbséget kimutatni a sófeltöltéses terhesség megszakításoknál nyert placenták, a diabéteses és normál placenták szteroid összetételében. Megkíséreltünk néhány szteroid anyagcserében szereplő enzimet direkt inkubációs kísérlettel tanulmányozni. Az említetteken kívül tanulmányoztuk a köldökzsinór és magzatviz szteroidjait és lipidjeit, részletesebben a placenta lipidjeit. Az előbbi két vizsgálati objektumunk azért is érdekes volt mert ismert, hogy a köldökzsinór kapcsolja össze a pla-

centával a magzat szervezetét, míg a magzatviz a magzat közvetlen környezete. Az előbbinek éppen ezért a szteroidok szállításában, az utóbbinak a szteroidok anyagcseréjében van szerepe. / A köldökzsinórnak csak a vérpályán kívüli szállításban szerepet játszó kocsonyás állományát vizsgáltuk. Ebben az esetben tehát csak a diffúzióval történő szteroid szállítását követtük. /

I. Irodalmi áttekintés

Már kezdetben meg kell mondani, hogy nehéz ilyen sokat és alaposan vizsgált kérdés irodalmát áttekinteni, így elsősorban a saját vizsgálataink szempontjából érdekes anyagok és anyagcsere termékek áttekintésére szorítkozunk.

A részletek megtárgyalása előtt a graviditás alatti szteroid hormon termelő helyeket kell áttekinteni és azok szerepét kell körülhatárolni az anyagcsere intermedierek keletkezésében.

Az anyai szervezet új szteroid hormon termelő helye elsősorban a placenta, majd ez a magzat hormontermelő szerveinek a működésével egészül ki. Az anyai szervezet szteroid hormon anyagcseréről beszélve gyakorlatilag a terhesség kezdetén a női szervezet teljes szteroid hormon termelését át kellene tekinteni. A teljes anyagcsere áttekintése helyett azonban a terhes nő szervezetének néhány kiemelt szteroid hormon termelő funkcióját említjük meg. Ma főleg E.Bolté és munkatársai /3/ ^3H -koleszterollal végzett vizsgálataiból tudjuk, hogy az anyai vérplazma koleszterol a szteroid hormonok fő forrása. Az anencephaliás magzatokban viszont kizárólagos szteroid hormon forrás. Ugyanúgy az anyai plazma koleszterolból erednek az anyai szervezet ösztrogénjei, a corpus luteum progeszteronja. Ez az előbbi megállapítás főleg az első trimeszterre vonatkozik.

Viszont a már felsorolt többi hormontermelő helyen keletkező szteroidot az anyai szervezet is tovább metabolizálja, és az ösztrogének 50-70 % 16-keto-öszttron és ösztriol formájában a 16 α -hidroxi-pregnenolon, 16-dehidro-progeszteron, izopregnenolon /17 / és 16-hidroxi A-gyűrűben redukált szteroidok, valamint 17 α -hidroxi-pregnenolon, pregnántriol és etiocholanolon formájában kerülnek kiürülésre. /4/

Telegdy és Diczfalusy /5/ legújabb vizsgálataiból viszont tudjuk, hogy a placenta nem képes az acetátból de novo szteroid szintézisre és a placenta szteroidogenezis az anyai koleszterol függvénye a magzati élet kezdeti szakaszában. A placentában a koleszterolból főleg progeszteron és pregnenolon keletkezik. A placenta szteroid metabolizáló enzimei azután a progeszteront 20 α - és 20 β -dihidroxi-progeszteronná, 6 β -, 16 α - és 17 β -hidroxi-progeszteronná /6/ alakítja. A pregnenolonból viszont 17 α -hidroxi és 17 α -21-dihidroxi-pregnenolon keletkezik. A placentában keletkezik ugyancsak a dehidroepiandroszteron /DEA/ és szulfátja, a tesztoszteron, az androszténdion, 16 α -hidroxi-DEA, androszténdiol, 16-keto-tesztoszteron. Ezeket a placenta aromatizáló enzimei alakítják ösztriollá, epiösztriollá, 16-keto-öszttradiollá, ösztronná és ösztradiollá. A placenta gazdag ugyancsak olyan enzimekben, amelyek a Δ^4 -3-keetonok kialakítására képesek /7/, az említett enzimek hatása feltétlenül szükséges az aromatizáló enzim működéséhez is.

A magzat szervezetére térve ott a szteroid anyagcseréről csak a 2. és 3. trimeszterben beszélhetünk. A magzat képes éppenúgy a de novo szteroid szintézisre, mint a koleszterol metabolizálására /5/. A de novo acetátból történő koleszterol szintézis főleg a májban, mellékvesében játszódik le és kismértékben a herékben. Az így keletkező koleszterol elsősorban a pregnenolon és a DEA irányába metabolizálódik. Másrészt keletkezik az acetátból eredő koleszterolból kevés progeszteron, 17α -hidroxi-progeszteron és androszténdion. A placentából eredő progeszteront és pregnenolont éppen úgy, mint a DEA-t és szulfátját a magzati szervezet tovább metabolizálja, egyrészt a progeszteront mellékvese szteroidokká, a pregnenolont szabad és szulfát formában DEA és DEA-szulfáttá, és ugyancsak mellékvese hormonokká alakítja. A mellékvese a pregnenolont 21 -hidroxi-pregnenolonná, 17α - 21 -dihidroxi-pregnenolonná alakítja és ezekből keletkezik a dezoxikortikoszteron, kortikoszteron, 11 -dezoxikortizol és kortizol /7/. A mellékvese mikroszómák termelik a 3α -, 3β -, és 17β -dihidroxi-androszt 4 -ént, az androsztén-diont, a 6α -, és 6β -hidroxi-tesztoszteront. A mellékvese tartalmaz 3α -, 3β -, és 17β -hidroxi-szteroid-oxidoreduktázt. A máj szövetek főleg a 6α -, 6β -, 16α -, 18 -hidroxilálásban játszanak főleg fontos szerepet.

A magzat az amnion folyadékba is választ ki sok 3β -hidroxi- Δ^5 -szteroidot /8/.

Az előbbieket néhány táblázattal demonstrál-
nánk. Először a használatos triviális és szisztematikus
neveket adnánk meg a "Foetus and Placenta" c. könyvből.
/ 1. táblázat a. b. és c. része /

Androstenedione	Androst-4-ene-3,17-dione
Retroandrostenedione	8 β ,9 β ,10 α -Androst-4-ene-3,17-dione
15 α -Hydroxy-androstenedione	15 α -Hydroxyandrost-4-ene-3,17-dione
16 α -Hydroxy-androstenedione	16 α -Hydroxyandrost-4-ene-3,17-dione
16-Oxo-androstenediol	3 β ,17 β -Dihydroxyandrost-5-en-16-one
Androstenetriol (Hirschmann's triol)	Androst-5-ene-3 β ,16 α ,17 β -triol
Cholesterol	Cholest-5-en-3 β -ol
Dehydroepiandrosterone	3 β -Hydroxyandrost-5-en-17-one
Dehydroepiandrosterone sulphate	17-Oxoandrost-5-en-3 β -yl sulphate
7 α -Hydroxy-dehydroepiandrosterone sulphate	7 α -Hydroxyandrost-5-en-17-on-3 β -yl sulphate
16 α -Hydroxy-dehydroepiandrosterone	3 β ,16 α -Dihydroxyandrost-5-en-17-one
16 α -Hydroxy-dehydroepiandrosterone sulphate	16 α -Hydroxyandrost-5-en-17-on-3 β -yl sulphate
Oestrone	3-Hydroxyoestra-1,3,5(10)-trien-17-one
Oestrone sulphate	Oestra-1,3,5(10)-trien-17-on-3-yl- sulphate
Oestrone glucosiduronate	Oestra-1,3,5(10)-trien-17-on-3-yl- β -D-glucopyranosiduronate
2-Hydroxy-oestrone	2,3-Dihydroxyoestra-1,3,5(10)-trien- 17-one
2-Methoxy-oestrone	2-Methoxy-3-hydroxyoestra-1,3,5(10)- trien-17-one
6 α -Hydroxy-oestrone	3,6 α -Dihydroxyoestra-1,3,5(10)-trien- 17-one
6 β -Hydroxy-oestrone	3,6 β -Dihydroxyoestra-1,3,5(10)-trien- 17-one
11 β -Hydroxy-oestrone	3,11 β -Dihydroxyoestra-1,3,5(10)-trien- 17-one
15 α -Hydroxy-oestrone	3,15 α -Dihydroxyoestra-1,3,5(10)- trien-17-one
15 β -Hydroxy-oestrone	3,15 β -Dihydroxyoestra-1,3,5(10)-trien- 17-one
16 α -Hydroxy-oestrone	3,16 α -Dihydroxyoestra-1,3,5(10)- trien-17-one
16 β -Hydroxy-oestrone	3,16 β -Dihydroxyoestra-1,3,5(10)-trien- 17-one
16-Oxo-oestrone	3-Hydroxyoestra-1,3,5(10)-triene- 16,17-dione
16 α -Hydroxy-oestrone sulphate	16 α -Hydroxyoestra-1,3,5(10)-trien- 17-on-3-yl sulphate

1.b. ábra

OESTROGEN METABOLISM IN PREGNANCY

TABLE 5.1 *contd.*

18-Hydroxy-oestrone	3,18-Dihydroxyoestra-1,3,5(10)-trien-17-one
17 β -Oestradiol	Oestra-1,3,5(10)-triene-3,17 β -diol
17 β -Oestradiol 3-sulphate	17 β -Hydroxyoestra-1,3,5(10)-trien-3-yl sulphate
2-Methoxy-17 β -oestradiol	2-Methoxyoestra-1,3,5(10)-triene-3,17 β -diol
6 α -Hydroxy-17 β -oestradiol	Oestra-1,3,5(10)-triene-3,6 α ,17 β -triol
15 α -Hydroxy-17 β -oestradiol	Oestra-1,3,5(10)-triene-3,15 α ,17 β -triol
15 β -Hydroxy-17 β -oestradiol	Oestra-1,3,5(10)-triene-3,15 β ,17 β -triol
16-Oxo-17 β -oestradiol	3,17 β -Dihydroxyoestra-1,3,5(10)-trien-16-one
11-Dehydro-17 α -oestradiol	Oestra-1,3,5(10),11-tetraene-3,17 α -diol
Oestriol	Oestra-1,3,5(10)-triene-3,16 α ,17 β -triol
Oestriol 3-sulphate	16 α ,17 β -Dihydroxyoestra-1,3,5(10)-trien-3-yl sulphate
Oestriol 3-glucosiduronate	16 α ,17 β -Dihydroxyoestra-1,3,5(10)-trien-3-yl- β -D-glucopyranosiduronate
Oestriol 16-glucosiduronate	3,17 β -Dihydroxyoestra-1,3,5(10)-trien-16 α -yl- β -D-glucopyranosiduronate
Oestriol 3-sulphate, 16-glucosiduronate	17 β -Hydroxyoestra-1,3,5(10)-trien-3-yl-sulphate, 16 α -yl- β -D-glucopyranosiduronate
2-Methoxy-oestriol	2-Methoxyoestra-1,3,5(10)-triene-3,16 α ,17 β -triol
6 α -Hydroxy-oestriol	Oestra-1,3,5(10)-triene-3,6 α ,16 α ,17 β -tetrol
15 α -Hydroxy-oestriol	Oestra-1,3,5(10)-triene-3,15 α ,16 α ,17 β -tetrol
16-Epi-oestriol	Oestra-1,3,5(10)-triene-3,16 β ,17 β -triol
17-Epi-oestriol	Oestra-1,3,5(10)-triene-3,16 α ,17 α -triol
16,17-Epioestriol	Oestra-1,3,5(10)-triene-3,16 β ,17 α -triol
Oestratetrenol	Oestra-1,3,5(10),16-tetraen-3-ol
Pregnanediol	5 β -Pregnane-3 α ,20 α -diol
Pregnenolone	3 β -Hydroxypregn-5-en-20-one
17 α -Hydroxy-pregnenolone	3 β ,17 α -Dihydroxypregn-5-en-20-one
Progesterone	Pregn-4-ene-3,20-dione
17 α -Hydroxy-progesterone	17 α -Hydroxypregn-4-ene-3,20-dione
Testosterone	17 β -Hydroxyandrost-4-en-3-one
Retrotestosterone	17 β -Hydroxy-8 β ,9 β ,10 α -androst-4-en-3-one
15 α -Hydroxy-testosterone	15 α ,17 β -Dihydroxyandrost-4-en-3-one
16 α -Hydroxy-testosterone	16 α ,17 β -Dihydroxyandrost-4-en-3-one

