DOKTORI DOLGOZAT

ADATOK AZ EMBERI VÉR ÉS VÖRÖSVÉRTESTEK KÜLSŐ KÖRÜLMÉNYEK HATÁSÁRA BEKÖVETKEZŐ OXIDATIV ENZIM VÁLTOZÁSAIHOZ

Készitette:

Szabó László

biológus

Készült:

JATE Biológiai Izotóp Laboratóriumában

1983-ban, Szegeden

SZEGED
B 2383

TARTALOMJEGYZÉK

I. BEVEZETÉS

A témaválasztás indoklása

II. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

1. Vérkonzervek

2. Genetika determinált betegségek

a. Duchenne izom disztrófia

b. Mukoviszcidózis

c. Léguti betegségek

d. Down-szindróma

3. Különböző koru ujszülöttek hiperbilirubinémiás vvt. AE rendszerének változásai

4. Különböző elme kórformák vvt. enzim változásai

III. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

IV. SAJÁT EREDMÉNYEK

V. ÉRTÉKELÉS

VI. ÖSSZEFOGLALÁS

VII. IRODALOM

RÖVIDITÉSEK ÉS *EC* SZÁMOK

ACD	= acid-citrát-dextróz
ACD-A,G	= acid-citrát-dextróz-adenin-guanin
AE	= antioxidáns enzimek
CPD	= citrát-foszfát-dextróz
CPD-A,G	= citrát-foszfát-dextróz-adenin-guanin
DTNB	= 5,5'-ditiobisz /2-nitro-benzoesav/ /Ellman-reagens/
DMD vagy DMP	= Duchenne muscular dystrophy = Distrophia musculorum progressiva
GP-áz	= glutation peroxidáz /EC 1.11.1.9/
H_2O_2	= hidrogén peroxid
K-áz	= kataláz /EC 1.11.1.6/
LP	= lipid peroxidáció
MO	= molekuláris oxigén
MDA	= malondialdehid
PAE	= peroxid anyagcsere enzimek
O_2^-	= szuperoxid anion v. gyök
SOD	= szuperoxid dizmutáz /EC 1.15.1.1/
TBA	= tiobarbitursav
TCA	= triklórecetsav
TRIS	= Trisz /hidroximetil-aminometán/
vvt.	= vörösvértest

I. BEVEZETÉS

A JATE Biológiai Izotóp Laboratóriumában már régóta foglalkozunk az oxigén anyagcsere enzimek egy csoportjával, amit összefoglaló néven peroxid anyagcsere enzimeknek vagy ujabban antioxidáns enzim rendszernek neveznek.

A szervezetben molekuláris oxigénből egy vagy két elektron átvitellel keletkező gyökök, valamint azok protonált formái, a biomolekulák reverzibilis vagy irreverzibilis károsításához vezethetnek. Ezeket a károsításokat védik ki, illetve mérsékelik az antioxidáns enzimek.

$$O_2^- + O_2^- + 2H^+ \xrightarrow{SOD} H_2O_2 + O_2 \qquad /a/$$

$$H_2O_2 + H_2O_2 \xrightarrow{K\text{-áz}} 2H_2O + O_2 \qquad /b/$$

$$AH_2 + H_2O_2 \xrightarrow{P\text{-áz}} A + 2H_2O \qquad /c/$$

$$2GSH + H_2O_2 \xrightarrow{GP\text{-áz}} GSSG + 2H_2O \qquad /d/$$

A LP általános sémáját nem tulságosan egyszerü megadni, de röviden ugy irhatjuk le, mint a MO-ből keletkező gyökök, a H_2O_2 és a telitetlen zsirsavak reakcióját.

Vizsgálataim objektumául a humán vörösvértesteket választottam és tanulmányoztam a humán vörösvértestek fent emlitett reakcióit:

1./ A transzfuziós célokra 4 ^oC-on különböző tartósitó szerekben tárolt humán vérekben.

2./ Genetikailag determinált anyagcsere betegségekben szenvedő gyermekek vérében.

a./ Duchenne izom disztrofiában /DMD/

b./ Mukoviszcidozisos esetekben

c./ Léguti betegségekben - elsősorban asztmában - szenvedő gyermekekben

d./ Down-szindromában

/A fenti munkák a SZOTE Gyermek Klinikájával közös vizsgálatok./

3./ A Szegedi Városi Tanács Gyermek Kórházával közös munkánkban és elsősorban a különböző koru ujszülöttek vvt. AE rendszerének az összehasonlító vizsgálatát végeztem el. Emellett foglalkoztunk a kék fény, B_2-vitamin és kék fény, valamint vércserék következtében létrejövő AE változásokkal az ujszülöttkori hiperbilirubinaemiában. Vizsgáltam a DOTE Gyermek Klinika munkatársaival együttműködve a D-penicillaminnak hasonló hatásait is.

4./ A SZOTE Ideg és Elme Klinikájának munkatársaival különböző elme kórformák vvt. anyagcserében mutatkozó eltéréseit hasonlitottam össze.

II. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

Mann és Keilin /1939/ a citokromok izolálásával közel egy időben izoláltak egy réz tartalmu fehérjét a májból. Ezt a fehérjét a réz tartalma miatt kupreinnek, kék szine miatt kék fehérjének /"blue protein"/ nevezték.

Az emlitett időtől egyre szaporodott a megismert kupreinek száma, amit a továbbiakban kiindulási anyaguk alapján hepato-, hemato-, cerebro- stb. kupreinnek neveztek el.

A kupreinek nemcsak az állati szövetekben fordulnak elő, hanem a növényekben, sőt még általánosabban az összes élőlényben megtalálhatók, voltak. Ezen általános elterjedtségük ellenére funkciójukról nem sokat tudtak. Nem olyan régen McCord és Fridovich /1969/ vizsgálatai deritettek fényt ezen széles körben elterjedt anyagcsoport katalitikus funkciójára, amit az /a/ reakciósorral irtunk le a "Bevezetés"-ben.

A MO aktiv formáit már szintén régóta ismerik, többek között Haber és Weiss /1934/ vizsgálatai óta. A már fent emlitett két szerző az ismeretanyagok összekapcsolásával alakitotta ki az oxigén gyökök enzimes eliminációjával és elsősorban a szuperoxid anion "citotoxikus" hatásával kapcsolatos elképzelését, amivel - ma már elmondhatjuk - az oxigén gyökök hatásával foglalkozó vizsgálatok "uj virágkorát" inditották el a biológiában /Fridovich, 1974; Fridovich, 1975; Fridovich, 1979/. A fenti területen az egész világon, többek között hazánkban is mind több kutatás indult el. Minden második évben az erre a területre eső legfontosabb

eredményeket szimpózium és kiadványok foglalják össze /Michelson et al., 1977; Bannister et al., 1980; Bannister et al., 1980; Cohen et al., 1983/.

A gerincesek szervezetében eddigi ismereteink szerint két SOD tipus fordul elő, az egyik főleg a mitokondriumokban, mig a másik a citoplazmában található. Az első mangán tartalmu metalloenzim /Mn-SOD vagy 2. tipusu SOD/, mig a másik réz-cink tartalmu /Cu, Zn-SOD vagy 1. tipusu/. Az általam vizsgált vvt.-ekben csak az utóbbi enzim, a Cu, Zn-SOD fordul elő. A két enzim azonos reakciót katalizál és az eukariótákban az enzim duplikátum elsősorban a toxikus oxigén gyökök elleni kettős védelmet biztositja a maganyagok /nukleinsavak/ számára, amelyek O_2^- érzékenyek.

1973-tól rendszeresen foglalkozunk a SOD-okkal és elsősorban a vvt.-kből izolálható Cu, Zn-SOD sajátságaival. Eleinte elsősorban a Cu, Zn-SOD izolálása és szerkezet vizsgálata képezte a kutatások alapját, mig később összehasonlító kvantitativ aminosav analiziseket végeztünk a normál humán vvt.-kből és a diabeteszesek vvt.-ből izolálható Cu, Zn-SOD-okból. A vvt. enzim mennyiségi aminosav analiziséből arra lehetett következtetni, hogy diabeteszben a vvt. SOD oxidative károsodott, ami együtt jár az enzim lényegesen alacsonyabb dizmutáz aktivitásával is /Kerese és mts., 1970; Matkovics és mtsai, 1982/. Analizis adatainkból elsősorban azért gondoltunk az enzim fehérje oxidativ károsodására, mert az irodalomban közölt H_2O_2 kezelés a SOD molekulán hasonló aminosav változásokat eredményez /Bray et al., 1974;

Sinet et al., 1981/. A molekula Cys és His tartalma alacsonyabb a diabeteszes vérből izolált Cu, Zn-SOD-nak, mint a kontroll vvt. dizmutáznak /Matkovics et al., 1982/. Az emlitettek mellett az Arg, Phe és Tyr mennyiségi értékei igen magasak a diabeteszes SOD-ban.

Irodalmi citátumokkal kapcsolatban csak a közel multra kivánok támaszkodni, bár a vizsgálatoknak természetesen korábbi irodalmi előzményei is vannak. Először általánosságban Butterfield et al. /1980/ vvt.-kel kapcsolatos vizsgálataira utalok. Az emlitett szerzők elsősorban a központi idegrendszer betegségeiben tapasztalták, hogy a vvt. enzimek aktivitása a betegeknél a legtöbb esetben eltér az egészségeseknél mérhető aktivitásoktól. Nekünk először itt az általunk vizsgált enzimek és egyéb komponensek normál értékeit kellett meghatározni az általunk használt enzim aktivitásmérő módszerekkel. Ezért kezdtük vizsgálataink a Szeged Vérellátó Állomásról beszerzett vérek enzim aktivitás vizsgálatával. Itt a célkitüzésünk kettős volt, egyik, hogy meghatározzuk, az általunk vizsgált enzimek változnak-e valamilyen módon aktivitásukban a különböző konzerváló oldatokban azonos hőmérsékleten 4 ^{o}C-on. Másik célkitüzésünk az volt, hogy az általunk vizsgált komponensek változásából levonhatók-e olyan következtetések, amelyek felhasználhatók a vérkonzervek transzfuziós célokra történő alkalmasságának az eldöntésére?

A leggyakrabban használt konzerváló oldatokban CPD, CPD-A,G, ACD és ACD-A,G megvizsgáltuk, hogy a konzerváló

ágensek hogyan befolyásolják az általunk tanulmányozott AE-ket és a LP-ot.

A következő elsősorban gyermekgyógyászati megelőzés szempontjából fontos munkánkban szintén arra törekedtünk, hogy vizsgálatainkkal valamilyen diagnosztikai szempontból hasznos módszert találjunk a bevezetésben felsorolt genetikailag jól definiált betegség csoportokban. Nézzük először a DMP-t. A DMP olyan örökletes genetikailag jól definiált betegség, ami viszonylag rövid idő alatt a beteg gyermekek halálát okozza, ezért az érintett populációk korai vizsgálata fontos. Ugyanezek az alapelképzelések vezettek bennünket a mukoviszcidozisos /az angolszász irodalomban cystic fibrosis a kórkép neve/ gyermekek vizsgálatában. Az előző esetben - a DMP-nél - több vizsgálatot végeztek az általunk is vizsgált enzim rendszer aktivitásának a tanulmányozására, egyrészt az érintett izom szövetben, másrészt a vörösvértestekben /Kar et al., 1979; Francis et al., 1976; Laurent et al., 1980; perkins et al., 1980; Burri et al., 1980; Sommer, 1980; Matkovics et al., 1982/.

Mukoviszcidozisban nincs fentihez hasonló előzménye az AE vizsgálatoknak és az oxidativ változásoknak. Mi itt a problémát abból a szempontból vizsgáltuk, hogy legalább részlegesen a mukoviszcidozisra jellemző kórképben nem következik-e be az anyagcsere oxidativ részének a fokozódása. Eddig erre csak Feigal et al. /1979/ és Campbell et al. /1976/ vizsgálatai szolgáltattak bizonyos támpontot. Ez annyit je-

SZEGED

lent, hogy az emlitett szerzők munkái utaltak arra, hogy a mukoviszcidozisban az O_2 ellátottság, a membránok lipid összetétele megváltozik. Az eddigi vizsgálatok alapján nehéz eldönteni, hogy a fent emlitett változások elsődlegesek vagy másodlagosak. Ezért mukoviszcidozisos gyermekek és szüleik vérében tanulmányoztuk az AE-ket és a lipid peroxidáció alakulását elsősorban az oxidativ anyagcsere szerepének a tisztázására, másrészt annak érdekében, hogy a szülőknél melyik ágon lehetséges esetleg a betegségben tapasztalt anyagcsere eltérések nyomára bukkanni. Korábban elért eredményeinkről kongresszuson számoltunk be /Gyurkovits et al., 1981/, majd eredményeink közleményben foglaltuk össze /Matkovics et al., 1982/. A mukoviszcidozis lokalizációjának egyik gyakori formája a felső léguti tünetekkel járó megbetegedés. Ez volt az oka annak, hogy megvizsgáltuk a léguti betegségekben elsősorban asztmában szenvedő beteg gyermekek vvt. AE aktivitását és a TBA pozitiv anyagok mennyiségét a plazmában, valamint a vvt.-kben.

A SZOTE Gyermek Klinikájával végzett közös vizsgálatok közül az utolsó csoportot a Down-kórban szenvedő gyermekek összehasonlító vvt. anyagcsere vizsgálata képezte. Downszindromában már korán kimutatták, hogy a SOD aktivitása fokozódik a vvt.-kben /Frants et al., 1975/. Ezen eredményekből arra gondoltak, hogy a Cu, Zn-SOD szintézis a 21-es kromoszómához kapcsolódik /Concetti et al., 1976/. Végül még foglalkozni kellett Sinet /1982/ összefoglalójával, aki egyértelmüen a MO-ből keletkező gyököket teszi felelőssé

a Down-szindromában észlelhető változásokért. A Down-szindromához kapcsolódó mérések vezettek bennünket is a bevezetés utolsó szakaszában emlitett idegrendszeri megbetegedéseknél végzett vizsgálatainkhoz. Ugyanis többek között Walford /1982/ megállapitotta, hogy a Down-szindromában, Alzheimer-megbetegedésben és a központi idegrendszer korral, vagy betegségekhez kapcsolódó öregedési jelenségei között összefüggés van. Ezekre a problémákra még a bevezetés 4. részében emlitett vizsgálatainknál visszatérek.

Vizsgálataink fontos részét képezték azok a vizsgálatok, amelyekben egyrészt a különböző gesztációs idő után született ujszülöttek vér AE aktivitásait és LP értékeit hasonlitottuk össze. A különböző gesztációs idejü ujszülöttek vvt. SOD aktivitását hasonlitja össze Saik et al. 1982-ben publikált munkájában. Különbséget azonban csak ugy sikerült a vvt. enzim aktivitásokban kimutatni, ha a vizsgált ujszülötteket korai és késői gesztációs csoportokra osztották. Végül is a vizsgálatokat azért végezték, hogy az oxigén terápia okozta fokozottabb károsodásokat összefüggésbe hozhassák a vvt.-ek kisebb SOD aktivitásával.