1.c. ábra

C-18

Estriol

Estra-1,3,5(10)-triene-3,16z,17 β -triol

C-19

Dehydroisoandrosterone

3 β -Hydroxyandrost-5-en-17-one

Androstenediol

Androst-5-ene-3 β ,17 β -diol

Androsterone

3z-Hydroxy-5z-androstan-17-one

Isoandrosterone

3 β -Hydroxy-5z-androstan-17-one

Etiocholanolone

3z-Hydroxy-5 β -androstan-17-one

11-Ketoetiocholanolone

3z-Hydroxy-5 β -androstan-11,17-dione

11 β -Hydroxyandrosterone

3z,11 β -Dihydroxy-5z-androstan-17-one

16z-Hydroxyetiocholanolone

3z,16z-Dihydroxy-5 β -androstan-17-one

16z-Hydroxyandrosterone

3z,16z-Dihydroxy-5z-androstan-17-one

16z-Hydroxydehydroisoandrosterone

3 β ,16z-Dihydroxyandrost-5-en-17-one

Androstenedione

Androst-4-ene-3,17-dione

Testosterone

17 β -Hydroxyandrost-4-en-3-one

Retroandrostenedione

8 β ,9 β ,10z-Androst-4-ene-3,17-dione

Retrotestosterone

17 β -Hydroxy-8 β ,9 β ,10z-androst-4-en-3-one

11 β -Hydroxyandrostenedione

11 β -Hydroxyandrost-4-ene-3,17-dione

11-Ketoandrostenedione

Androst-4-ene-3,11,17-trione

16z-Hydroxyandrostenedione

16z-Hydroxyandrost-4-ene-3,17-dione

16z-Hydroxytestosterone

16z,17 β -Dihydroxyandrost-4-en-3-one

19-Hydroxyandrostenedione

19-Hydroxyandrost-4-ene-3,17-dione

Dehydroisoandrosterone sulfate

17-Ketoandrost-5-ene-3 β -yl sulfate

Testosterone sulfate

3-Ketoandrost-4-ene-17 β -yl sulfate

16z-Hydroxydehydroisoandrosterone sulfate

16z-Hydroxy-17-ketoandrost-5-ene-3 β -yl sulfate

C-21

Pregnenolone

3 β -Hydroxypregn-5-en-20-one

16z-Hydroxypregnenolone

3 β ,16z-Dihydroxypregn-5-en-20-one

17z-Hydroxypregnenolone

3 β ,17z-Dihydroxypregn-5-en-20-one

20z-Dihydropregnenolone

3 β ,20z-Dihydroxypregn-5-en-20-one

Progesterone

Pregn-4-ene-3,20-dione

6 β -Hydroxyprogesterone

6 β -Hydroxypregn-4-ene-3,20-dione

6-Ketoprogesterone

Pregn-4-ene-3,6,20-trione

15z-Hydroxyprogesterone

15z-Hydroxypregn-4-ene-3,20-dione

16z-Hydroxyprogesterone

16z-Hydroxypregn-4-ene-3,20-dione

17z-Hydroxyprogesterone

17z-Hydroxypregn-4-ene-3,20-dione

20z-Dihydroprogesterone

20z-Hydroxypregn-4-ene-3,20-dione

20 β -Dihydroprogesterone

20 β -Hydroxypregn-4-ene-3,20-dione

17z,20z-Dihydroxyprogesterone

17z,20z-Dihydroxypregn-4-ene-3,20-dione

A továbbiakban az ösztrogének anyagcsere termékeit soroljuk fel a 2. táblázatban, azokat az értékeket adva meg mg-ban, amit mint napi ürítési értéket mértek.

2. táblázat

	References	Approximate quantities (mg 24 hr)
Oestrogens isolated		
Oestriol	Marrian 1929	25.0 35.0
Oestrone	Doisy <i>et al.</i> 1929	1.20 1.40
16 α -Hydroxy-oestrone	Marrian <i>et al.</i> 1957	0.60 ^a 1.60 ^b
16-Epi-oestriol	Marrian & Bauld 1955	0.35 ^a 0.80 ^b
16 β -Hydroxy-oestrone	Layne & Marrian 1958	0.10 ^c 0.72 ^b
16-Oxo-17 β -oestradiol	Layne & Marrian 1958	0.20 ^c 1.10 ^b
17 β -Oestradiol	Huffmann <i>et al.</i> 1940	0.42 0.60
2-Methoxy-oestrone	Loke & Marrian 1958	0.17 ^d 0.60 ^b
6-Hydroxy-oestriol	Breuer <i>et al.</i> 1966	0.05 ^e 0.50 ^e
17-Epi-oestriol	Breuer 1960a	0.01 ^c 0.12 ^b
16,17-Epi-oestriol	Breuer & Pangels 1959	0.04 ^f 0.15 ^b
2-Methoxy-oestriol	Breuer 1964	0.30 ^h
11-Dehydro-17 α -oestradiol	Luukkainen & Adlercreutz 1965	—
18-Hydroxy-oestrone	Loke <i>et al.</i> 1957	—
15 α -Hydroxy-oestrone	Knuppen <i>et al.</i> 1965	—
6 α -Hydroxy-oestrone	Knuppen <i>et al.</i> 1966a	—
15 β -Hydroxy-oestrone	Knuppen <i>et al.</i> 1966b	—
15 β -Hydroxy-17 β -oestradiol	Knuppen <i>et al.</i> 1966b	—
15 α -Hydroxy-17 β -oestradiol	Lisboa <i>et al.</i> 1967	—
15 α -Hydroxy-oestriol	Zucconi <i>et al.</i> 1967b	—
Oestrogens detected		
Oestratetrenol	Breuer 1964	1.60 ^h
6 α -Hydroxy-17 β -oestradiol	Breuer 1964	0.80 ^h
2-Methoxy-17 β -oestradiol	Frandsen 1959	0.20 ^h
2-Hydroxy-oestrone	Notchev & Stimmel 1962	0.12 ^h
16-Oxo-oestrone	Serchi 1953	—
6 β -Hydroxy-oestrone	Breuer 1964	—
11 β -Hydroxy-oestrone	Breuer 1964	—
16 α -Hydroxytestosterone	Neher & Stark (1961)	
Progesterone	Pearlman & Cerceo (1952a), Pearlman & Cerceo (1953), Salhanick <i>et al.</i> (1952, 1956), Noall <i>et al.</i> (1953)	
5 β -Pregnane-3 α ,20 α -diol	Pearlman & Cerceo (1952b)	
5 α -Pregnane-3 β ,20 α -diol	Pearlman & Cerceo (1952b)	
3 β -Hydroxy-5 α -pregnan-20-one	Pearlman & Cerceo (1952b)	
20 α -Dihydroprogesterone	Zander <i>et al.</i> (1958), Zander (1959)	
20 β -Dihydroprogesterone	Zander <i>et al.</i> (1958), Zander (1959)	
16 α -Hydroxyprogesterone (placental blood)	Zander <i>et al.</i> (1962a)	
Cortisol	Neher & Stark (1961)	
Cortisone	Berliner <i>et al.</i> (1956), Neher & Stark (1961)	
17 α ,20 α ,21-Trihydroxypregn-4-ene-3,11-dione	Neher & Stark (1961)	
17 α ,20 β ,21-Trihydroxypregn-4-ene-3,11-dione	Neher & Stark (1961)	

^a Watson & Marrian 1956. ^b Breuer 1964. ^c Layne & Marrian 1958. ^d Hobkirk & Nilsen 1962. ^e Breuer 1960a. ^f Breuer & Pangels 1959. ^g Breuer *et al.* 1966. ^h Notchev & Stimmel 1962.

A 3. táblázat az ösztron, ösztradiol és ösztriol értékeket mutatja a 2. trimeszterben az anyai szervezetben és a magzati részben.

3. táblázat

Concentration of oestrone, 17β -oestradiol and oestriol in mother and foetus during the second trimester of pregnancy. Values are expressed as $\mu\text{g}/100\text{ ml}$.

Oestrogens	Maternal urine ^a	Maternal blood ^b	Foetal blood ^c	Amniotic fluid ^c	Placenta $\mu\text{g}/100\text{ gr}^d$
Oestrone	12.6	2.70	0.47	0.38	6.4
17β -Oestradiol	4.7	1.40	0.11	0.17	3.2
Oestriol	236.6	3.50	20.5	3.70	12.0

For maternal urine average 24-hr output is calculated as 1500 ml.