Másik összehasonlitásunk azt a célt szolgálta, hogy a hiperbilirubinémiák miatt végzett vércserék, "kék-sugár" kezelések, vércserék és együttes "kék-sugár" kezelések, valamint a B_2 vitaminnal iniciált forszirozott bilirubin lebontások következtében létrejövő vvt. AE változásokat megvizsgáljuk és valamilyen módon közös nevezőre hozzuk.

Ujszülöttkori hiperbilirubinémiák megszüntetésére való törekvésekkel kapcsolatban végeztünk vizsgálatokat a D-penicillamin /D-PA/ hatásmechanizmusának a tisztázására is.

Néhány szóban megemlitem, hogy a 4. csoportba sorolt munkánkban idegrendszeri betegségek - helyesebben elme kórformák - létrejöttének a tanulmányozását és lefolyását vizsgáltuk. Vagyis azt, hogy a vvt. oxidativ változásai valamilyen összefüggésben vannak-e a következő betegségekben:
a./ Sizofrénia /kezelt és gyógyszer mentes esetekben/,
b./ Szenilis demencia, c./ depresszió, d./ maniako-depressziva és e./ delirium tremens.

A vvt. enzim aktivitás változásokkal kapcsolatban már emlitettem, Butterfield et al. /1980/ közleményét, akik számos idegrendszeri megbetegedésben, nevezetesen: Huntington-betegségben, Friedreich-ataxiában, Alzheimer betegségben, amiotrofiás lateral szklerózisban, miotoniában, valamint DMD-ben megvizsgálták a vvt. membránok biofizikai és biokémiai változásait. Enzimek közül a /Na^+ + K^+/-, valamint a /Mg^{2+}/-ATP-ázt és a protein kinázt vizsgálták. A változásokat a Friedreich-ataxia és az Alzheimer-megbetegedések kivételével specifikusnak találták. Ezek az eredmények és a korábbi vvt. enzimekkel kapcsolatos eredményeink felbátoritottak arra, hogy a felsorolt esetekben a vvt. AE aktivitásait és LP értékeit összehasonlitsuk.

III. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

A felhasznált anyagok tulnyomó része "Reanal" készitmény, néhány vegyszer és enzim "Sigma" illetve "Merck" gyártmány volt. Ezeket az anyagokat további tisztitás nélkül használtam fel a kisérletekben. A vér alvadásgátlására használt heparin /10 NE/ml vér/ a Kőbányai Gyógyszerárugyár injekciós készitménye volt.

Az enzimek aktivitásának mérésére Specord UV-VIS /Jena, NDK/, a többi meghatározáshoz MOM 360-as spektrofotométert használtam.

A minták gyüjtését a kooperáló intézmények végezték és bocsátották rendelkezésemre. Ez azért is természetes, mert a szükséges esetekben a diagnózisok megállapitásáért, valamint az anyagok megfelelő formában történő eljuttatásáért is a kooperáló partnerek voltak a felelősek.

A minták előkészitése

Általában a v. cubitusból vett vért heparinnal alvadásgátolták, és a mérések elkezdéséig 4 ^{o}C-on tárolták. Az első 500 g-s centrifugálás után a vvt szedimentet 3-szor mostam fiziológiás /0,9 %/ NaCl oldattal, majd desztillált vizzel 10-szeres higitásu hemolizátumot készitettem belőle. Mérésekre vagy a hemolizátum aliquotjait, vagy pl. a SOD aktivitás meghatározásnál az etanol : kloroform keverékkel kezelt mintát használtam.

Meghatározási módszerek:

A fehérjék mennyiségét minden esetben Lowry et al. /1951/ módositott Folin reagens segitségével mértük.

Reagensek:

1./ 2 %-os Na_2CO_3 0,1 N NaOH-ban oldva

2./ 0,5 %-os $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 1 %-os K, Na-tartarátban oldva

3./ 50 rész 1-es és 1 rész 2-es oldatot összekeverünk /frissen készitendő!/

4./ Kétszeresére higitott Folin-Ciocalteau fenol reagens

Meghatározás:

5 µl hemolizátumot 1 ml-re higitunk desztillált vizzel, majd 4 ml 3-as reagenst adunk hozzá. 10 perces szobahőn történő inkubálás után 0,5 ml 4-es reagenssel 30 percig inkubáljuk szintén szobahőmérsékleten a mérendő mintát. A kialakult szint 675 nm-nél fotometráljuk. A mennyiségi értékelés marha szérum albuminnal készitett kalibrációs görbe felhasználásával történt.

Lipid peroxidáció meghatározását mindig Placer et al. /1966/ céljainknak megfelelően módositott spektrofotometriás módszerével végeztük akár a plazmából, akár a hemolizátumból történtek a mennyiségi mérések. Itt mindig az össz-tiobarbitursav pozitiv anyag mennyiségét mértük meg és adtuk meg malondialdehid /MDA/ mennyiségben nM MDA/g fehérje vagy /l plazma/.

Reagensek:

1. 10 rész 10 %-os perklórsav oldat TBA-val telitve
2. 30 rész 20 %-os triklórecetsav oldat

Meghatározás:

0,5 ml hemolizátumhoz vagy plazmához 4,5 ml reagenst adunk és az elegyet 20 percig forró vizfürdőben tartjuk. A csapadékos oldatot a hütés után centrifugáljuk, és a felüluszót 532 nm-nél fotometráljuk. Az MDA értékeket a kalibrációs görbe segitségével adjuk meg. A kalibrációs görbét Placer és mts. /1966/ cikkében emlitett módszer segitségével készitettem, malondialdehid-diacetált használva MDA forrásként.

SOD aktivitás meghatározás /Misra et al., 1972/ és Matkovics et al. /1977/.

Reagensek:

1./ 0,05 M-os karbonát puffer /pH 10,2/
2./ 16,488 mg adrenalin 10 ml 0,01 N HCl-ban oldva

Minta előkészitése:

Itt a minta előkészitése eltér az általánosan használttól, amennyiben a 10-szeres higitásu hemolizátum 1 ml-ét 0,5 ml 2:1 arányu etanol : kloroform keverékkel intenziven összerázzuk. Centrifugálás után a hemoglobin mentes fölüluszót használjuk a meghatározásokhoz.

Kontrol: 2,9 ml puffer és 0,1 ml adrenalin oldat keveréke

Minta: 2,9-x ml puffer, x ml minta, 0,1 ml adrenalin

Referencia oldat: 2,9 ml-x ml puffer és x ml minta

A szuperoxid gyök koncentrációtól függő adrenalin-adrenokrom átalakulást fotometriásan 480 nm-nél követjük, 25 ^{o}C-on. Egy egység az az enzim mennyiség, amely a kontroll reakciót 50 %-ban gátolja.

K-áz aktivitás meghatározását mindig Beers et al. /1952/ módszere szerint végezzük. Az enzim által katalizált reakció / H_2O_2 bontás!/ ugy is leirható, mint a H_2O_2 dizmutációja. A reakció egyenlet a következő:

$$H_2O_2 + H_2O_2 \longrightarrow O_2 + 2H_2O$$

/lásd a korábbi /b/ reakciót!/

Az aktivitás mérésnél a reagensek:

1./ 0,05 M-os foszfát puffer pH = 7,0-es

2./ 0,03 M-os H_2O_2 oldat

Meghatározás:

2,0 ml fenti puffer, 1 ml H_2O_2 oldat és 5 µl százszorosra higitott hemolizátum. Az összehasonlító oldat 3 ml puffert és az előbbi bemérésnél emlitett azonos térfogatu hemolizátumot /jelen esetben 5 µl/ tartalmaz. A H_2O_2 fogyást fotometriásan követjük 240 nm-nél. Általában az eredményeink Bergmeyer egységekben /BE/ adtuk meg. A BE azt a K-áz akti-

vitást jelenti, amikor a K-áz hatására percenként 1 g H_2O_2 fogy 25 ^{o}C-on.

Glutation peroxidáz mérés /Chiu et al. 1976, Sedlak et al. 1968/.

Reagensek:

1./ 0,05 M-os TRIS-HCl puffer pH 7,6-os

2./ 6 mg redukált glutation /GSH/ 10 ml fenti pufferben

3./ 5 µl kumen-hidroperoxid oldat 10 ml fenti pufferben

4./ 20 %-os TCA oldat

5./ 0,4 M-os TRIS-HCl puffer pH 8,9-es

6./ 0,0198 g DTNB 5 ml metanolban oldva

Az enzim aktivitás mérés lényege, hogy a korábbi /d/ reakciósor értelmében a maradék GSH-t mérjük vissza és ebből számitjuk ki a GP-áz aktivitást.

Meghatározás:

A nem specifikus GSH fogyás kiküszöbölésére a következő kontrollt készitjük:

0,7 ml pufferhez 0,1 ml tizszeres hemolizátumot és 0,1 ml GSH oldatot adunk. 10 percig 37 ^{o}C-on inkubáljuk, majd 1,0 ml TCA-val leállitjuk a reakciót, és 0,1 ml kumen-hidroperoxidot adunk hozzá.

A minta: specifikus és nem specifikus GSH fogyás meghatározása.

A reakcióelegy összetétele azonos a kontrolléval, csak itt a GSH és kumen-hidroperoxid oldatokat egyszerre adjuk

SZEGED

a rendszerhez. Ezt követi a 10 perces inkubálás és a TCA-val való leállitás. Ezután a kontrollt és a mintát azonosan kezeljük. Centrifugálás után 1 ml felüluszóhoz 2 ml pH 8,9-es TRIS-HCl puffert és 0,1 ml DTNB oldatot adunk. 5 perc eltelte után 412 nm-nél spektrofotometráljuk. /A dinitrobenzoesav moláris extinkciós koefficiense ε_{412nm}= 13.600./

A guajakolos P-áz meghatározás egy sor specifikus, másrészt nem specifikus reakció végeredményét adja. Nem minden esetben mértem P-áz aktivitást és ha mértem, akkor azt ugy foghatjuk fel, mint össz-peroxidáz meghatározást /Maehly et al., 1955/.

IV. SAJÁT EREDMÉNYEK

1./ A korábbi tárgyalás sorrendjében először a 4 ^{o}C-on különböző alvadásgátló és tápoldatban tárolt vérek két AE aktivitás /SOD és K-áz/ és az LP időbeli változásával foglalkozunk.

Itt kívánom előzetesen leirni a különböző konzerválószer és tápoldat összetételét, amit a vérek tárolására leggyakrabban használnak:

a./ <u>ACD-oldat</u> /savanyu-citrát-dextróz oldat/:

30.0 g infuziós célokra használt glükóz

20.0 g ugyancsak infuzióra alkalmas nátrium citrátot

5.1 g citromsav

1.7 g Carbon Norit

1000.0 ml infuziós desztillált vizben feloldva.

b./ <u>ACD-A, G-oldat</u> /sav-citrát-dextróz-adenin-guanin oldat/:

Összetétele, mint fent, csak adenint /A/ és guanint /G/ tesznek még az oldatba.

Az adenin és guanin végkoncentrációja /0.25 M/.

c./ <u>CPD-oldat</u> /citrát-foszfát-dextróz oldat/:

/Minden használt anyag infuziós célokra használható tisztaságu!/

25.5 g glükóz

26.3 g nátr.-citrát

3.27 g citromsav

2.22 g Na_3PO_4

1.7 g Carbo Norit

1000.0 ml deszt. viz

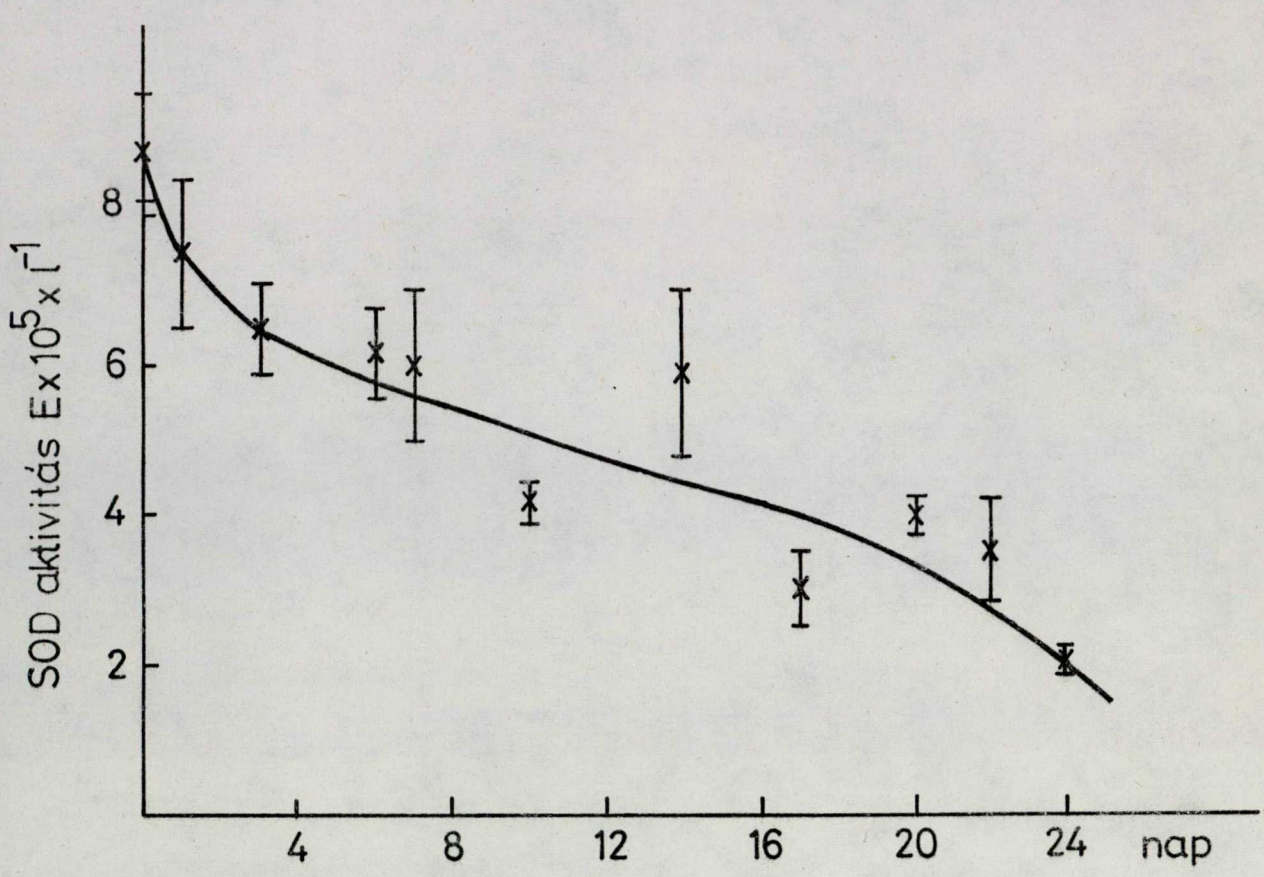
d./ CPD-A,G-oldat /citrát-foszfát-dextróz-adenin guanin oldat:

Ugyanaz, mint c., csak 0.25 M végkoncentrációban tartalmazza a két purin bázist.