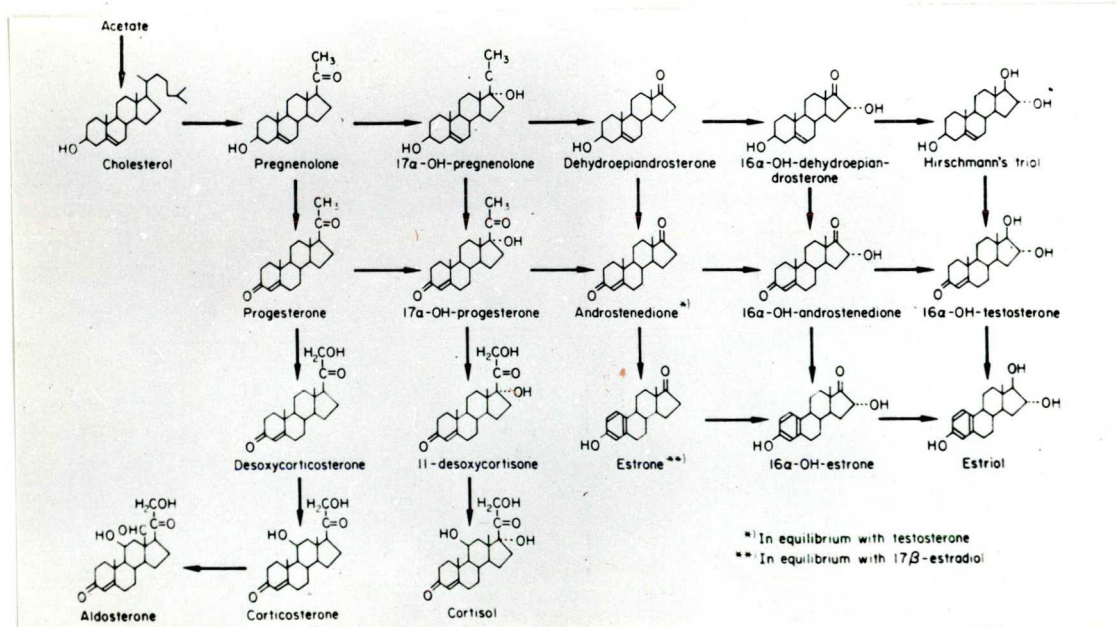
Concentration of oestrone, 17β -oestradiol and oestriol in tissues and body fluids at term. Values are expressed as $\mu\text{g}/100\text{ ml}$ and $\mu\text{g}/100\text{ gr}$, respectively.

Oestrogen	Maternal urine*	Maternal blood	Umbilical cord		Placenta	Amniotic fluid	Blood (newborn)	Urine (newborn)	Meconium
			Artery	Vein					
Oestrone	100.0	6.3 ^a	1.0 ^a	1.3 ^a	35.8 ^c	0.6 ^d	—	0.7 ^f	0.0
17β -Oestradiol	35.0	1.3 ^a	0.3 ^a	0.4 ^a	113.5 ^c	0.5 ^d	—	0.1 ^f	0.0
Oestriol	1500.0	9.1 ^a	81.0 ^b	79.0 ^b	202.0 ^c	88.0 ^d	25.0 ^e 40.0 ^h	700.0 ^f	9700.0 ^g

* Assuming an average urine output of 1500 ml per 24 hr.

^a Geometric means from Roy & Brown 1960 and Maner *et al.* 1963. ^b Geometric means from Roy & Brown 1960, Maner *et al.* 1963 and Klausner & Ryan 1964. ^c Geometric means from Diczfalussy & Lindkvist, 1956 and Schmidt-Elmendorff 1961. ^d From: Diczfalussy & Magnusson 1958. ^e From: Diczfalussy & Lauritzen 1961 (2 hours after birth). ^f From: Diczfalussy *et al.* 1957a. ^g From: Diczfalussy *et al.* 1959. ^h From: Troen *et al.* 1961.

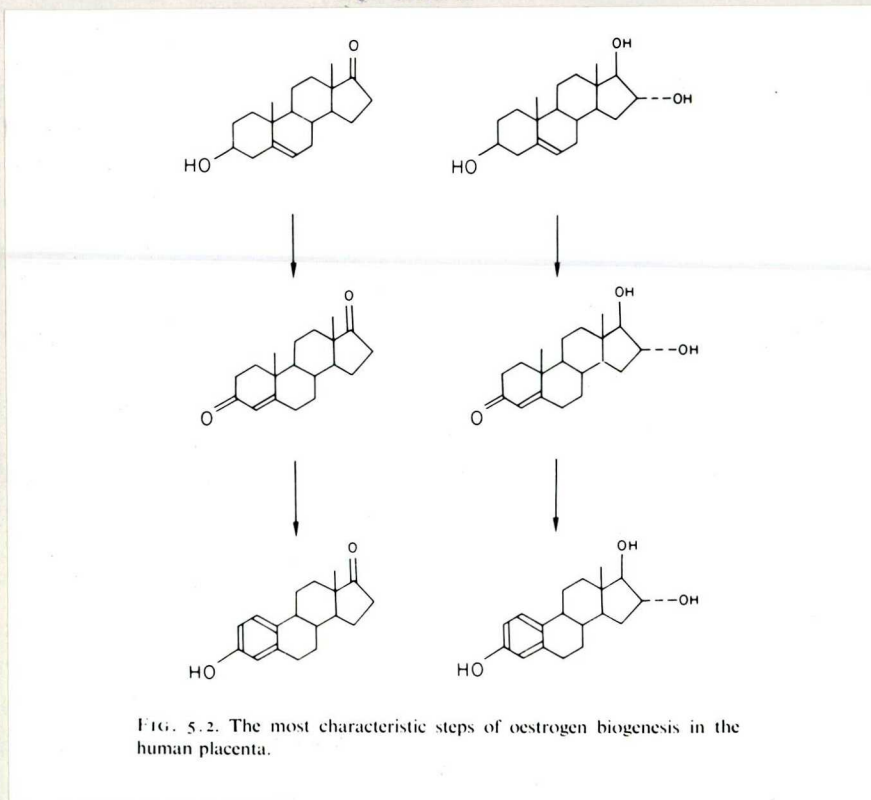
1. ábra



Az előző 1. ábra az emberi szervezet legfontosabb szteroidgenézis lépéseinél az izolált anyagok kémiai szerkezetét mutatja be.

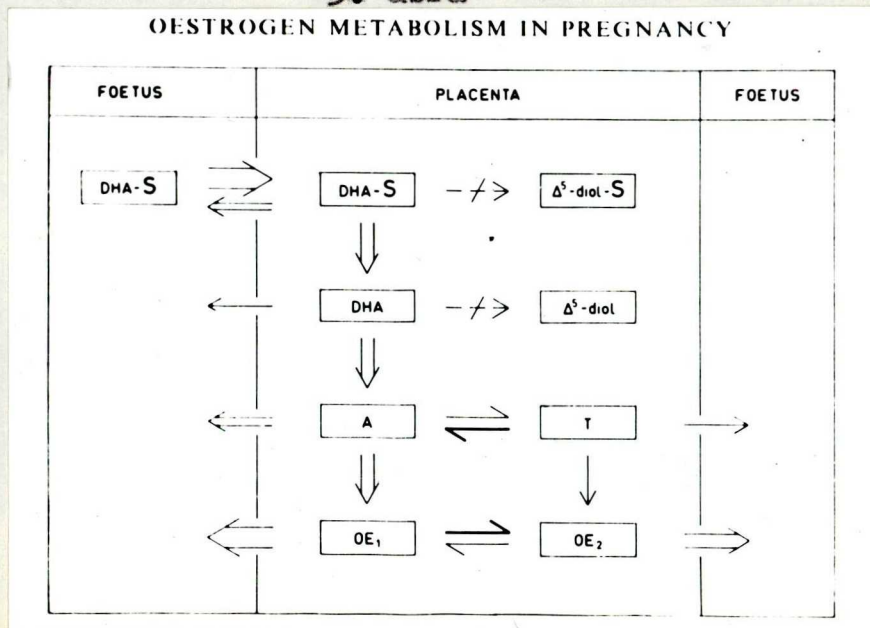
A placenta ösztrogén biogenezis lényegesebb lépéseit viszont a 2. ábra tünteti fel.

2. ábra



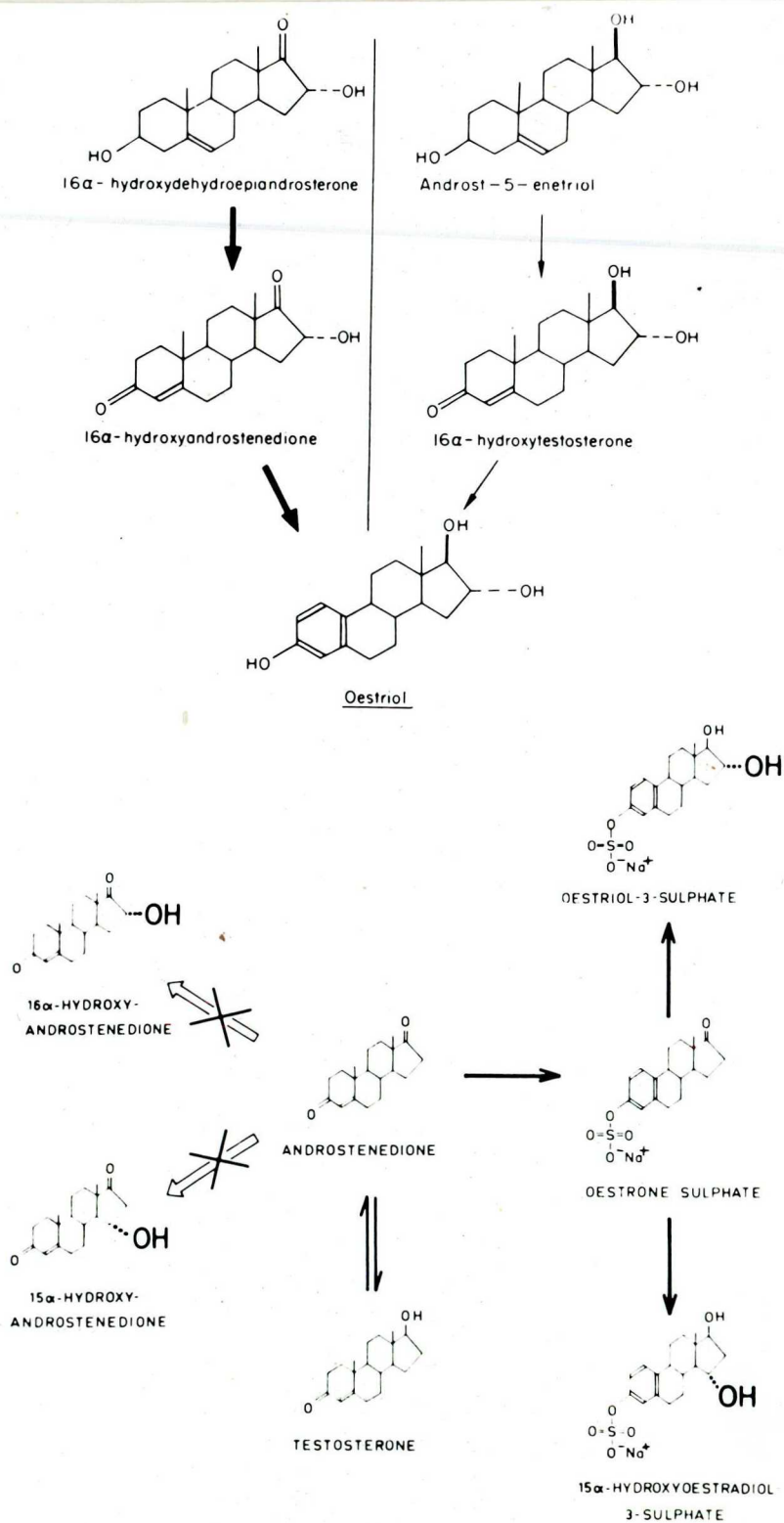
A 3. ábra a DEA-szulfát anyagcserével foglalkozik a magzatban és a placentában.

3. ábra

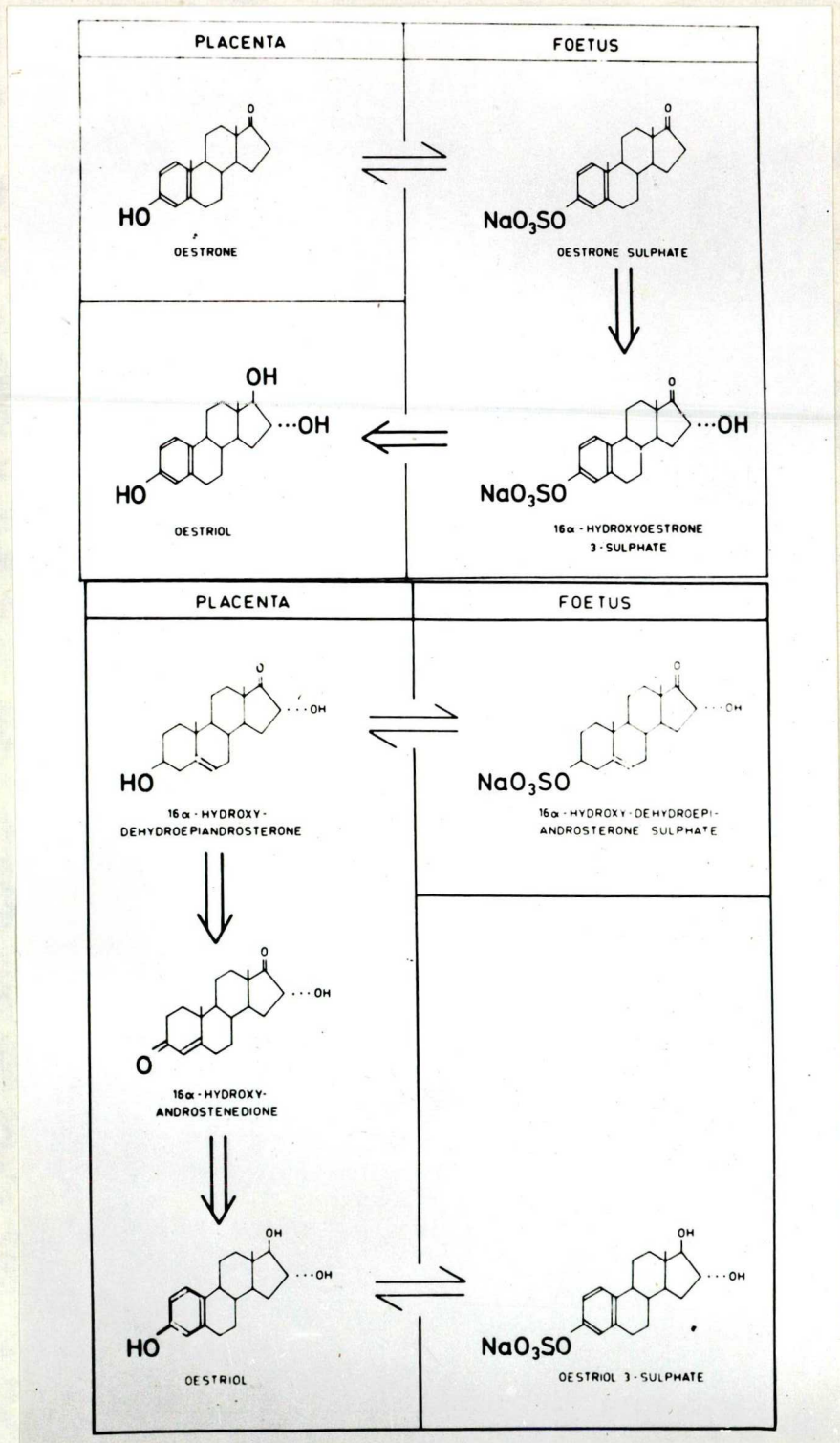


A 4. és az 5. ábra viszont a magzati ösztrol szintézissel foglalkozik. A 4. ábra az ösztrol képződést mutatja be egyrészt a 16α -hidroxi-DEA-ból, másrészt az öszttronból, mint kiindulási anyagból / lásd 5. ábra /.

4. ábra



5. ábra



A 4.a. és 4.b. táblázat foglalja össze az ösztrogén szintézis és az ösztriol transzport foeto-placentális lépéseit, valamint a pregnenolon és a progesteron anyagcsere sémáját.

4.a. táblázat

OESTROGEN METABOLISM IN PREGNANCY

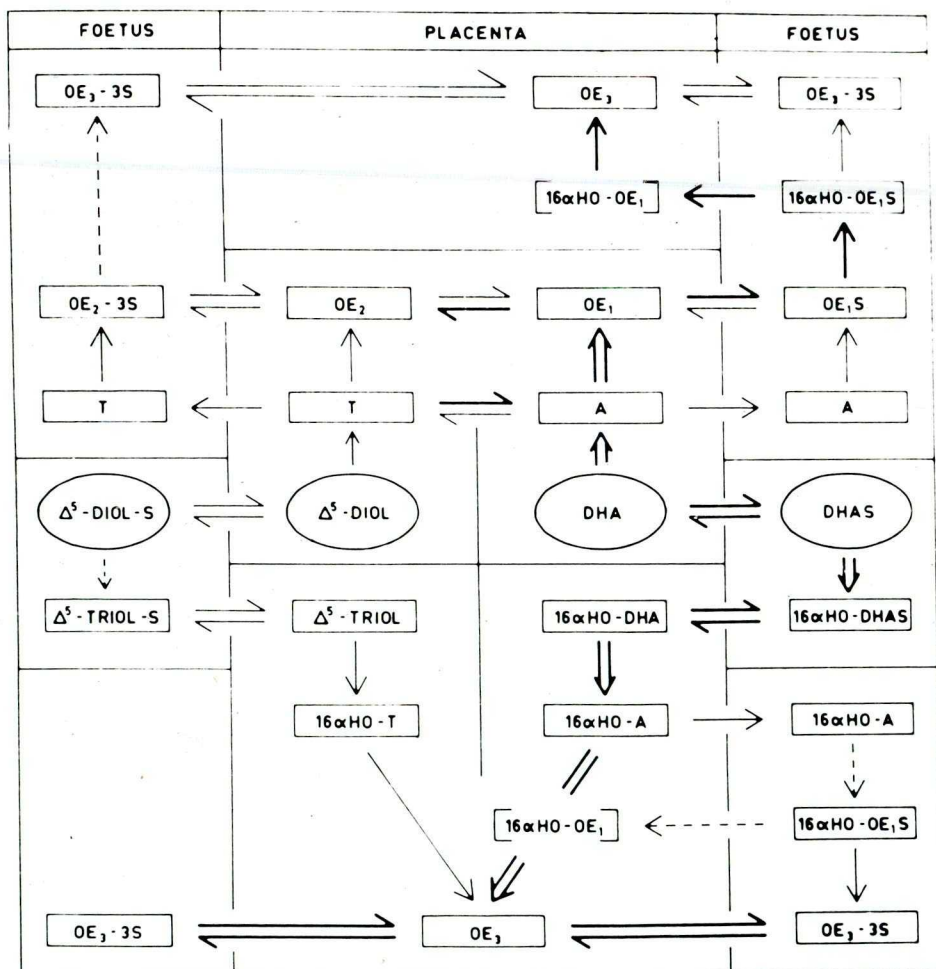


FIG. 5.9. General concept of the principal pathways of oestrogen synthesis in the foeto-placental unit. OE₃-3S: oestriol-3-sulphate; OE₂-3S: 17 β -oestradiol 3-sulphate; T: testosterone; Δ^5 -DIOL-S: androst-5-ene-3 β ,17 β -diol 3-sulphate; Δ^5 -TRIOL-S: androst-5-ene-3 β ,16 α ,17 β -triol 3-sulphate; OE₂: 17 β -oestradiol; Δ^5 -DIOL: androst-5-ene-3 β ,16 α ,17 β -diol; Δ^5 -TRIOL: androst-5-ene-3 β ,16 α ,17 β -triol; 16α HO-T: 16 α -hydroxy-testosterone; OE₃: oestriol; 16α HO-OE₁: 16 α -hydroxy-oestrone; OE₁: oestrone; A: androstenedione; DHA: dehydroepiandrosterone; 16α HO-DHA: 16 α -hydroxy-dehydroepiandrosterone; 16α HO-A: 16 α -hydroxy-androstenedione; 16α HO-OE₁S: 16 α -hydroxy-oestrone-3-sulphate; OE₁S: oestrone sulphate; DHAS: dehydroepiandrosterone sulphate; 16α HO-DHAS: 16 α -hydroxy-dehydroepiandrosterone sulphate.

4.b. táblázat

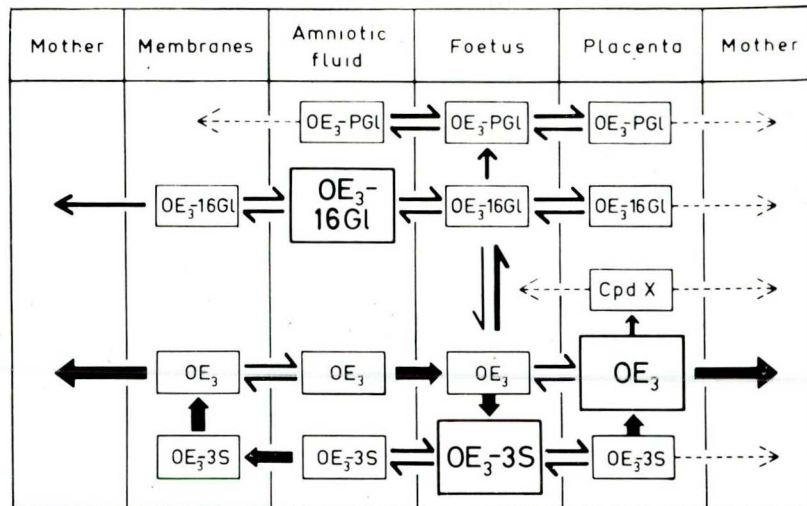


FIG. 5.12. Present concept of the metabolism and transport of oestriol in the human foeto-placental unit at midterm. Large boxes: quantitatively most significant forms of oestriol in the compartment. Heavy arrows: quantitatively major pathways. Light arrows: quantitatively minor pathways. Dotted arrows: probable, but not yet proven pathways. OE₃-PGL: a polar conjugate of oestriol (mostly oestriol-3-sulphate, 16-glucosiduronate); OE₃-16Gl: oestriol-16-glucosiduronate; OE₃: oestriol; OE₃-3S: oestriol-3-sulphate. Cpd X is an unknown polar metabolite. According to Goebelsmann *et al.* (1966a).