A konzerváló oldatok pH értéke 4,9 - 5,4 között van /Zsadánszky és mtsai, 1975/. 350 ml vérhez az ACD és ACD-A,G konzerválószerből 88 ml adtunk és igy került steril körülmények között az 500 ml-es edénybe, mig a CPD és CPD-A,G konzerváló szerekből ugyanolyan mennyiségü véghez 45 ml-t adtunk. Ez annyit jelentett, hogy az első esetben kb. 100 ml légtér volt a vér készitmény felett, mig a második esetben 70 ml. Ezeket azért bocsátottam előre, mert később rájöttünk, hogy a levegő bekerülése a vér készitménybe nagy szórást okozott az enzim aktivitás és LP meghatározásainkban. Később ezt ugy kerültük el, hogy a friss vér készitményeket eleve szétosztottuk steril fiolákban 3-3 ml-re és a mintavétel napján azokat dolgoztuk fel. SOD és K-áz méréseink mindig a vvt.-ek SOD és K-áz aktivitás meghatározására irányultak, mig az LP mértékét mind a felüluszóból, mind a vvt.-kből meghatároztuk.

A korábbi állitás alátámasztására bemutatom a teljes vér konzervből sterilen vett mintából mért SOD aktivitási értékeket, amit a 3-3 ml-es mintákból meghatározott SOD aktivitási értékek követnek az eltartási idő és konzerválószer függvényében.

Az 1. ábra tehát a teljes vérkonzervből kivett azonos térfogatu minták SOD értékeit és azok átlag hibáit tünteti fel az idő függvényében ACD, mint konzerválószer esetén.



1. ábra

ACD konzerválószerrel tartósitott humán vérkonzerv vvt. SOD aktivitás változása az idő függvényében.

A 2.-5. ábrákon a 3-3 ml-es minták mért értékeit foglaljuk össze ACD, ACD-A,G, CPD és CPD-A,G konzerválószer sorrendben SOD aktivitásra vonatkozóan.

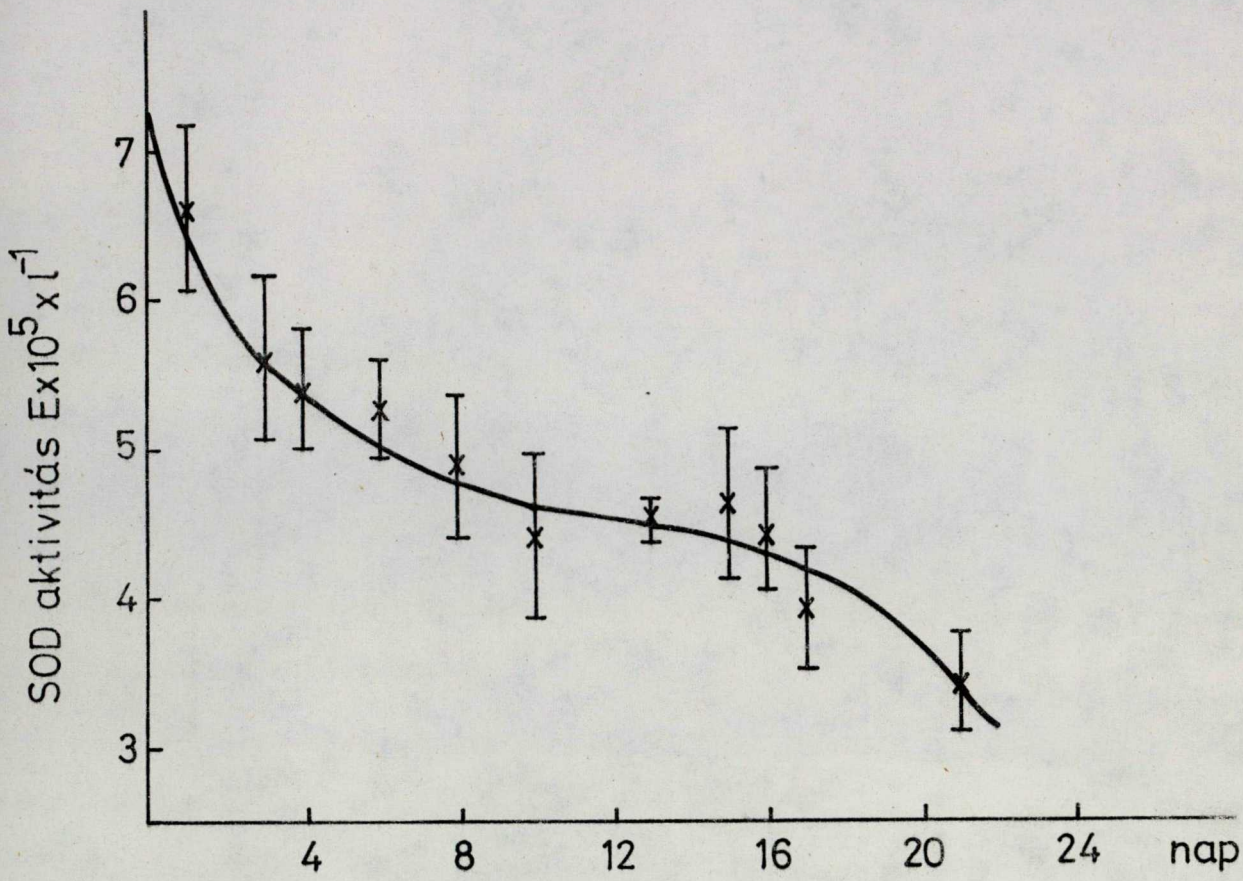
Ezen mérések alapján, de a további ábrákon bemutatott enzim aktivitási értékek is a vér konzervek, valamilyen belső dinamizmusát tükrözik. Ezek a változások a levegőtől talán már függetlenek.

A 6. ábrán az ACD és ACD-A,G konzerválószerrel tartósitott vérek K-áz aktivitás változását tüntettük fel időben a vérkonzerv lejártáig, mig a 7. ábrán a CPD és CPD-A,G konzerváló szerrel mért enzim aktivitási értékeket mutatjuk be.

A következő négy ábra /8-11. ábra/ a már eddig használt sorrendben az ACD és ACD-A,G konzerválószerrel tartósitott plazmák /8. ábra/, majd hemolizátumok /9. ábra/, majd ezeket követően a CPD és CPD-A,G konzerválószerrel tartósitott plazmák /10.ábra/ és hemolizátumok /11. ábra/ LP értékeit hasonlitjuk össze.

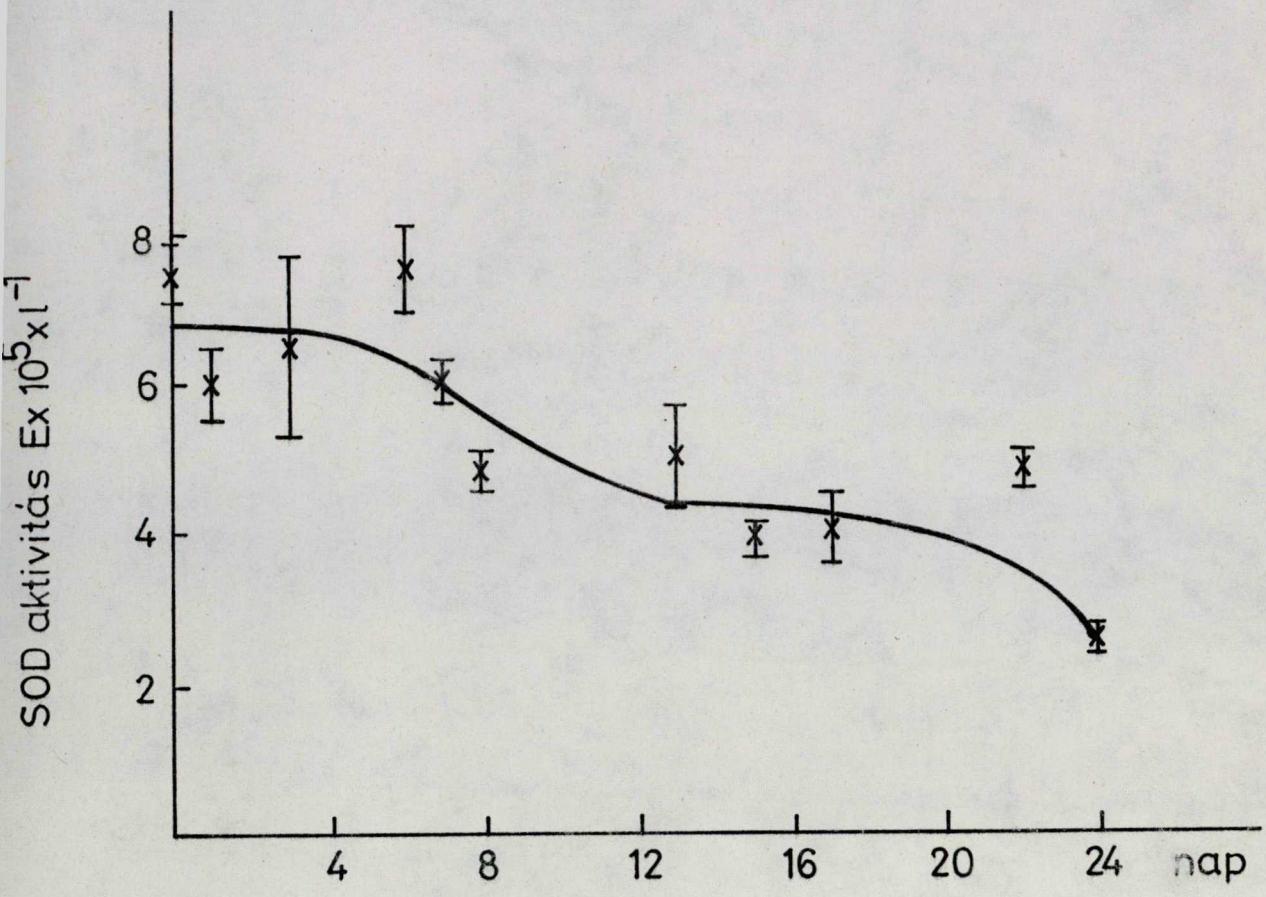
Ezeken az ábrákon is egy sajátságos aktivitási dinamizmus figyelhető meg. /Az eredmények értékelésére még visszatérünk./

2./ Vizsgálataink másik nagy csoportját képezték a genetikailag jól definiált anyagcsere betegségekben észlelhető vvt. AE aktivitás változás feltérképezése. A méréseinknek az volt a célja, hogy esetleg az AE változások, vagy a LP érték eltérések felhasználásával olyan jól használható jelzőrendszer birtokába juthatunk, amit később diag-



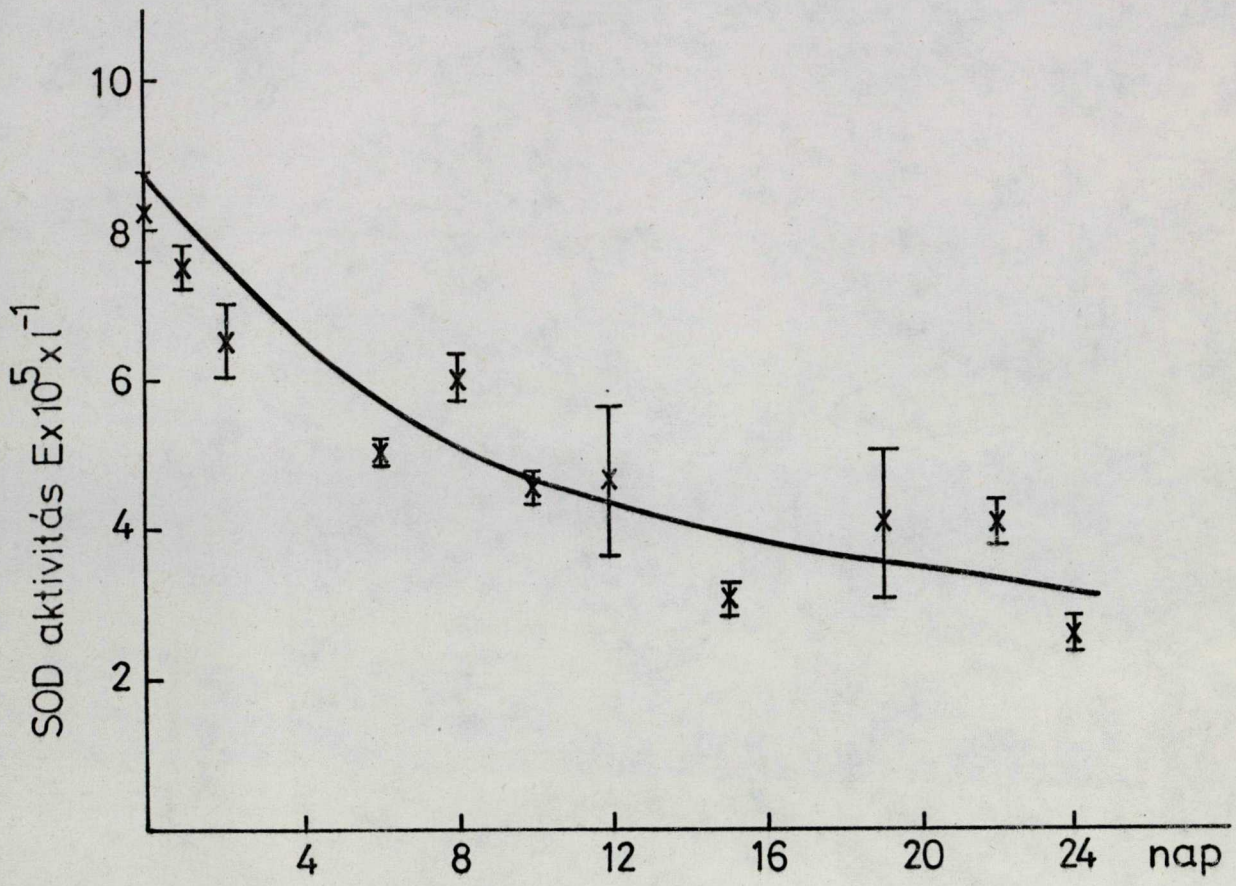
2. ábra

ACD konzerválószerrel tartósitott humán vérkonzerv vvt. SOD aktivitás változása az idő függvényében.