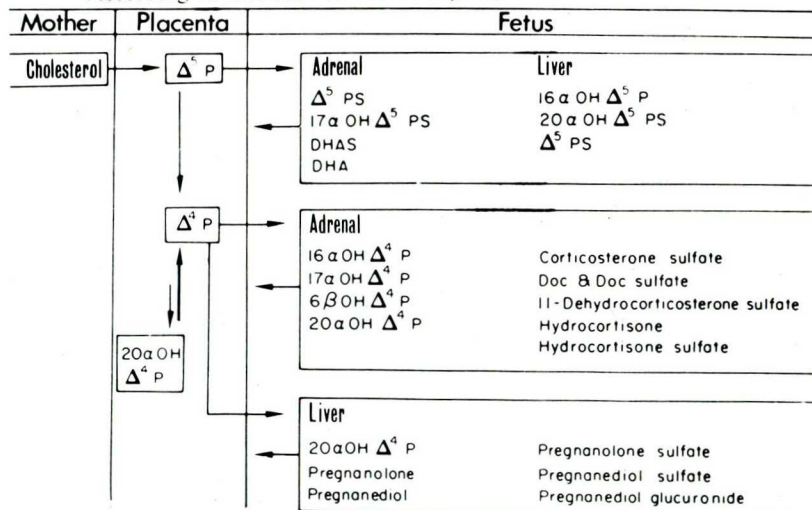


FIG. 6.4. A scheme for the metabolism of pregnenolone and progesterone in the human placenta and fetus at mid-pregnancy. Δ⁵P = pregnenolone; Δ⁵PS = pregnenolone sulfate; 17α OH Δ⁵PS = 17α-hydroxypregnenolone sulfate; DHAS = dehydroisoandrosterone sulfate; DHA = dehydroisoandrosterone; 16α OH Δ⁵P = 16α-hydroxypregnenolone; 20α OH Δ⁵PS = 20α-dihydroprogesterone sulfate; 16α OH Δ⁴P = 16α-hydroxyprogesterone; 17α OH Δ⁴P = 17α-hydroxyprogesterone; 6β OH Δ⁴P = 6β-hydroxyprogesterone; 20α OH Δ⁴P = 20α-dihydroprogesterone; DOC = deoxycorticosterone.

Az 5. táblázat a neutrális szteroidok nevezék-
tanának áttekintését segíti elő.

5. táblázat

NEUTRAL STEROIDS IN HUMAN PREGNANCY

TABLE 6.1 (continued)

11-Dehydrocorticosterone	21-Hydroxypregn-4-ene-3,11,20-trione
Corticosterone	11 β ,21-Dihydroxypregn-4-ene-3,20-dione
Deoxycorticosterone	21-Hydroxypregn-4-ene-3,20-dione
Cortisol	11 β ,17 α ,21-Trihydroxypregn-4-ene-3,20-dione
Cortisone	17 α ,21-Dihydroxypregn-4-ene-3,11,20-trione
6 β -Hydroxycortisol	6 β ,11 β ,17 α ,21-Tetrahydroxypregn-4-ene-3,20-dione
Aldosterone	11 β ,21-Dihydroxy-3,20-diketopregn-4-en-18-al
Pregnanolone	3 α -Hydroxy-5 β -pregnan-20-one
5 α -Pregnanolone	3 α -Hydroxy-5 α -pregnan-20-one
Isopregnanolone	3 α -Hydroxy-5 β ,17 α -pregnan-20-one
5 α -Pregnanediol	5 α -Pregnane-3 α ,20 α -diol
5 α -Pregnanedione	5 α -Pregnane-3,20-dione
5 β -Pregnanedione	5 β -Pregnane-3,20-dione
Pregnanetriol	5 β -Pregnane-3 α ,17 α ,20 α -triol
Tetrahydrocortisone	3 α ,17 α ,21-Trihydroxy-5 β -pregnane-11,20-dione
5 β -Dihydrocortisone	17 α ,21-Dihydroxy-5 β -pregnane-3,11,20-trione
Cortolone	3 α ,17 α ,20 α ,21-Tetrahydroxy-5 β -pregnan-11-one
Pregnenolone sulfate	20-Ketopregn-5-ene-3 β -yl sulfate
17 α -Hydroxypregnenolone sulfate	17 α -Hydroxy-20-keto-pregn-5-ene-3 β -yl sulfate
Pregnanolone sulfate	20-Keto-5 β -pregnane-3 α -yl sulfate
Pregnanediol sulfate	20 α -Hydroxy-5 β -pregnane-3 α -yl sulfate
Corticosterone sulfate	11 β -Hydroxy-3,20-diketopregn-4-ene-21-yl sulfate
Deoxycorticosterone sulfate	3,20-Diketopregn-4-ene-21-yl sulfate
11-Dehydrocorticosterone sulfate	3,11,20-Triketopregn-4-ene-21-yl sulfate
Cortisol sulfate	11 β ,17 α -Dihydroxy-3,20-diketopregn-4-ene-21-yl sulfate
Pregnanolone glucosiduronate	20-Keto-5 β -pregnane-3 α -yl- β -D-glucopyranosiduronic acid
Pregnanediol glucosiduronate	20 α -Hydroxy-5 β -pregnane-3 α -yl- β -D-glucopyranosiduronic acid
Others	
Squalene	2,6,10,15,19,23-Hexamethyltetracosane
Mevalonate (mevalonic acid)	2,6,10,14,18,22-hexaene
	3,5-Dihydroxy-3-methylpentanoic acid
Lanosterol	4,4 ¹ ,14 α -Trimethylcholesta-8(9),24-dien-3 β -ol
Cholesterol	Cholesta-5-en-3 β -ol
20 α -Hydroxycholesterol	Cholesta-5-ene-3 β ,20 α -diol
17 α ,20 α -Dihydroxycholesterol	Cholesta-5-ene-3 β ,17 α ,20 α -triol

A 6. táblázatban a vizelet neutrális sztero-
idjai vannak feltüntetve.

6. táblázat

Isolation of neutral steroids from human pregnancy urine	
Steroid isolated	Reference
C-19	
Androsterone	Marker & Lawson (1938), Younglai & Solomon (1968)
Isoandrosterone	Lieberman <i>et al.</i> (1948)
Dehydroisoandrosterone	Younglai & Solomon (1968)
16 α -Hydroxydehydroisoandrosterone	Siiteri & MacDonald (1966), Younglai & Solomon (1967)
Androst-5-ene-3 β ,16 α ,17 β -triol	Siiteri & MacDonald (1966), Younglai & Solomon (1967)
16 α -Hydroxyandrostenedione	Younglai & Solomon (1967)
16 α -Hydroxyetiocholanolone	
16 α -Hydroxyandrosterone	
3 α ,16 α -Dihydroxyandrost-5-en-17-one	
C-21	
Progesterone	Ismail & Harkness (1965)
5 β -Pregnanedione; 5 α -pregnanedione	Dobriner <i>et al.</i> (1948)
3 α ,6-Dihydroxy-5 α -pregnan-20-one;	Lieberman <i>et al.</i> (1948)
5 α -pregn-2-en-20-one	
3 α -Hydroxypregnane	Marker & Lawson (1938)
Pregnanolone	Marker & Kamm (1937), Lieberman <i>et al.</i> (1948), Shen <i>et al.</i> (1963)
5 α -Pregnanolone	Marker <i>et al.</i> (1937); Lieberman <i>et al.</i> (1948)
3 β -Hydroxy-5 α -pregnan-20-one	Pearlman <i>et al.</i> (1942); Lieberman <i>et al.</i> (1948)
Isopregnanolone	Lieberman <i>et al.</i> (1948), Ruse & Solomon (1966b)
Pregnanediol	Klopper <i>et al.</i> (1955), Marrian (1929), Dingemans <i>et al.</i> (1930)
5 α -Pregnanediol	Hartmann & Locher (1935), Marker & Rohrmann (1939), Kyle & Marrian (1951)
5 α -Pregnane-3 β ,20 α -diol	Marker & Rohrmann (1939)
15 α -Hydroxyprogesterone	Giannopoulos & Solomon (1967)
16 α -Hydroxyprogesterone	Ruse & Solomon (1966b)
3 α ,16 α -Dihydroxy-5 α -pregnan-20-one	Ruse & Solomon (1966a)
3 α ,16 α -Dihydroxy-5 β -pregnan-20-one	Ruse & Solomon (1966a)
5 α -Pregnane-3 α ,16 α ,20 α -triol	Hirschmann <i>et al.</i> (1961), Ruse & Solomon (1966a)
5 β -Pregnane-3 α ,16 α ,20 α -triol	Hirschmann <i>et al.</i> (1961), Ruse & Solomon (1966a)
Pregnanetriol	Ronan <i>et al.</i> (1960)
6 β -Hydroxycortisol	Frantz <i>et al.</i> (1960)
6 β ,17 α ,20 β ,21-Tetrahydroxypregn-4-ene-3,11-dione; 6 β ,11 β ,17 α ,20 α ,21-pentahydroxypregn-4-en-3-one;	Dixon & Pennington (1966)
6 α ,11 β ,17 α ,20 β ,21-pentahydroxypregn-4-en-3-one	
Conjugates	
Pregnane-3 β ,20 α -diol sulfate;	Crépy <i>et al.</i> (1962)
3 β -hydroxy-5 β -pregnan-20-one sulfate	
Pregnanediol-3 α -glucosiduronate	Odell & Marrian (1936), Venning & Browne (1936), Crépy <i>et al.</i> (1962)
Pregnanolone glucosiduronate	Crépy <i>et al.</i> (1962)

II. Módszerekről általában

A kromatográfiás célokra felhasznált vegyszerek többnyire a. lt. minőségűek voltak / Reanal; Budapest /. A vegyszereket szükségleteinknek megfelelően tisztítottuk tovább.

A kromatográfiás adszorbensek: Kieselgel G nach Stahl Merck és Reanal gyártmányúak, az összehasonlító anyagok közül az öszttron a Kőbányai Gyógyszerárúgyár ajándéka, míg az ösztradiol, dehidroepiandroszteron, androsztén-dion, dehidroepiandroszteron-szulfát és a dehidroepiandroszteron-acetát laboratóriumi készítmények voltak, kromatográfiásan tiszta állapotban. Az utóbbiak előállítása az irodalom jegyzékben megadott módszerekkel történt / 9, 10 /.

A kromatogramok előhívására IGV típusú ultrabolya lámpát, rétegezésre "Desaga" típusú rétegezőt használtunk.

A. Szteroidok inkubálása humán placentával

Az inkubáláshoz szükséges szöveti anyagot egészséges egyedtől származó 37-42 hetes terhességű humán placenta szolgáltatta, amely teljesen friss állapotban került feldolgozásra. Itt említjük meg, hogy a későbbi részekben tárgyalt magzatviz, placenta, köldökzsinór szteroid tartalmának összehasonlító vizsgálatai során a szöveti anyagot úgy válogattuk össze, hogy felölelje az egészséges 37-42 hetes terhes, Rh-negatív, cukorbe-

teg egyedek ill. sófeltöltésű abortuszok anyagát. A kataláz és peroxidáz tartalom meghatározása során különböző idejű, művi abortuszok alkalmával nyert placentákat is vizsgáltunk.

A humán placentát először a nagy mennyiségű szteroidot tartalmazó vértől kell tisztára mosni folyóvízzel ill. fiziológiás sóoldattal. A szövetmintát a 3. trimeszterben lévő placentáknál a méhlepény közepéről, közvetlenül a köldökzsinór betorkolása környékéről vettük, mivel ez a rész tartalmazott legkevesebb meszes gócot. A homogenizált szövetet három 20-25 grammos részre osztottuk. Az első részt kontrollként használtuk, a többi részhez, amit azonos mennyiségekre osztottunk, 0,1 grammnyi különböző szteroidot adtunk, a hozzáadott szteroid tökéletes eloszlását a homogenizálás biztosította. Ezután szobahőmérsékleten a homogenizátumokat egyik esetben egy órát, a párhuzamosoknál két-két órát inkubáltuk. / Az inkubálásoknál mindig a nedves szövetsúllyal számoltunk. / Az inkubálás után a három homogenizátumot dietiléterrel / 2x100 ml /, majd etil-acetáttal / 100 ml / extraháltuk. Az egyesített extraktumot vízmentes nátrium-szulfáttal szárítottuk. Ezután vákuumban N_2 áramban lepárolva az oldószert, a maradékot kloroformban oldottuk és rétegekromatografáltuk. A lapokat / 10x20 cm / Kiesel-G adszorbens felhasználásával készítettük, minden esetben 0,25 mm-es rétegvastagságú lapokat használtunk. A futtatószert legtöbbször ciklo-hexán-kloroform-jégecet 7:2:1 arányú elegye volt. A kromatogramm előhívására a foszfor-

sav-víz 1:1 arányú elegyét, vagy I_2 -gőzt használtunk. A I_2 -gőzben történő előhívásnál megkíséreltünk korábbi módszereinkkel kvantitatív összehasonlítást is eszközölni. Ilyenkor a lekapart I_2 tartalmú foltokat I_2 -lombikba gyűjtöttük és a 0,001 N nátrium-tioszulfát fogyásokat hasonlítottuk össze /11/.

B. A human placenta, funiculus umbilicalis és liquor amnii szteroid tartalmának vizsgálata

A placenta feldolgozása amikor csak a szteroid tartalmát határoztuk meg, hasonlóan történt az előző pontban ismertetetthez, eltekintve a szteroid hozzáadást.

A magzatvizet a vértől ill. a szilárd magzatmáztól 10 perces centrifugálással sikerült megtisztítani. Dekantálás után a magzatvizet előbb 2x100 ml dietil-éterrel, majd 100 ml etil-acetáttal extraháltuk, ezután az extraktumokat vízmentes nátrium-szulfáttal szárítottuk. A tiszta oldatot a korábban említett módon pároltuk le. A magzatviznél megpróbáltuk a centrifugálás után a szárazanyagot kinyerni, az extrahálás előtt. Ilyenkor az egyik esetben foszfor-pentoxidos exikátorban tartottuk a víztartalmú anyagot, ill. N_2 atmoszférában vákuum lepárlással. Miután az utóbbi két módszer lassabb és jelentős eltérés a szteroidokban nem mutatkozott, ezért legtöbbször az első módszert alkalmaztuk.

A köldökzsinórból kipréseltük a vért, csapvízzel, fiziológiás sóoldattal tisztára mostuk, ezután

zsilettel felapritottuk. A szteroidok kinyerését a már leírtak szerint végeztük extrakcióval.

A szteroidok kinyerése és összehasonlítása minden esetben az előző részben leírtak alapján történt. Ez biztosította az eredmények összevethetőségét.

C. Lipidek extrakciója

A placentából és a köldökzsinórból a vértől való leírt megtisztítás, mosás után 1 grammnyi nedves szövetet, a magzatvizből a centrifugálás után a felülúszóból 50 ml-nyi folyadékot vettünk extrakcióra. A szövetanyagot 4 ml metanol-kloroform /1:2/ elegyében elhomogenizáljuk, a homogenizátumot kiegészítettük az említett oldószereleggyel 20 ml-re, majd 2-3°C-on tartjuk 12 órát. Ezután az egész anyagot szűrőpapíron szűrjük, pótoljuk a párolgási veszteséget, és az oldatot az eredeti térfogatára egészítettük ki, szintén a már említett oldószer eleggyel. A szűrlet 1 ml-éhez zárt edényben 0,29 %-os NaCl oldatot adunk / a vízben oldódó szennyeződések kimosására /, összerázzuk az oldatot, majd ismét 12 órán át állni hagyjuk 2-3°C-on. Ezt követően a felső fázist leszívjuk, a két fázis közt levő fehér csapadékot meghagyva az alsó folyadékréteg felett. Ezt a fázist háromszor mossuk egyenlő térfogatú kloroform-metanol-víz /3:48:47/ elegyével. A mosások közt szintén állni hagyjuk az anyagot 12 órát 2-3°C-on, a felső fázist minden esetben leszivatjuk. Ezután az alsó fázishoz annyi

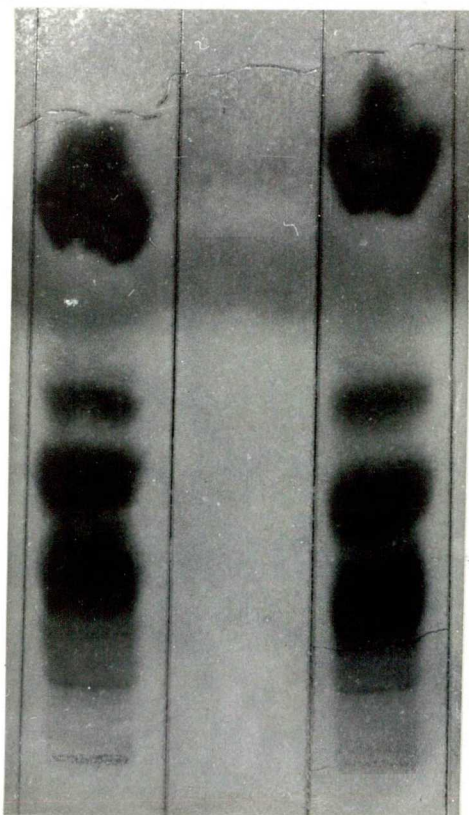
metanolt adunk, hogy a benne található csapadék feloldódjon és az oldatot bepárolva lemérjük az össz lipidek mennyiségét. A maradékot újra feloldjuk és a megfelelő részekből meghatározzuk az össz foszfor tartalmat.

A lipidek foszfortartalmának meghatározása

A nem zsírszövetre jellemző, hogy a bennük található lipidek 1 mg-ja 2 %-nyi foszfort tartalmaz. Ezt a tényt figyelembe véve egy 5 ml-es osztással ellátott kémcsőbe 0,5-5 γ -nyi foszfort tartalmazó próbát mérünk be, 0,5 ml 10 N kénsavat téve hozzá 2 órán át 150-160°C-on hevitjük homokfürdőn. Ezután a próbához hidrogén-peroxidot adunk és ismét hevitjük az említett hőmérsékleten a próba teljes elroncsolódásáig. A roncsolás után a próbához kb. 2 ml vizet, 0,2 ml 5 %-os ammónium-molibdát oldatot és 0,2 ml Fiske-Soubarrow reagenst adunk. / 200 ml 15 %-os nátrium-metabiszulfid oldatban feloldunk 0,5 gramm eikonogént / 1-amino-2 naftol-szulfonsav / és 1 gramm nátrium-szulfidot /.Végül a mintákat kiegészítjük 5 ml-re vízzel. A próbát tartalmazó kémcsövet 7 percig 100°C-os vízfürdőben tartjuk. Lehűlés után 830 nm-nél mérjük az extinciót. A kalibrációs görbét kálium-dihidrogén-foszfát 2 γ /ml koncentrációjú oldatával készítjük. Kontrollként desztillált vizet használunk. Minden vizsgált, vagy összehasonlító anyagot hasonlóan kell kezelni, a roncsolást is beleértve, hogy ezáltal kiküszöböljük a hidrogén-peroxid foszfor szennyeződésének zavaró hatását.

A kromatografálást Kieselgél G adszorbensen végeztük. A 20x10 cm-es méretű lapokat közvetlenül az anyag felvitele előtt 20 percig 150°C-on aktiváltuk. A lapon összehasonlítás céljából hagyunk üresen is sávot. A felvitt anyag mennyisége 2 mg-nyi lipid tartalmu, amelyet sáv formában viszünk fel, / lásd a 6. ábra 2. sávját /.

6. ábra



Először tetra-hidrofurán - metanol /3:1/ elegyében futtattuk 9 percig a lapokat, majd nitrogén áramban szárítva ismét 20 percig, kloroform-metanol-7 N vizes ammónia /60:35:5/ arányú elegyével azonos irányú futtatást végeztünk. Ezután a kromatogramot jódban előhívtuk, majd 24-36 órán át a felesleges jódot elpárologtattuk. A fol-

tokat a jódt eltávolítása után lekapartuk, kémcsőben roncsoltuk a már említett módon és a frakciókban fotometriás foszfor meghatározást végeztünk. Itt összehasonlítási célokra a hasonlóan kezelt, lipideket nem tartalmazó szilikagélt használtuk. A szilikagéltől centrifugálással választottuk el az oldatunkat. A nyert oldatot szükség-szerűen hígítottuk, hogy az extinció megfelelő méréstartományba essen. / A leírt eljárás további részleteit lásd Horváth Péter előadásában. //12/.

Ezúton szeretnék köszönetet mondani Horváth Péternek, amiért áldozatos munkájával lehetővé tette ezen fejezet sikeres megírását.

D. A humán placenta kataláz és peroxidáz tartalmának meghatározása

A placenta vértelenítésére a kataláz, peroxidáz meghatározásnál más módszert alkalmaztunk, mint az előző részekben ismertetett. Először 0,9 %-os konyhasót és 1 % toluolt tartalmazó oldatot rétegeztünk a placenta-ra, ezzel a placenta felületére tapadt vért eltávolítottuk, majd a placentát homogenizáltuk a Potter-féle homogenizátorban. Az így nyert véres placenta pépet ezután többször átmostuk a fenti oldattal, majd desztillált vízzel mindaddig, amíg a felülúszó folyadék vérmentes lesz. Ebből a placenta pépből vettük aztán a vizsgálati anyagot. Miután a mérés eredményét az anyag nedvesség tartalma nagy mértékben befolyásolja, minden e-

setben szárazanyag meghatározást végeztünk, és eredményeink kiszámolásánál az így nyert értékekkel számoltunk.