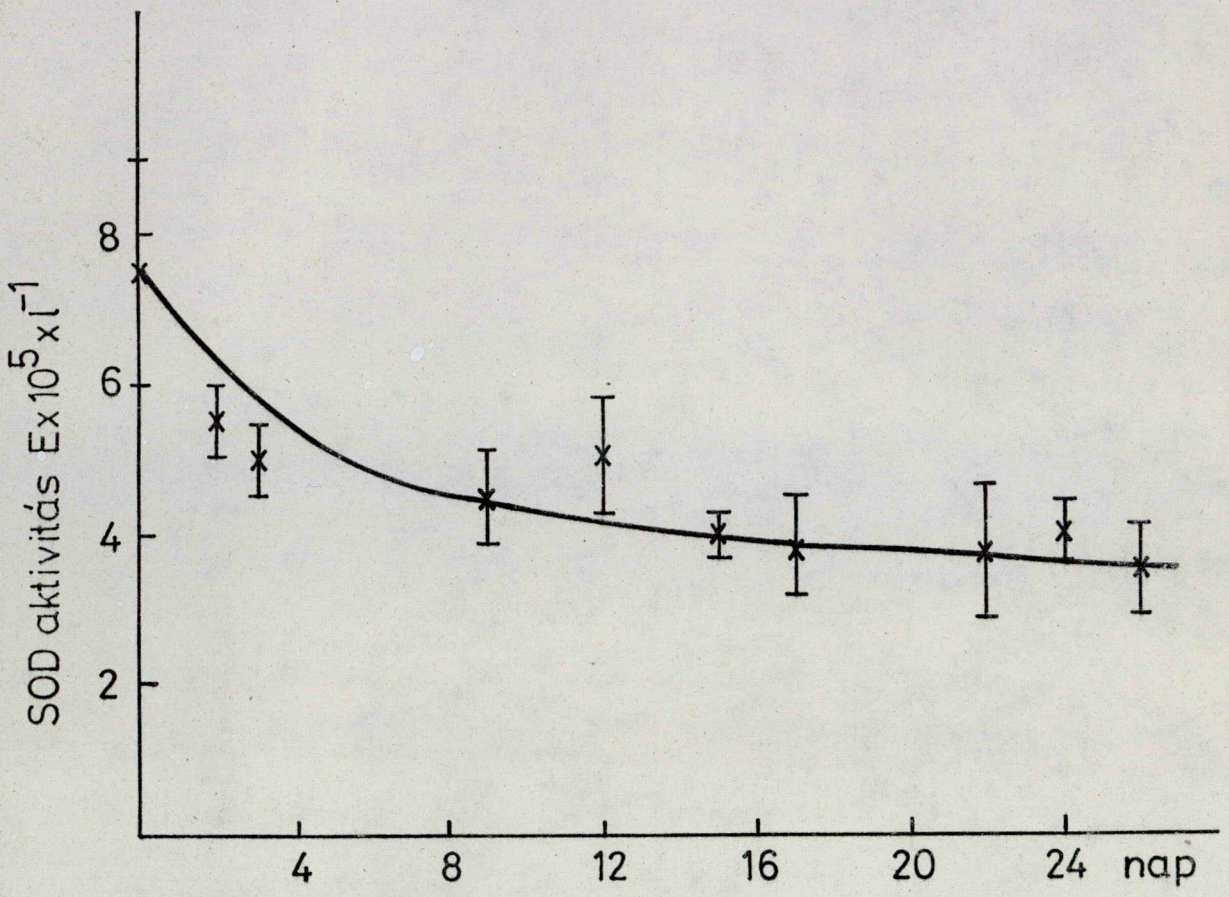
3. ábra

ACD-AG konzerválószerrel tartósitott humán vérkonzerv vvt. SOD aktivitás változása az idő függvényében.



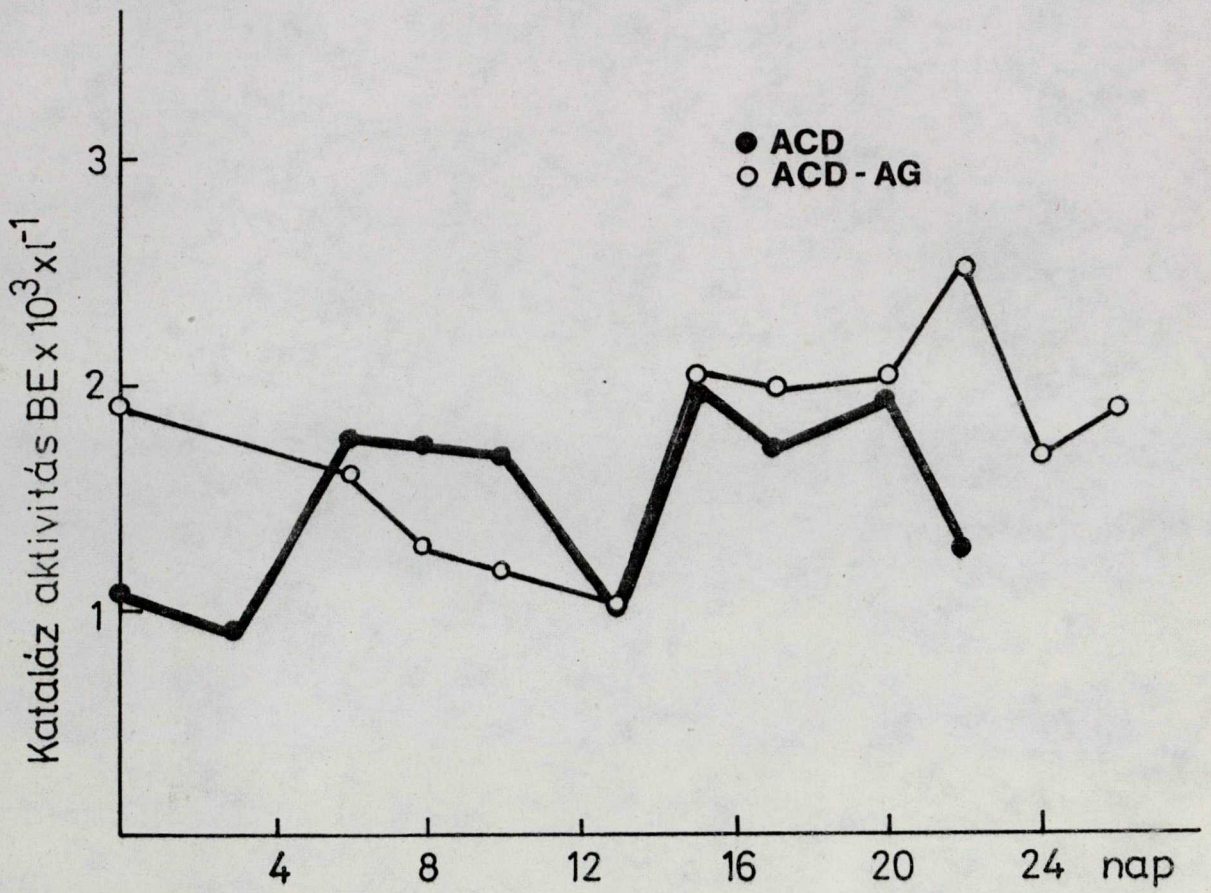
4. ábra

CPD konzerválószerrel tartósitott humán vérkonzerv vvt. SOD aktivitás változása az idő függvényében.



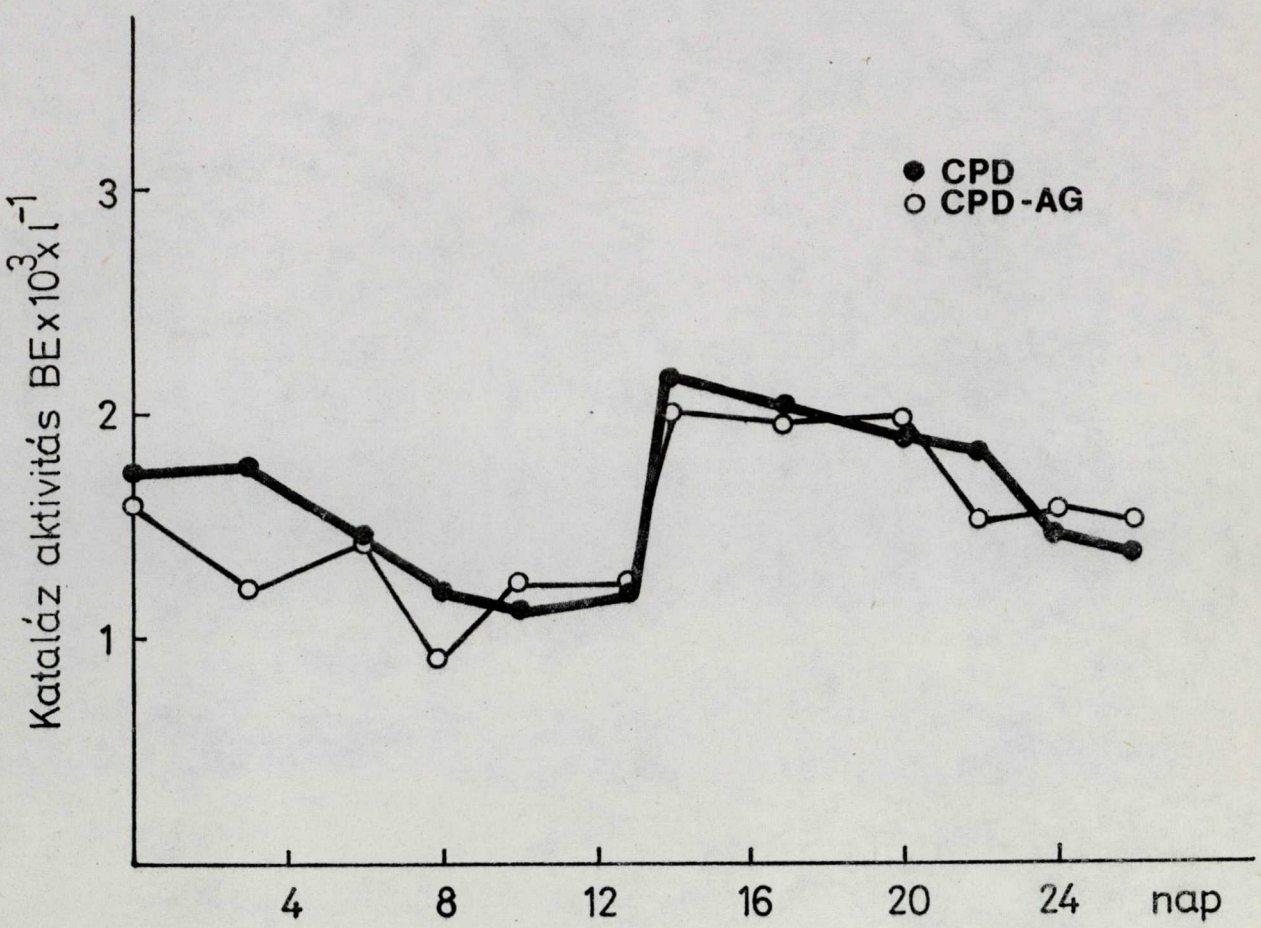
5. ábra

CPD-AG konzerválószerrel tartósitott humán vérkonzerv vvt. SOD aktivitás változása az idő függvényében.



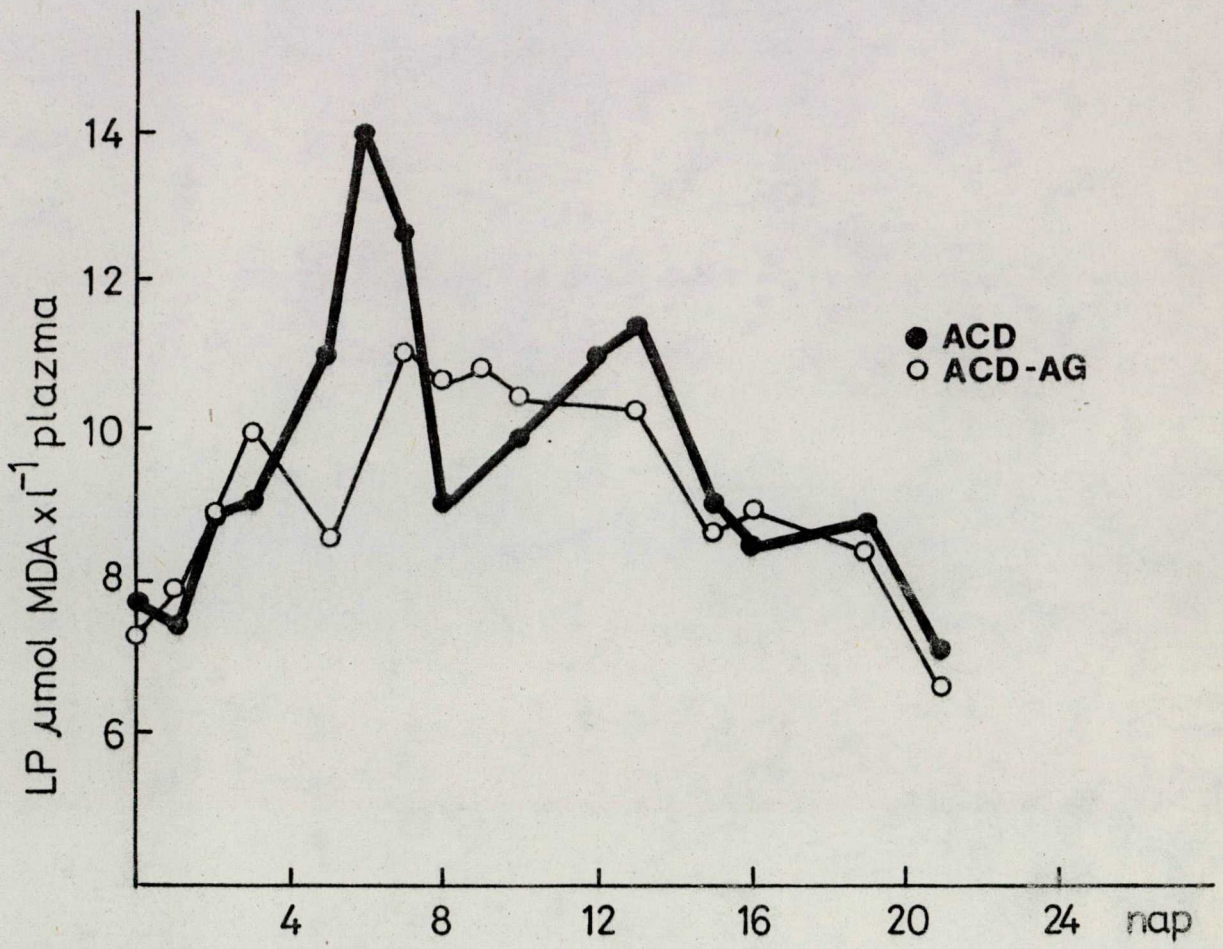
6. ábra

ACD és ACD-AG konzerválószerrel tartósitott humán vérkonzervek vvt. kataláz aktivitás változása az idő függvényében.



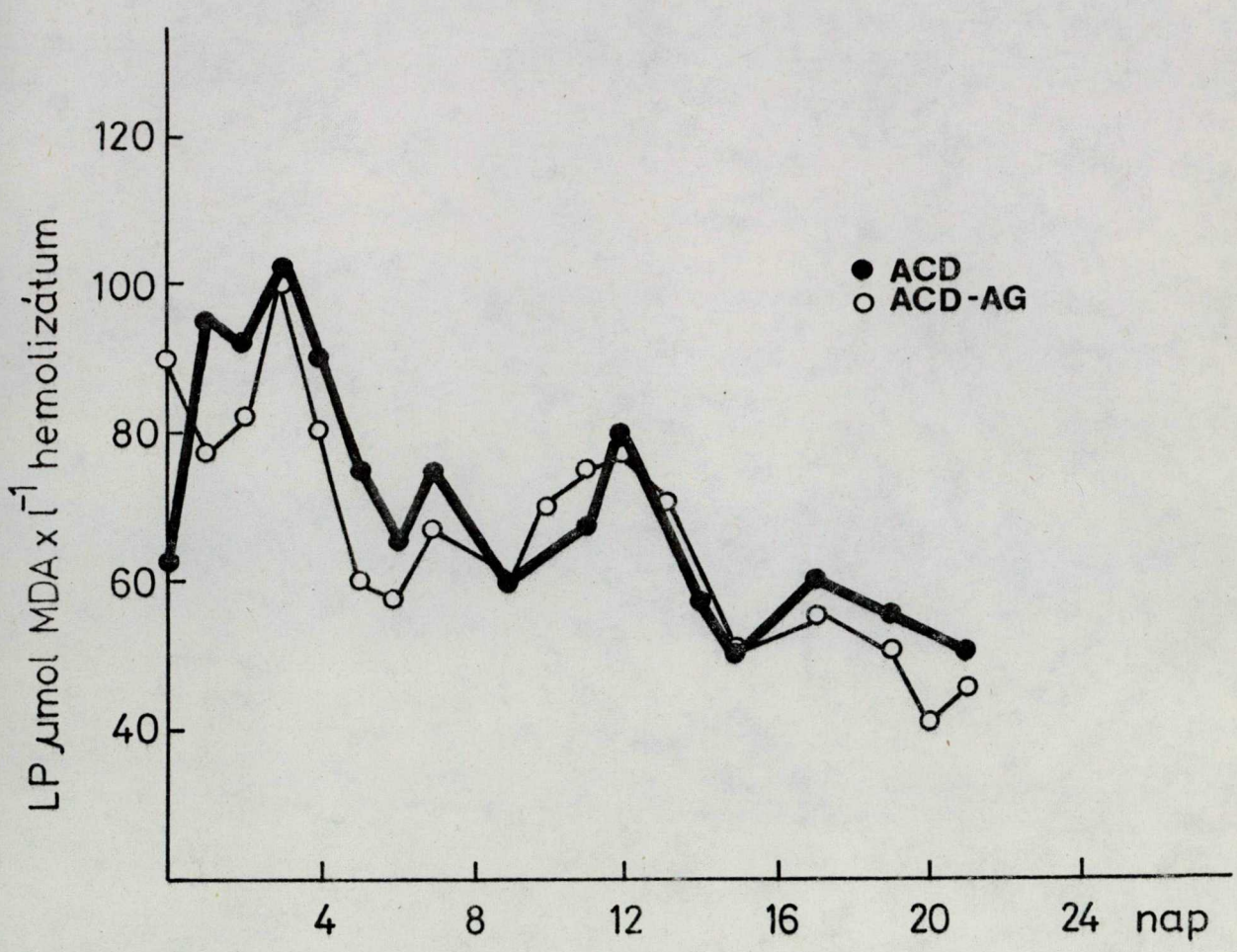
7. ábra

CPD és CPD-AG konzerválószerrel tartósitott humán vér-konzervek vvt. kataláz aktivitás változása az idő függvényében.



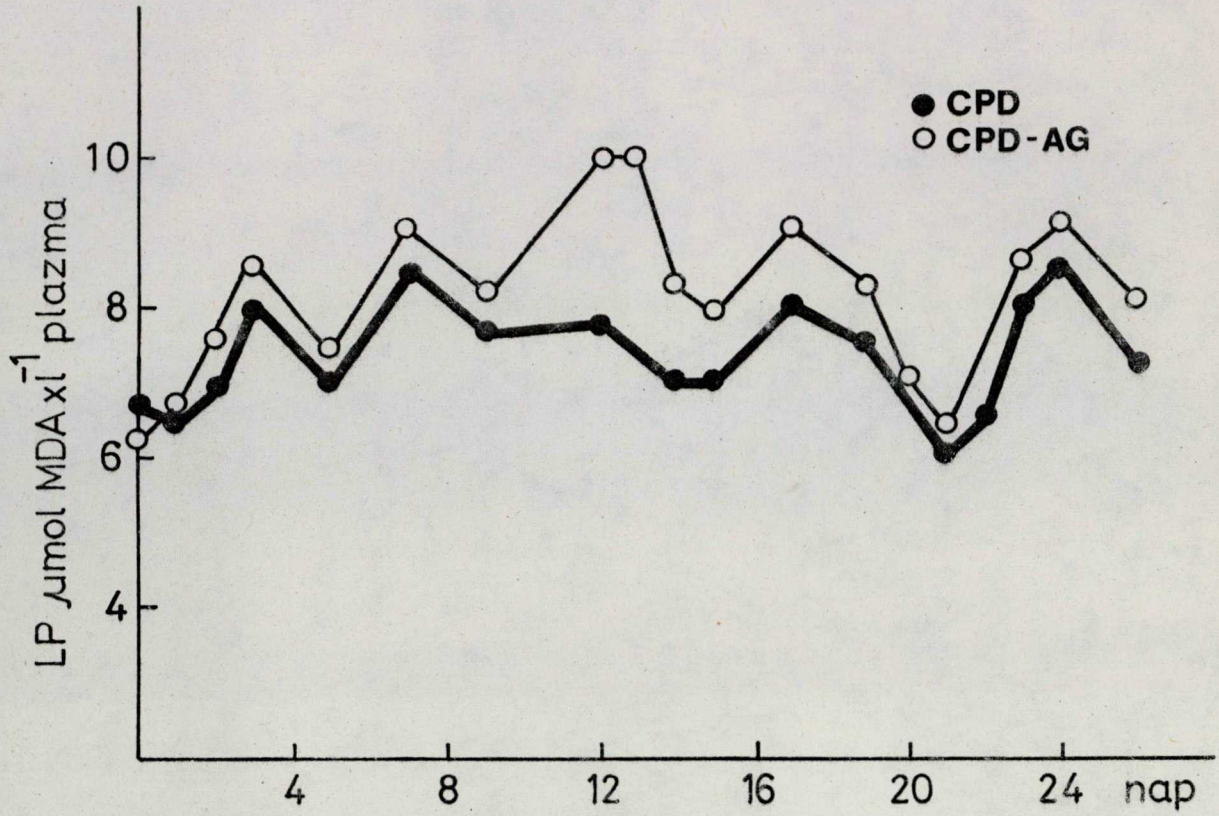
8. ábra

ACD és ACD-AG konzerválószerrel tartósitott humán vérkonzervek plazma lipidperoxidáció változása az idő függvényében.



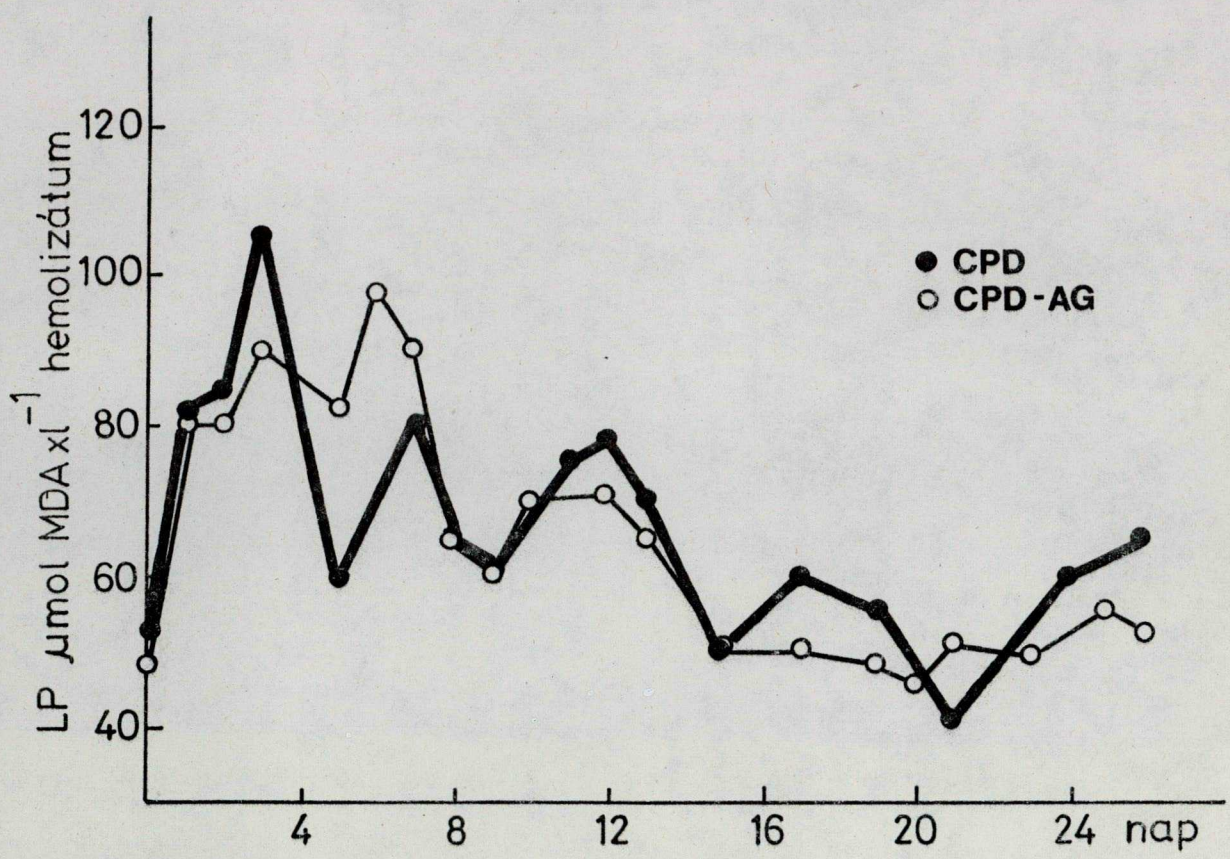
9. ábra

ACD és ACD-AG konzerválószerrel tartósitott humán vérkonzervek vvt. lipidperoxidáció változása az idő függvényében.



10. ábra

CPD és CPD-AG konzerválószerrel tartósitott humán vérkonzervek plazma lipidperoxidáció változása az idő függvényében.



11. ábra

CPD és CPD-AG konzerválószerrel tartósitott humán vérkonzervek vvt. lipidperoxidáció változása az idő függvényében.

nosztikai céllal hasznositani lehet.

2.a./ Először a Duchenne izom disztrofiában /DMD v. DMP/ megbetegedett gyermekek véréből meghatározott AE aktivitás és LP mérésekkel foglalkozunk.

A DMP-ben megbetegedett gyermekek és a hasonló koru normál kontroll értékeket az 1. táblázatban foglaltuk össze. Ezekben az esetekben a vvt. hemolizátumok SOD és K-áz aktivitását határoztuk meg és összevetettük a plazma és a hemolizátum LP értékét, amit más néven TBA-reaktiv anyagoknak is hivhatunk.

1. Táblázat

A vvt. hemolizátumok SOD és K-áz aktivitása, valamint a plazma és a hemolizátumok TBA pozitiv anyagainak kvantitativ összehasonlitása egészséges kontrollok és DMP-ben megbetegedett gyermekeknél.

Mért értékek	Kontrollok /n = 10/	DMP gyermekek /n = 20-22/	
SOD aktivitás E/l hemol. /átlag ± szórás/	443.0×10^3 ± 17.9×10^3	2496.2×10^3 ± 1519.6×10^3	
SOD aktivitás E/g fehérje /átlag±szórás/	1266.0 ±237.7	7131.9 ±4341.6	$p<0.0005$
K-áz aktivitás BE/l hemolizátum /átlag±szórás/	2.05×10^3 ± 0.66×10^3	22.2×10^3 ± 7.1×10^3	$p<0.0005$
TBA-reaktiv anyagok a plazmából nmol MDA/l plazma /átl.±szórás/	10.3×10^3 ± 3.9×10^3	15.45×10^3 ± 9.2×10^3	$p<0.05$
TBA-reaktiv anyagok a hemol.-ból nmol MDA/l hemol /átl.±szórás/	119.2×10^3 ± 15.6×10^3	310.7×10^3 ± 115.1×10^3	$p<0.05$

/Matkovics et al. 1982a; Matkovics et al. 1983/

2.b./ A 2. táblázat a mukoviszcidozisos gyermekek és heterozigóta szüleik vér AE aktivitását és LP értékét foglalja össze.

2. Táblázat

A táblázatban a mukoviszcidózisos beteg gyermekek szüleik és azoknak korban megfelelő kontrollok vér LP értékét, SOD és K-áz aktivitását hasonlitottuk össze.

2. Táblázat

Mért értékek	I. korcsoport /4-12 év, n = 10/	II. korcsoport /20-55 év, n=30/	Mukoviszcid. gyermekek /n = 8 /	Mukoviszcid. gyermekek oblig. heterozigota szülei /25-30 évesek, n = 13/
SOD E/l hemol. /átl.±szórás/	$443.0 \times 10^3 \pm 17.9 \times 10^3$	$716.5 \times 10^3 \pm 92.5 \times 10^3$	$632.8 \times 10^3 \pm 65.4 \times 10^3$	$636.7 \times 10^3 \pm 62.5 \times 10^3$
SOD E/g feh. /átl.±szórás/	1266.0 ± 273.0	2047.1 ± 412.2	1808.1 ± 186.8	1816.2 ± 182.3
K-áz aktivitás BE/l hemol. /átl.±szórás/	$2.7 \times 10^3 \pm 0.8 \times 10^3$ ***	$2.0 \times 10^3 \pm 0.7 \times 10^3$ ***	$5.2 \times 10^3 \pm 0.3 \times 10^3$ **	$5.5 \times 10^3 \pm 0.4 \times 10^3$ ***
TBA-reaktiv anyagok a plazmából nmol MDA/l plazma /átl.±szórás/	$5.5 \times 10^3 \pm 1.5 \times 10^3$ *	$10.3 \times 10^3 \pm 3.9 \times 10^3$	$7.9 \times 10^3 \pm 1.5 \times 10^3$ *	7.5×10^3 2.0×10^3
TBA-reaktiv anyagok a hemol.-ból nmol MDA/l plazma /átl.±szórás/	$119.2 \times 10^3 \pm 15.6 \times 10^3$	$105.5 \times 10^3 \pm 18.5 \times 10^3$	$68.8 \times 10^3 \pm 11.2 \times 10^3$	$68.3 \times 10^3 \pm 7.6 \times 10^3$

***: $p \ll 0.01$ **: $p < 0.05$ *: $p < 0.1$

/Gyurkovits et al. 1981; Matkovics et al. 1982b/

2.c./ A 3. táblázatban a normál kontrollok vér AE aktivitását és LP-ját összehasonlitottuk a léguti betegségekben szenvedő gyermekek /főleg asztmás gyermekek/ vér AE aktivitásával.