A kataláz meghatározást a következőképpen végeztük L ö b és munkatársa módszerét véve alapul / lásd a 13. citátumot /. Kimértünk kétszer 0,5 gramm nedves súlyú , mosott placenta pépet, az egyiket 15-20 percig főztük az enzim inaktiválására, ez volt a kontroll minden esetben, majd mindkettőhöz hozzáadtunk 50 ml 0,0067N 6,8 pH-jú foszfát pufferrel készült 0,01 N nátrium-perborátot. Az oldat felülúszójából kimértünk 3 percenként 5 ml-es mintákat, amelyekhez még hozzáadok 5 ml 2 N kén-savat, ami az enzim reakciót is leállítja. Az oldat peroxid maradékát 0,005 N kálium-permanganáttal visszatitráltuk / 13, 14 /.

A peroxidáz és kataláz együttes meghatározását K o v á c s és munkatársa / 15 / módszerével végeztük. A mérés menete a következő: 10 ml 0,01 N nátrium-perborát oldathoz 5 ml 5,6 pH értékű foszfát puffert és 2 ml 0,1 M pirokatechin oldatot adtunk, végül 1 gramm nedves súlyú placenta homogenizátumot, amely előkészítését a fenti módszerrel végeztük. Egyidejűleg a stopper-órát megindítottuk. 1 perc múlva a reakciót 1 ml 20 %-os kén-sav hozzáadásával leállítottuk. Ezután 1 ml 30 %-os KI-ot adva az oldathoz, keményítő indikátor mellett elszíntelenedésig titráltuk. A végpontot akkor érjük el, ha a visszakékülés 5 perc után sem következik be. A tit-

rálásra 0,01 N nátrium-tioszulfát oldatot használtunk. Az oxidációhoz elhasznált nátrium-perborát mennyiségének megadására az említett cikkben javasolt jódszámot használtuk, ami az 1 perc alatt az oxidálásra felhasznált nátrium-perboráttal egyenértékű jód mennyiségét jelenti mg-ban.

A peroxidáz meghatározására / 13, 14 / citátumunk módszereit alkalmaztuk. A tisztára mosott placenta pépből 1 grammot kimértünk. Hozzáadtunk 2 ml 0,02 M guaicol, 5 ml foszfát puffert és 2 ml 0,01 N nátrium-perborát oldatot. Alaposan összeráztuk, és 15-30 sec múlva megmértük az extinkcióját 470 nm-nél.

III. Eredmények

A. Szteroidok inkubálása humán placentával

A 7. ábrán feltüntetett rétegekromatogramunk egyes oszlopai a 40 hetes terhességi idejű egészséges egyedtől származó humán placenták különböző szteroidokkal történt inkubálás utáni extraktumainak futtatásából származnak. A könnyebb áttekinthetőség miatt nem tüntetünk fel minden egyes oszlopban az ott szereplő összes foltot, hanem csak az inkubációval kapcsolatosakat. A II. oszlopban azonban bemutatjuk az egészséges humán placenta extraktum kromatogramjában szereplő összes foltot, amelyeket természetesen tartalmaznak az ábrán feltüntetett összes többi oszlopok is. Az egyes oszlopok az alábbi sorrend szerint mutatják az eredményeket:

I. Összehasonlító anyagok alulról felfelé növekvő Rf-értékek szerint: DEA-szulfát, androszténdion, ösztradiol, DEA, DEA-acetát, öszttron, progeszteron, koleszterin.

II. Humán placenta extraktum.

III. Öszttron inkubálása humán placentával.

IV. Ösztradiol inkubálása humán placentával.

V. Androszténdion inkubálása humán placentával.

VI. DEA inkubálása humán placentával.

VII. DEA-acetát inkubálása humán placentával.

VIII. DEA-szulfát inkubálása humán placentával.

9. ábra

[illegible]

A terhesség különböző idejében egészséges humán placentákból nyert extraktumok szteroidjainak kromatogramját láthatjuk a 10. ábrán. Az egyes oszlopokban a következő sorrend szerint találhatók:

- I. Összehasonlító anyagok / az előzőekhez hasonló sorrendben /.
- II. 34 hetes terhességi idejü.
- III. 39 hetes terhességi idejü.
- IV. 40 hetes terhességi idejü.
- V. 41 hetes terhességi idejü.

10. ábra

I.	II.	III.	IV.	V.
	○	8	8	○
	8	8	8	○
○	○	○	○	○
○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
○○○	○○○	○○○	○○○	○○○
○	○	○	○	○
○	○	○	○	○
○	○	○	○	○
○	○	○	○	○

Az azonosításnál a foltok látható és UV-fényben észlelhető színeit is felhasználtuk az elkülönítésre.

C. Lipidek extrakciója

A kísérleti eredményeinket az alábbi táblázatokban tüntetjük fel. A 7. táblázat a foetoplacentális egység általunk vizsgált részeiben található összlipid ill. foszfolipid mennyiségeket és egymáshoz való arányukat tünteti fel.

7. táblázat

Humán placenta		Funiculus umbilicalis		Liquor amni	
össz- lipid	foszfo- lipid	össz- lipid	foszfo- lipid	össz- lipid	foszfo- lipid
1,54%	0,92 %	0,316%	0,171 %	0,0374%	0,012%
100%	59,7%	100%	54,1%	100%	32,0%

A mérések során 6 gramm nedves súlyú placentában 2210 γ volt az összlipid foszfor tartalom, a funiculus umbilicalis 5 gramm nedves súlyában 342 γ összlipid foszfor, a liquor amni 30 ml-ében 143 γ összlipid foszfor volt található.

A 8. táblázat a foetoplacentális egység egyes részeiben található lipidfrakciók megoszlását mutatja százalékosan.

8. táblázat

Frakciók neve	Humán placenta	Funiculus umbilicalis	Liquor amni
	Foszfolipidek megoszlása össz-P %-ban		
Start /?/	2,47	2,66	1,25
Lizolecitin	5,42	3,63	4,84
Szfingomielin és szerin foszfatid	18,1	27,26	10,06
Lecitin	45,9	40,04	77,54
Kefalin	20,6	15,52	4,16
Foszfatidil glicerol	1,05	2,22	2,65
Kardiolipin	1,86	4,11	
Foszfatidsav	4,65	4,57	0,48
Összfoszfolipid	100,09	100,01	100,98

D. A humán placenta kataláz és peroxidáz tartalmának meghatározása

A kataláz enzim meghatározásakor nyert mérési eredményeket a következő, 9. táblázat tartalmazza.

9. táblázat

Terhesség ideje	Száraz- anyag	K ₃	K ₆	K ₉	K ₁₂
7 hét	0,0955	0,0279	0,0368	0,0416	0,0438
8 hét	0,1431	0,0217	0,0334	0,0381	0,0412
12 hét	0, 1572	0,0205	0,0275	0,0315	0,0339
40 hét	0,4717	0,0130	0,0159	0,0165	0,0175

A K értékét az irodalomban megadott

$$K = \frac{1}{t} \lg \frac{A}{A-x}$$

összefüggés alapján számítottuk ki, ahol:

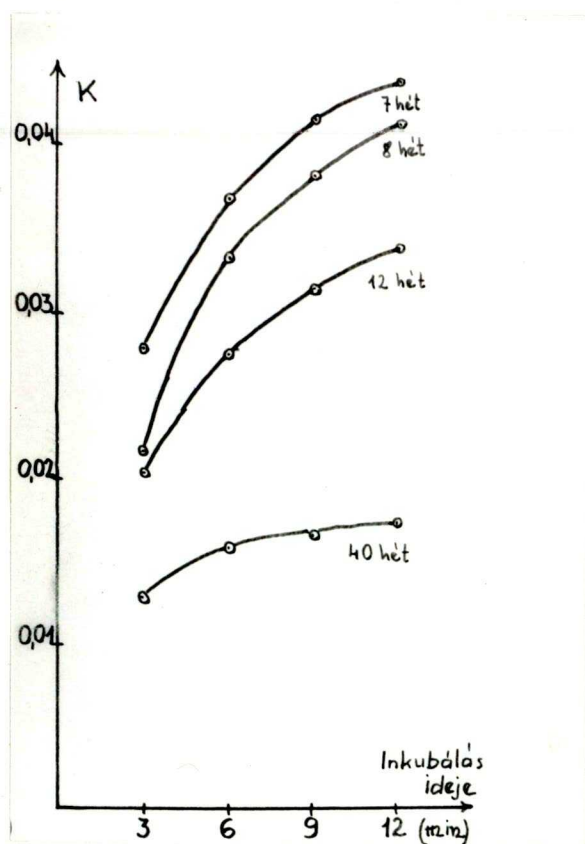
t = a peroxid bomlás ideje percekben

A = KMnO_4 fogyás a 0. percben

A-x = KMnO_4 fogyás a 3. 6. 9. és a 12. percben

A 11. ábra ábrázolja a K értékeit az idő függvényében különböző terhességi idejű humán placénták esetében.

11. ábra



Az irodalomban megadott eljárás segítségével előállított placenta pép nedvesség tartalma erősen változó volt. Miután az általunk vizsgált enzimeket a száraz anyag tartalmazta, így számításainkat visszavezettük az illető homogenizátum szárazanyag tartalmára. Ez elég-

g   eltérő volt, ezért minden esetben a konkrét száraz anyag   rt  ekkel számoltunk.

A kataláz és peroxidáz együttes meghatározásakor nyert eredményeket a 10. táblázat tartalmazza.

10. táblázat

1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.
6	1	0,029411	0,029411	43,1	36,33	0,9175
8	2	0,05818	0,02909	38,0	15,82	6,045
10	0,5	0,09253	0,18507	37,0	9,91	7,502
12	1	0,11588	0,11588	33,8	7,51	8,122
440	1	0,18237	0,18237	43,0	5,84	8,504

A táblázat egyes oszlopaiban az alábbiak találhatók:

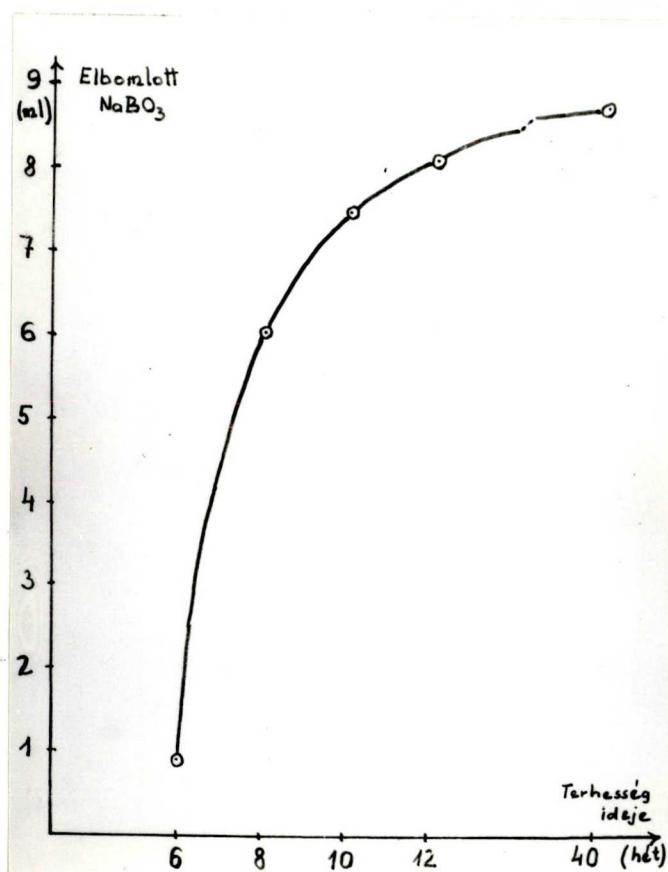
1. A terhesség ideje hetekben.
2. A nedves homogenizátum tömege grammokban.
3. A száraz homogenizátum tömege grammokban.
4. Száraz homogenizátum/ nedves homogenizátum aránya.
5. 0,005 N nátrium-tioszulfát fogyasztása ml-ben /f=0,843/
6. Vonatkoztatott nátrium-tioszulfát fogyasztása ml-ben.

Összehasonlítási alapul önkényesen a 6 hetes placenta azon szárazanyag mennyiségét vettük, amelyre 43,1 ml 0,005 N / $f=0,843$ / nátrium-tioszulfát fogyott. Miután meghatároztuk ezen szárazanyag mennyiségekkel a többi anyagra feltételesen fogyott mennyiségeket, ezen $f=0,843$ értékű oldatunkat $f=1,00$ értékű oldatra korrigáltuk. Ezt az adatot tartalmazza a 6. oszlop.

7. Az elbomlott 0,01 N nátrium-perborát mennyisége ml-ben. Az eredetileg hozzáadott perborát mennyiségből levontuk a megtitrált mennyiséget.

A 10. táblázat eredményeit a 12. ábra mutatja be grafikusan.

12. ábra



A peroxidáz meghatározásakor mért eredményeket a 11. táblázatba foglaltuk.

11. táblázat

1.	2.	3.	4.	5.	6.
6	1	0,1678	0,158	23,8	0,142
10	1	0,1843	0,235	353,5	1,940
40	1	0,1615	0,235	353,5	2,190

A táblázat egyes oszlopai a következő adatokat tartalmazzák:

1. A terhesség ideje hetekben.
2. A nedves homogenizátum tömege grammokban.
3. A számított szárazanyag tartalom grammokban.
4. A 470 nm-en mért extinkciós koefficiens.
5. Az enzim koncentráció μM -ban, amelyeket a :

$$\frac{4 \times \text{ext. coeff.}}{26,6} \text{ mM} = \text{enzim koncentráció} \\ \text{/mM-ban/}$$

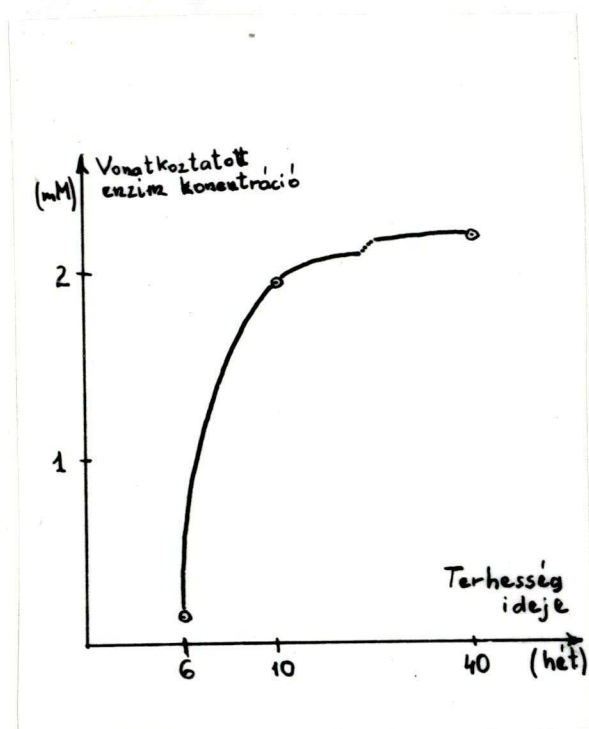
képlet alapján számítottuk ki.

6. Vonatkoztatott enzim koncentrációt tartalmazza mM-ban. Az előzőekhez hasonlóan itt is egységes szárazanyag tartalomra vonatkoztattuk a mért ill. számított e-

redményeinket, mindhárom anyagnál 1 gramm tömegű száraz-
anyagra.

A terhesség idejének függvényében ábrázoltuk
az egységes szárazanyag tartalomra vonatkoztatott enzim
koncentrációt a 13. ábrán.

13. ábra



IV. Az eredmények összefoglaló értékelése

A dolgozat eredményeinek a sorrendjében a következő megállapításokat tehetjük - előre bocsátva azt, hogy az irodalmi részben szereplő adatok A. Kopper és E. Diczfalusy : " Foetus and Placenta " c. könyvében szerepelnek - :

a./ Az általunk vizsgált körülmények között az ösztron, az ösztradiol, az androszténdion és a dehidroepiandroszteron nem szenved semmiféle változást. A dehidroepiandroszteron- 3β -szulfát a szulfatáz, és a dehidroepiandroszteron-acetát az eszteráz hatására hidrolizist szenved / lásd 7. ábra /.

b./ A 8. ábra a magzatviz / II., III., oszlop /, a köldökzsinór / IV., V. oszlop / szteroidjait hasonlítja össze. Az ábra alapján világosan látható, hogy a magzatviz a legszegényebb szteroidokban. Főleg ösztron, progeszteron és dehidroepiandroszteron-szulfát mutatható ki extraktumában.

A köldökzsinór szövete és a placenta viszont közel áll egymáshoz szteroid összetételre nézve.

c./ A 9. ábra, ami a normál, sófeltöltéses abortusos, diabeteses, Rh-negatív egyedek placentáinak a szteroidjait igyekszik kvalitatíve összehasonlítani, nem mutat lényeges eltérést. Érdekes azonban, hogy az előző 8. ábrán a köldökzsinór extraktumból, a 9. ábrán viszont az Rh-negatív placenta extraktumából lehetett

össztriolt kimutatni.

d./ A 10. ábra a 34., 39., 40. és 41. hetes placenták szteroid extraktumait hasonlítja össze. Ezek az eredmények még további kvalitatív és főleg kvantitatív tanulmányozást igényelnek.

e./ A lipidek mennyiségi és minőségi összetétele, amellyel mi foglalkoztunk először, azt mutatják, hogy szövet súlyra számítva a placenta tartalmazza a legtöbb lipidet. A magzatviz és a köldögzsinór lipid szegény. A placentában legjelentősebb a lecitin mennyisége, de ez az összes többi vizsgálati objektumra is vonatkozik. A lecitin mennyiségét a placentában a kefalin és a szfingomielin követi, míg a másik két vizsgált objektumban közvetlenül a szfingomielin mennyisége. A többi lipid frakció aránya mindegyik objektumnál a 10 % alatt marad.

f./ Megvizsgáltuk a különböző korú placenták peroxidáz és kataláz aktivitását, abból a célból, hogy felvilágosítást kapjunk arra, hogy szerepet játszhatnak-e az említett enzimek a normális anyai 16α -hidroxilálásban.

A vizsgálataink azt tükrözik, hogy a kataláz aktivitás mértéke, jelentősen lecsökken az idősebb placentában. Ezzel szemben a peroxidáz mennyisége fokozódik.

A 16α -hidroxilálás szempontjából, eddigi

in vitro tanulmányaink alapján a peroxidázok szerepe sokkal egyértelműbb.

Tehát az eredményeink alátámasztják azon feltételezésünk, hogy a peroxidázok - mint nem specifikus hidroxilázok - szerepet játszanak a normális terhességben oly nagy mennyiségben megjelenő ösztriol szintézisében.

Ezen a helyen szeretnék köszönetet mondani

Dr. M a t k o v i c s B é l a docens Urnak témám
kijelöléséért, és vezetéséért. Köszönöm, hogy lehető-
vé tette kísérleteimnek Intézetében történő elvégzését,
hogy munkám során nyújtott messzemenő segítségével ez
a dolgozat elkészült.

Dr. J a k o b o v i c s A n t a l adjunk-
tus Urnak köszönöm, hogy vizsgálataimhoz szükséges szö-
veti anyagot mindenkor rendelkezésemre bocsájtotta.

Köszönetet mondok a J A T E Biokémiai Cso-
portja munkatársainak munkám során nyújtott hasznos se-
gítségükért.

I R O D A L O M

1. A. Klopper; E. Diczfalusy: Foetus and Placenta. Blackwell Scientific Publications, Oxford and Edinburgh / 1969. /
2. Excerpta Medica. Internat. Congress Series No. 210. V.H.T. James: III. Internat. Congress on hormonal steroids. Excerpta Medica Foundation, Amsterdam / 1970. /
A 3-7. sorszám alatti cikkek a 2. citátumban megadott kiadványból valók.
3. E. Bolté; H. Hellig és Y. Lefebvre: Maternal cholesterol as precursor of steroids in human pregnancy. 66. kivonat.
4. J.W. Reynolds: Metabolic disposition in the foeto-placental unit and mother of prominent fetal and neonatal blood and urinary steroids. 71. kivonat.
5. G. Telegdy and E. Diczfalusy: Steroids metabolism in the human foeto-placental unit at mid-gestation. 65. kivonat.
6. B.P. Lisboa: Metabolism of Δ^4 -3-oxo-steroids in the human foetus ad mit term. 68. kivonat.
7. J.R. Pasqualini: Formation and transformation of adrenocortical hormones in the foeto-placental unit. 67. kivonat.

8. A.E. Schindler; V. Ratanasopa: Acta Endocrinol.
/ Kbh. / 59, 239 / 1968. /
9. M. Marian; B. Matkovics; Sz.I. Varga: Acta Phys.
Chem. 17, 85. Szeged, / 1971. /
10. Elsevier's Enciclopedia of Org. Chemistry, Vol.
14, Suppl: 1999a; 2004s; 2742s; 2743s; Springer-
Verlag, Berlin / 1959. /
11. A. Jakobovits; B. Matkovics; R. Ferenczi: Magyar
Nőorv. Lapja 33, 427. / 1970. /
12. P. Horváth, XII. Biokémiai Vándorgyűlés előadásai,
I. kötet, 167-177. oldal, 1971. Pécs.
13. W. Löb; S. Higuchi: zur Kenntnis der Placenta-
enzym. Biochem. Zeitschr. 22, 316-336. / 1909. /
14. S.P. Colowick; N.O. Kaplan: Methods in Enzymology
vol II.
15. E. Kovács; B. Matkovics: Kísérletes Orvostudomány
10, 92-93. / 1958. /

T A R T A L O M

Bevezetés	1.
Irodalmi áttekintés	3.
Módszerekről általában	18.
Szteroidok inkubálása humán placentával	18.
A humán placenta, funiculus umbilicalis és liquor amnii szteroid tartalmának vizsgálata	20.
Lipidek extrakciója	21.
A humán placenta kataláz és peroxidáz tartalmának meghatározása	24.
Eredmények	27.
Az eredmények összefoglaló értékelése	40.
Irodalom	44.