Mivel a mukoviszcidozisban leggyakrabbak a léguti megjelenési formák, ezért megvizsgáltuk az asztmás gyermekek vérét és azok AE adatait és LP-ját a 3. táblázatban összehasonlitottuk a nomál kontroll vérek adataival.

3. Táblázat

Az asztmás gyermekek vérének AE adatai és LP értéke hasonló koru normál gyermekek vér AE adataival összehasonlitva.

Mért értékek	Kontroll értékek /4-12 év, n=10/	Asztmás gyermekek /4-12 év, n=24/
SOD aktivitás E/l hemol. /átl.±szórás/	443.1×10^3 $\pm 17.9 \times 10^3$	520.0×10^3 $\pm 16.4 \times 10^3$
SOD aktivitás E/g fehérje /átl.±szórás/	1266.0 ±273.7	1441.0 ±63.5
K-áz aktivitás BE/l hemol.	2.7×10^3 $\pm 0.8 \times 10^3$	2.2×10^3 $\pm 0.5 \times 10^3$
TBA-reaktiv anyagok nmol MDA/l plazma /átl.±szórás/	5.5×10^3 $\pm 1.5 \times 10^3$	10.2×10^3 $\pm 4.3 \times 10^3$
TBA-reaktiv anyagok nmol MDA/l hemol. /átl.±szórás/	119.2×10^3 $\pm 15.6 \times 10^3$	116.0×10^3 $\pm 31.0 \times 10^3$

A kontroll értékek és a beteg gyermekek véréből meghatározható AE értékek és a mért LP mértéke között nincs szignifikáns különbség.

József Attila Tudományegyetem Központi Könyvtára SZEGED

2.d./ A Down-szindrómában szenvedő gyermekek véréből meghatározott AE aktivitásokat és TBA-aktiv anyagok mennyiségét a 4. táblázatban vetettük össze a kontroll értékekkel.

4. Táblázat

A kontrollok és Down-szindromában szenvedő gyermekek vérének AE aktivitásai és TBA reaktiv anyagok mennyisége

Mért értékek	Kontroll értékek /n=10/	Down-szindormás esetek /n=7/
SOD aktivitás E/l hemol. /átl.±szórás/	443.1×10^3 $\pm 17.9 \times 10^3$	577.0×10^3 $\pm 25.9 \times 10^3$
SOD aktivitás E/g fehérje /átl.±szórás/	1266.0 +-273.7	1916.0 ±713.0
K-áz aktivitás BE/l hemol. /átl.±szórás/	$2.7 \times 10^{3*}$ $\pm 0.8 \times 10^3$	$1.3 \times 10^{3*}$ $\pm 0.2 \times 10^3$
TBA-aktiv anyagok /nmol MDA/l hemol./ /átl.±szórás/	119.2×10^3 $\pm 15.6 \times 10^3$	161.5×10^3 $\pm 97.0 \times 10^3$
TBA-aktiv anyagok /nmol MDA/l plazma/ /átl.±szürás/	$5.5 \times 10^{3*}$ $\pm 1.5 \times 10^3$	13-5xéP^{3*} $\pm 7.4 \times 10^3$

A csillaggal jelölt két értékpár szignifikánsan eltér egymástól.

$$\frac{\text{SOD E/g fehérje Down szindromában}}{\text{SOD E/g fehérje /kontroll/}} = 1,5$$

3./ Ezt a részt két csoportra lehet bontani egyrészt a normál ujszülöttek AE vizsgálatára, másrészt a hiperbilirubinémiáknál alkalmazott terápiás beavatkozások AE meghatározására.

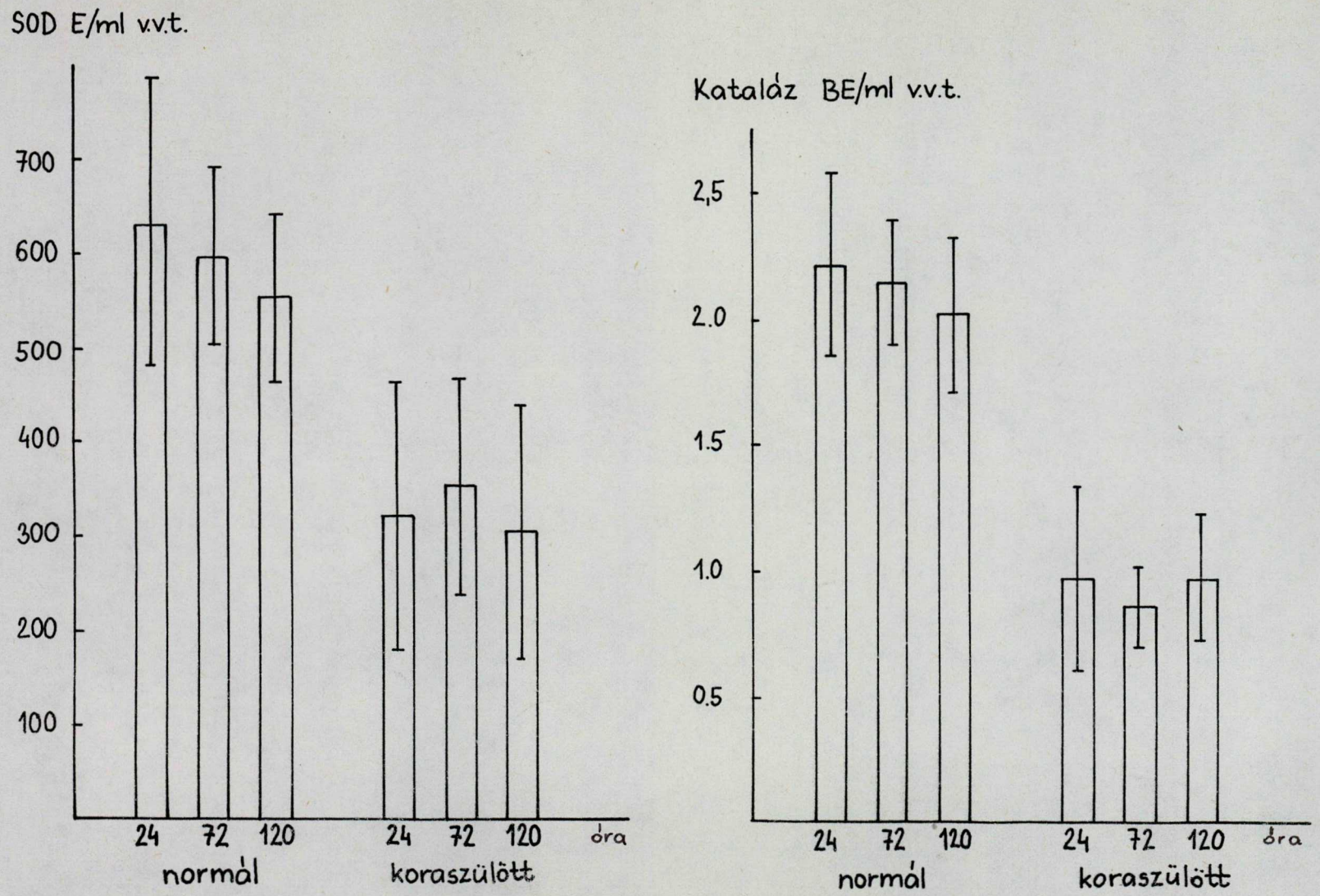
3.a./ Ha először az első csoport adatait mutatjuk be ábrákon, akkor a 12. ábrán a SOD aktivitási értékeket, valamint az LP változását tüntettük fel a fenti két csoportban. /Általában az esetszám /n/ 10-15 között volt./

A koraszülötteknél a SOD aktivitás és LP kisebb értékü, ami egyrészt a koraszülöttek éretlenebb enzim rendszerével és a még le nem játszódott hemoglobin cserével függhet össze, de erre még az eredmények értékelésénél visszatérünk.

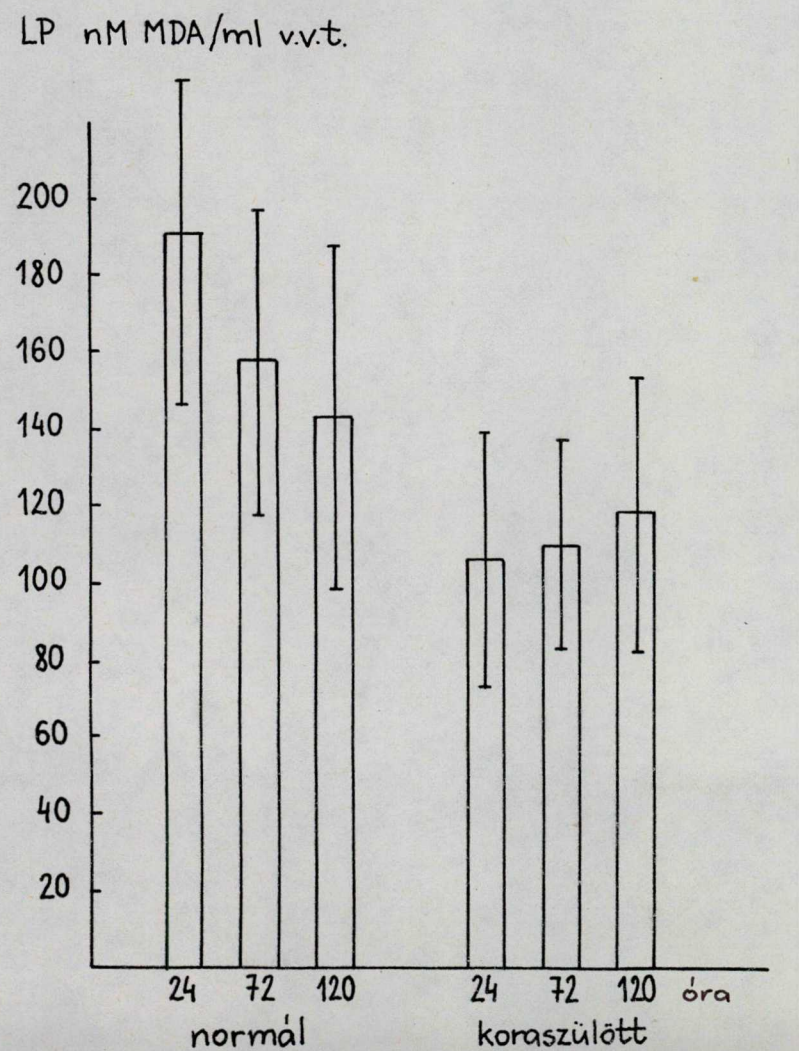
SOD aktivitási értékekben az eltérések mind a három mért időpontban szignifkáns eltérést mutatnak.

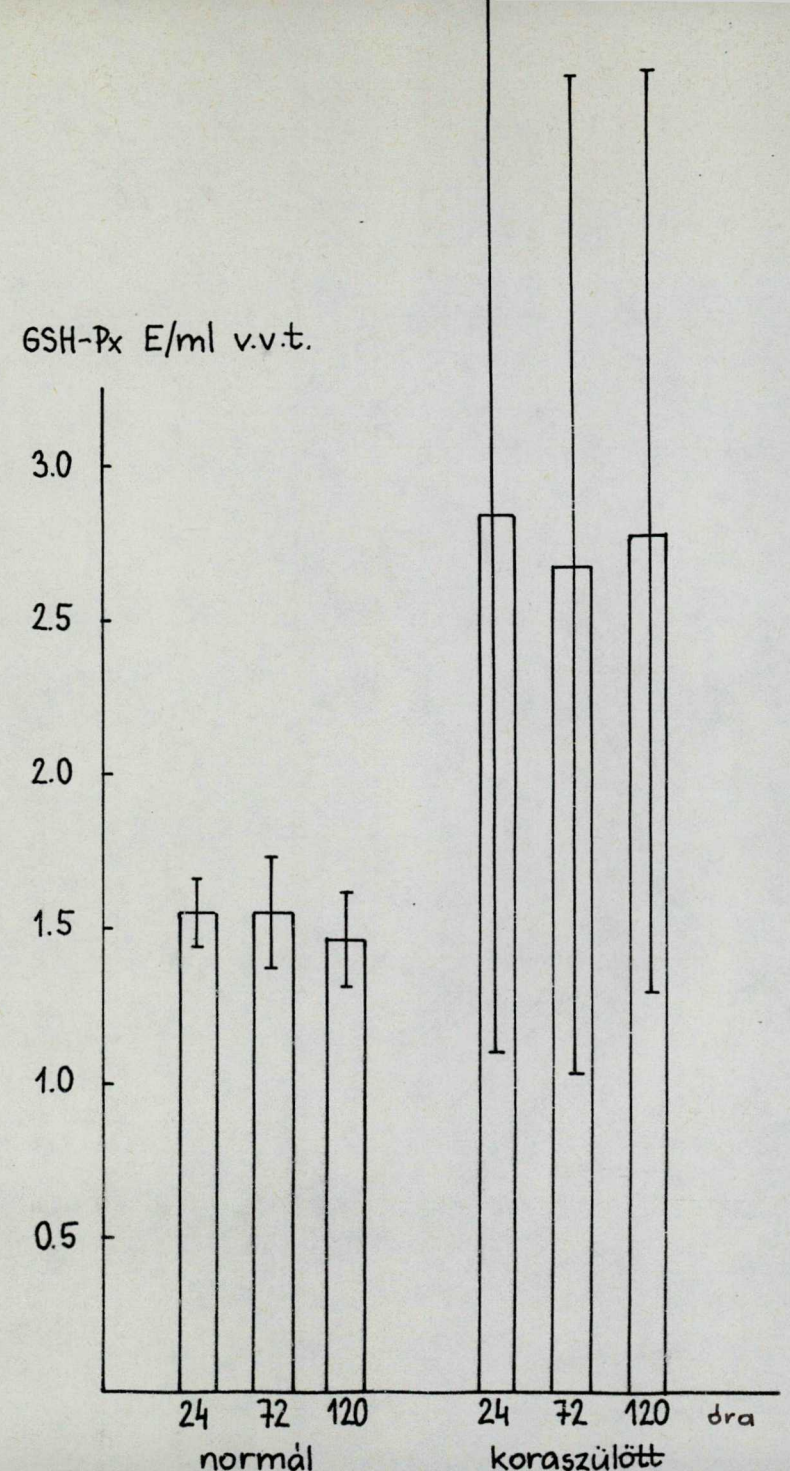
Szignifikánsan alacsonyabb minden mért időpontban a K-áz aktivitás is a koraszülötteknél. Viszont a GP-áz aktivitás a koraszülötteknél a nagy szórásában tér el a normál ujszülöttek vvt. hemolizátumának GP-áz aktivitásától /lásd a 13. ábrát/. SOD aktivitás összehasonlitásnak vannak bizonyos irodalmi előzményei is, többek között Saik és mtsai munkája /1982/.

3.b./ A továbbiakban terápiás hiperbilirubinemiák terápiás befolyásolása területén végzett összehasonlitó AE vizsgálatairól számolok be. Itt a ma leggyakrabban használt beavatkozások mindegyikénél elvégeztük az AE és LP összehasonlitásokat, sőt még azokat kiegészitettük a B_2-vitamin-



12. ábra: A normál /érett/ ujszülöttek és a koraszülöttek vvt. hemolizátum SOD és K-áz, átlag ± S.D. értéke


LP nM MDA/ml v.v.t.
200
180
160
140
120
100
80
60
40
20
24
72
120
24
72
120
óra
normál
koraszülött


GSH-Px E/ml v.v.t.
3.0
2.5
2.0
1.5
1.0
0.5
24
72
120
24
72
120
óra
normál
koraszülött

nal /riboflavin/ iniciált fotodekompenzáció összehasonlító értékelésével is. Vizsgálatainkról a Debrecenben tartott Magyar Gyermekorvosok Társasága kongresszusán 1983-ban beszámoltunk /Pataki és mtsai, 1983; Varga és mtsai, 1983/.

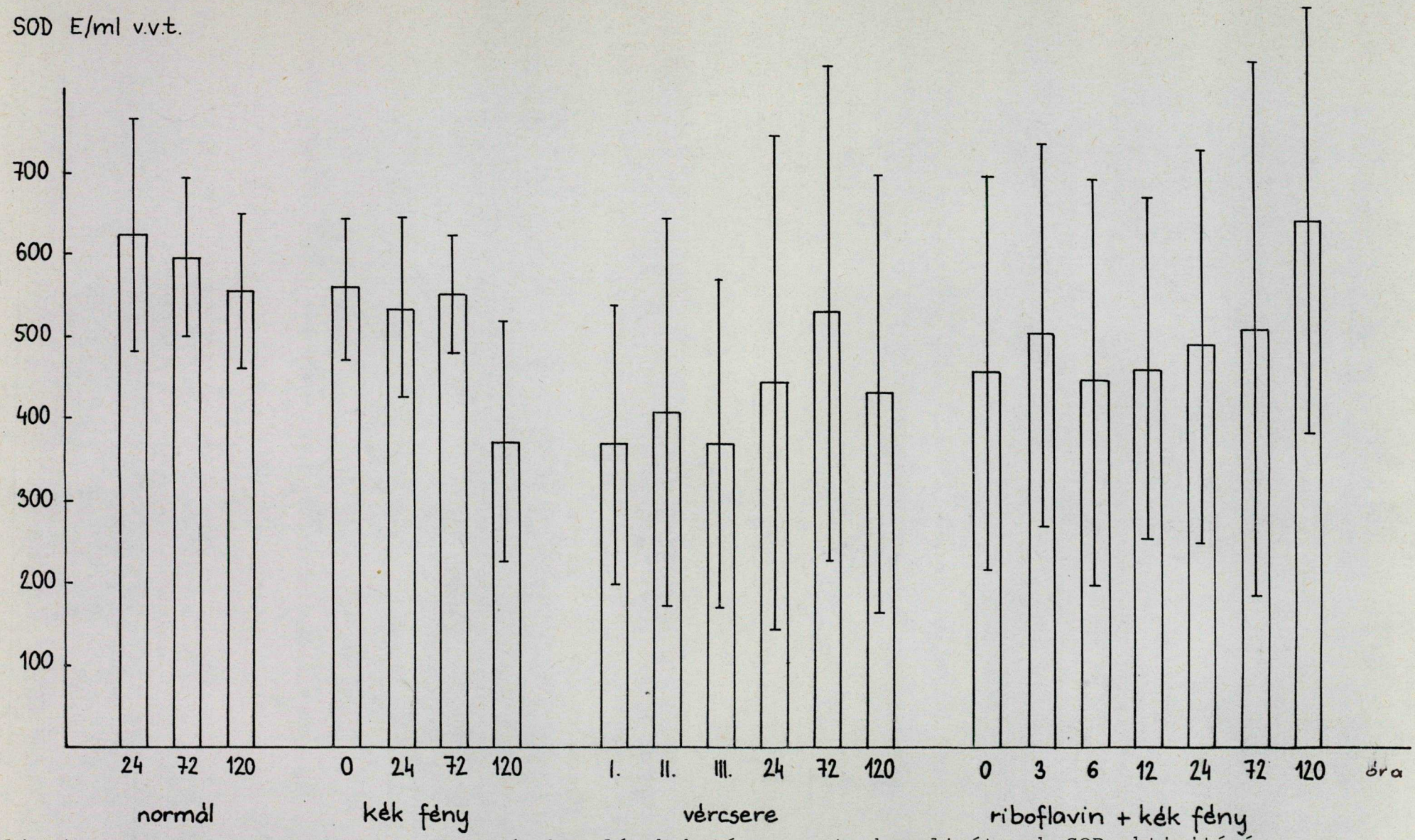
Eredményeink négy ábrán mutatjuk be /14.-17. ábra/. A 14. ábrán a vvt. SOD aktivitás változásokat tüntettük fel és hasonlitjuk össze normál /tehát nem hiperbilirubinémiás hasonló koru gyermekeknél/, kékfénnyel kezelt hiperbilirubinémiás, majd olyan ujszülötteknél mérhető értékekkel, ahol vércserét végeztek és végül a riboflavin /Beflavin^{R} Hoffman-La Roche és kékfénnyel kezelt hiperbilirubinemiás ujszülöttek vvt. hemolizátumából mérhető AE és LP értékekkel. Általában az esetszám /n/ 15-20 között van. Minden ábrán a mintavétel időpontját tüntettük fel. Vércserénél I. érték, a vércsere előtti AE aktivitást tünteti fel, a II. a vércsere közben és III. érték a vércsere után mérhető aktivitásokat mutatja.

A 15. ábra hasonló módon a K-áz aktivitások változását mutatja.

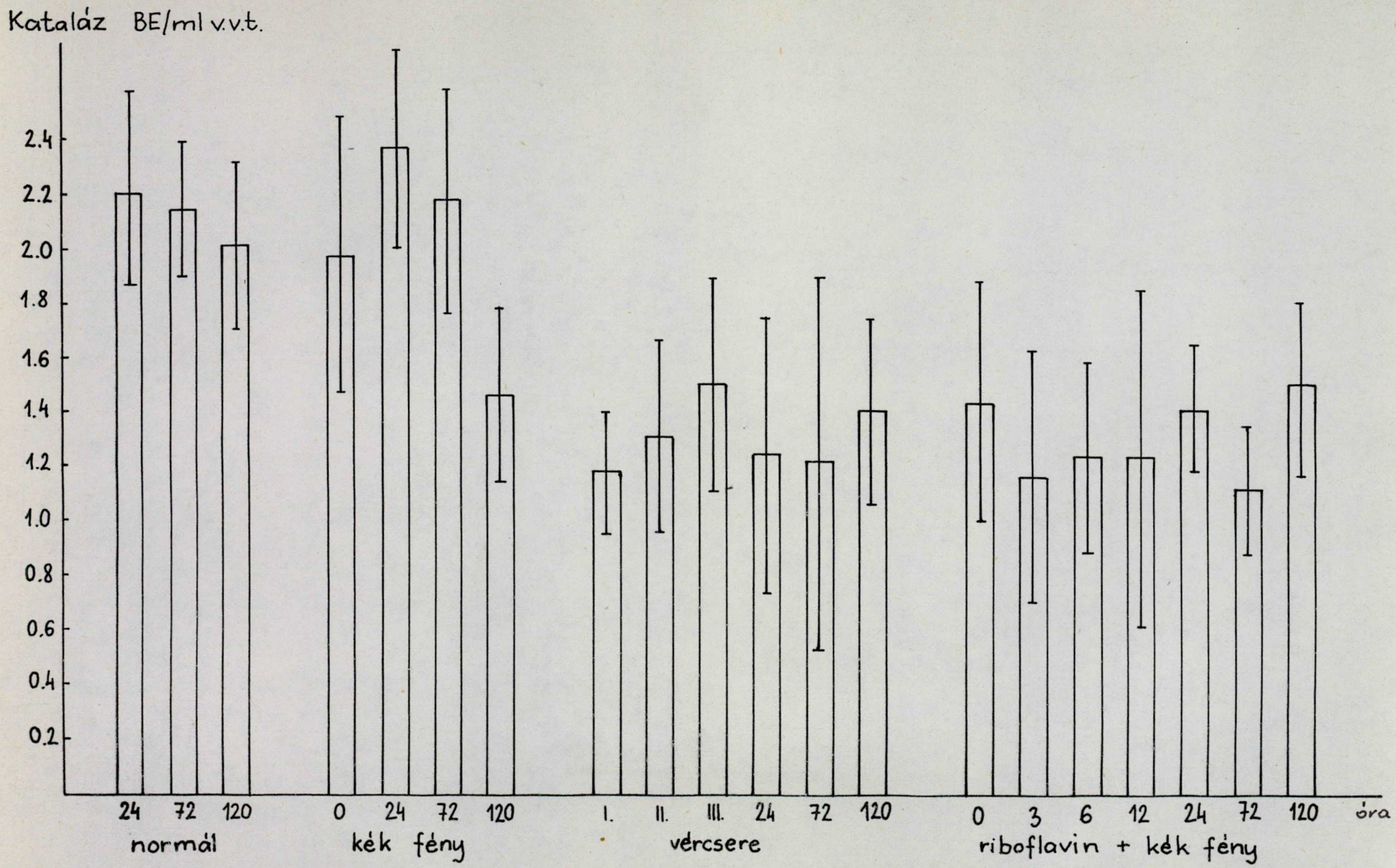
A 16. ábrán a vvt. hemolizátumok GP-áz aktivitás változásai szerepelnek.

A 17. ábra a LP aktivitásokat tünteti fel az előzőekkel azonos körülmények között.

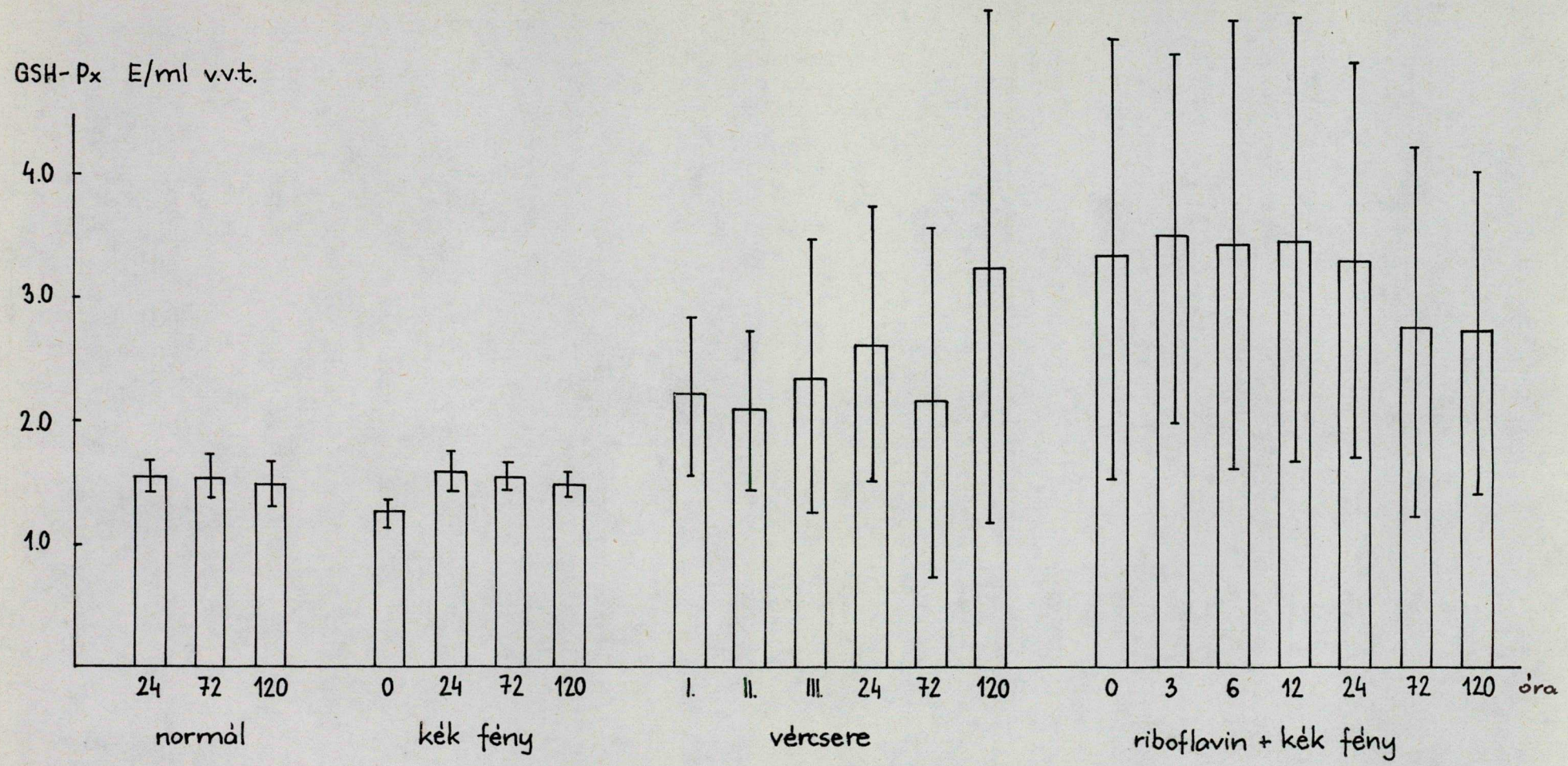
Az ujszülött hiperbilirubinémiák egy másik kezelési módja a D-penicillaminnal /Metalcaptase^{R} HCl Knoll A.G./ végzett bilirubin csökkentés, ahol ugyancsak mértük a vvt.



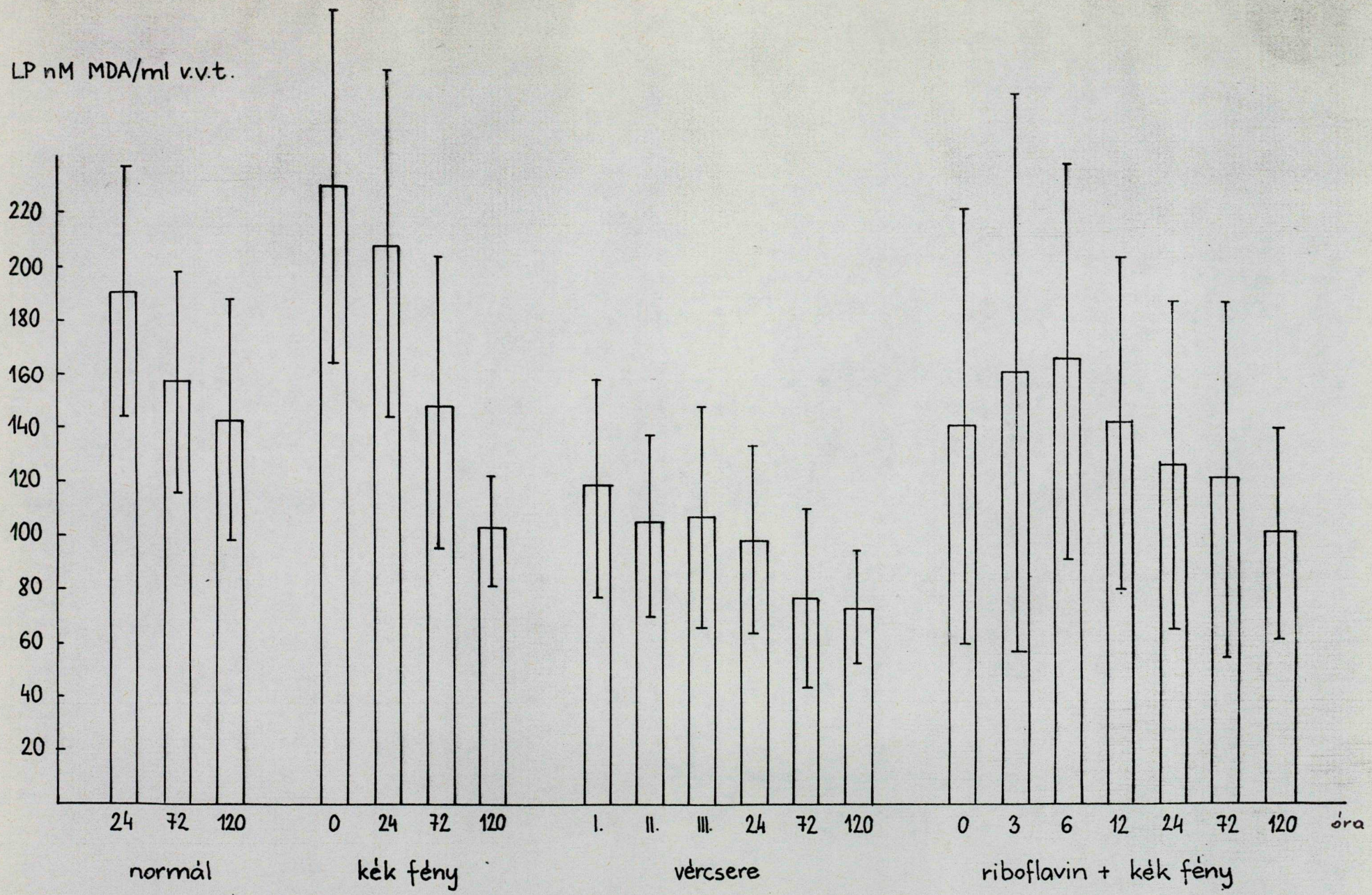
14. ábra: Különböző hiperbilirubinemiás kezelések hatása a vvt. hemolizátumok SOD aktivitására /Átlag±S.D.; n=10-15/ /A normál érték nem hiperbilirubinemiás érett ujszülöttek véréből vannak meghatározva itt is és a további hasonló összehasonlításoknál; További részletek a szövegben szerepelnek./



15. ábra: K-áz aktivitás összehasonlitás a 14. ábrán szintén jelzett esetekben a szövegben részletezett körülmények között.



16. ábra: CP-áz /CSHx/ változások a kék fény, vércsere, valamint a riboflavin + kék fény hatására.



17. ábra: LP /TBA-pozitiv anyagok/ értékei a hiperbilirubinemiák kezelése során különböző időpontokban.

hemolizátumok SOD aktivitás változását a kezelés során /5. táblázat/ /Oroszlán és mtsai, 1982/.

5. Táblázat

A D-penicillamin hatása a vvt. AE-re

Enzim aktivitás változás a megfelelő koru kontroll %-ában

Mért adatok	Ujszülött patkány	Felnőtt patkány
SOD aktivitás	0	+55
K-áz aktivitás	+65	-5
P-áz aktivitás	-70	+520

4./ A jelen munka utolsó szakaszát jelentették azok a vvt. hemolizátum AE aktivitás és LP érték összehasonlitások, amit a SZOTE Ideg- és Elmegyógyászati Klinikájával végeztünk Dr. Lajkó Károly közremüködésével. Ezekről a vizsgálatokról is egyelőre csak kongresszuson számoltunk be /Lajkó és mtsai, 1983/. Az eredményeket a következő két táblázatban mutatjuk be.

6. Táblázat

Két korcsoportba tartozó kontroll vvt. hemolizátum AE aktivitását hasonlitottuk össze a demens betegek AE-val és a hemolizátumok TBA pozitiv értékével.

Mért értékek	Kontroll /20-55 év n = 30/	Kontroll /60 év felett n = 11/	Demens /60 év felett n = 17/
SOD aktivitás /E/l hemol. /átl.±szórás/	716.5×10^3 $\pm 92.5 \times 10^3$	314.4×10^3* $\pm 58.3 \times 10^3$	461.7×10^3* $\pm 188.2 \times 10^3$
SOD aktivitás /E/g fehérje /átl.±szórás/	2047.1 ±412.2	1209.2* ±330.0	1314.1* ±450.3
K-áz aktivitás BE/l hemol. /átl.±szórás/	2.0×10^3 $\pm 0.7 \times 10^3$	1.8×10^3 $\pm 0.6 \times 10^3$	1.8×10^3 $\pm 0.4 \times 10^3$
TBA aktiv anyagok nmol MDA/l hemol. /átl.±szórás/	105.5×10^3 $\pm 18.5 \times 10^3$	157.0×10^3* $\pm 24.4 \times 10^3$	149.0×10^3* $\pm 37.0 \times 10^3$

*: $p < 0.01$

7. Táblázat

20-55 éves korcsoportba tartozó kontroll értékeket összehasonlitjuk a nem kezelt skizofrének, depressziósok és cirkuláris elmezavarban /PMD/ szenvedő betegek vvt. hemol. AE aktivitásával és TBA pozitiv anyagaival.

Mért értékek	Kontroll /20-55 éves n = 30/	Skizofrén csoport /nem kezelt n = 21/	Depresz-sziós csop. /n = 7/	PMD /n = 6/
SOD aktivitás E/l hemol. /átl.±szórás/	716.5×10^3 * $\pm 92.5 \times 10^3$	770.0×10^3 $\pm 186.0 \times 10^3$	648.1×10^3 $\pm 102.3 \times 10^3$	586.0×10^3 * $\pm 108.6 \times 10^3$
SOD aktivitás E/g fehérje /átl.±szórás/	2047.1* ±412.2	1868.2 ±608.0	1906.1 ±584.0	1698.2* ±397.3
K-áz aktivitás BE/l hemol. /átl.±szórás/	2.0×10^3 $\pm 0.7 \times 10^3$	2.2×10^3 $\pm 0.4 \times 10^3$	2.1×10^3 $\pm 0.3 \times 10^3$	1.8×10^3 $\pm 0.5 \times 10^3$
TBA-pozitiv anyagok nmol MDA/l hemol /átl.±szórás/	105.5×10^3 * $\pm 18.5 \times 10^3$	177.5×10^3 * $\pm 23.5 \times 10^3$	149.0×10^3 * $\pm 48.5 \times 10^3$	103.1×10^3 $\pm 14.4 \times 10^3$

* : $p < 0.01$

PMD = pszihozis maniakodepressziva

V. ÉRTÉKELÉS

ad.1./ Az első ábra csoport 1.-11. ábra a Szegedi Vérellátó Állomással közös munkánk mérés eredményeit mutatja be azzal a céllal, hogy a vvt. hemolizátumokkal végzett összehasonlító munka nehézségeire felhivja a figyelmet. Az 1. ábra, mint ahogy már emlitettük, azon mérés sorozataink egy példáját mutatja be, amelyeket ugy végeztünk, hogy a 4 ^{o}C-on tárolt 0.5 l-es vérkonzervet felráztuk és steril körülmények között fecskendővel 3-3 ml mintát vettünk ki. Az ábrán feltüntetett szórások jól tükrözik az O_2 hatást a SOD aktivitás meghatározásra, ami már a 2.-5. ábrákon nem gyakorol olyan nagy befolyást az enzim mérésre. A később emlitett ábracsoport SOD aktivitás meghatározásai ugyanis a már előre 3-3 ml-re sterilen széttöltött teljes vér felüluszójából /plazma/ vagy a hemolizátumokból történtek. /A kis steril üvegekben szétmért vérek felett nem maradt ugy levegő, mint azt korábban a 0.5 l-es vérkonzerveknél tapasztaltuk./

Ugy tünik, méréseink alapján, hogy az adenin és guanin jelenlétében mérhető hemolizátum SOD aktivitások kezdeti értékei főleg az ACD rendszerben szignifikánsan alacsonyabbak és a mérések szórása is kiegyenlitettebb. De vessük össze SOD aktivitásra nézve a vérkonzervek utolsó napjait, pl. a 24. napon mérhető hemolizátum SOD aktivitásokat, azt látjuk, hogy az adenin, guanin jelenléte jobban tartósitja a SOD aktivitásokat, mint ha hiányoznak a tartósitó rend-

szerekből. Nem foglalkoztunk a továbbiakban azzal, hogy a fentemlitettek az adenin és guanin jelenléte, valamilyen közvetlen hatása-e az AE változásoknak, vagy csak az általuk okozott membrán permeabilitás változásokkal függenek össze. Ugy gondoljuk, hogy a SOD aktivitás meghatározás összehasonlító mérése, az eddigi eredmények alapján, feleletet adhat egy-egy vérkészitmény transzfuziós célokra történő használhatóság megállapitására.

A 6., 7. ábrán a különböző szerekkel konzervált vérek K-áz aktivitását hasonlitottuk össze. Itt arra a tényre hivjuk fel a figyelmet, hogy a nagy aktivitási érték változások ellenére a vvt.-ek belső K-áz dinamizmusa nem mutat olyan egyértelmü csökkenést, mint az a SOD aktivitás mérésnél megfigyelhető. A CPD és CPD-A,G tartósitószer használatakor /7. ábra/ a vérkonzervek "középső" időszakában lényeges K-áz aktivitás csökkenés mérhető, amit viszont jelentős aktivitás emelkedés követ. Az enzim aktivitás mérés szórásai itt parallel méréseknél összehasonlitva a kontrollokkal nem haladják meg a ±10 %-ot.

A következő négy ábrán a LP változását mutatjuk be és hasonlitottuk össze nmol MDA/ml értékekben. A plazma itt a vvt. elválasztás után nyert felüluszót jelenti, ami nyilvánvalóan a konzerválószereket is tartalmazza /8., 10. ábra/. A 8. ábrán az emlitett plazmát magában foglaló felüluszóban egyedül az ACD konerválószer használatánál figyelhető meg egy kezdeti szignifikáns, de később lecsengő LP növekedés. A többi konzerválószer esetén a felüluszóból

mérhető LP változások nem szignifikánsak.

Ugyanakkor a hemolizátumokban /9., 11. ábra/ kezdeti szignifikáns LP emelkedés figyelhető meg, ami a felhasználási idő végén a kiindulási értékek alá csökken /9. ábra/ vagy azzal azonos szinten marad /11. ábra/.

Összefoglalva elmondhatjuk, hogy konzervált humán vereknél megvizsgáltuk az AE néhány tagját, nevezetesen a SOD és K-áz aktivitás időtől függő változását a különböző konzerválószerek használatánál, valamint a LP alakulását, annak érdekében, hogy összefüggést keressünk a vérkészitmények belső oxigén gazdálkodása /oxidativ anyagcseréje/ és az emlitett AE aktivitás változások között. Vizsgálatainkból egy érdekes belső oxidativ dinamizmus volt megfigyelhető, amiből talán csak a SOD változások emelhetők ki. A SOD aktivitás összehasonlitások ugyanis alkalmasnak tünnek a vérkészitmények elöregedés követésére, hiszen a tárolás ideje alatt az emlitett enzim aktivitás fokozatosan csökken. A mért enzim aktivitásokra az idő mellett a konzerváló szerek összetétele is hatást gyakorol.

Természetesen a fentiek nem végkövetkeztetések, hanem a munkánk egy részének pillanatnyi megállapitásai.

ad.2./ A következő eredmények a SZOTE Gyermekklinika munkatársaival végzett közös vizsgálatainkhoz kapcsolódnak. Itt is valamilyen olyan diagnosztikai szürő módszer kialakitása volt a célunk, aminek alapján a beteg homozigóta

gyermekek és heterozigóta szüleik plazma és vvt. AE aktivitásának eltéréseit és LP értékét összefüggésbe hozhatjuk a betegséggel, vagy feltételezhetjük, hogy ezek az eltérések már eleve öröklöttek. A vér plazma és vvt. hemolizátumok szignifikáns eltéréseket mutattak a LP, SOD és K-áz aktivitásra a nem beteg /hasonló koru/ és a Duchenne izom disztrófiában szenvedő beteg gyermekeknél.

A szignifikáns eltérés a beteg gyermekek magasabb AE aktivitásait jelentette, ami véleményünk szerint a fokozottabb vvt. oxidativ anyagcserével függ össze és amit mi irtunk le először ilyen módon megfogalmazva. A beteg gyermekek plazma és vvt. hemolizátum magas LP értékei is a fokozott oxidativ károsodásokkal állnak összefüggésben.

A leirt vizsgálatokat még folytatjuk.

Kiterjedtebb, de szintén alapvetőnek tekinthetők, a mukoviszcidozisos gyermekek és szüleik vvt. hemolizátumával és plazmájával végzett AE aktivitás és TBA-pozitiv anyag mennyiség meghatározásaink.

Ezen a területen eddig csak szórványosan szerepeltek olyan vizsgálatok, amelyek az oxigén anyagcsere változásokkal kapcsolatosak /Matkovics és mtsai, 1982b és a cikkben szereplő idézetek/.

Ezen vizsgálataink röviden a következőképpen értékelhetőek:

a./ Megállapitottuk, hogy a beteg gyermekek vvt. hemolizátum K-áz aktivitása szignifikánsan eltér a hasonló koru egészséges gyermekekétől.

b./ A heterozigóta szülők vvt. hemolizátum K-áz aktivitása szintén eltér a hasonló koru kontrollokétól és a beteg gyer-

mekekével mutat egyezést.

c./ Ugyanaz a megállapitás tehető a SOD aktivitásokra is, mint amit a b./ pontban leirt mondat második részében irtunk.

d./ Szignifikáns eltérés mutatható ki a kontrollok és a mukoviszcidózisos gyermekek plazma TBA pozitiv anyagai között. A beteg gyermekek TBA pozitiv anyag mennyisége a plazmában szignifikánsan magasabb.

e./ A hemolizátumok TBA pozitiv anyagmennyisége viszont ellenkező irányban mutat eltérést a beteg gyermekek és szüleiknél /a két utóbbi azonos egymással/, tehát lényegesen alacsonyabb a kontrollokénál. Ezt a megfigyelést még szeretnénk kiegésziteni. Jelen ismereteink alapján ez a megfigyelés a vvt. membránok és a fehérjék nagyobb viszkozitásával vagy az előbbi zsirsav összetétel változásával magyarázható.

Az összehasonlitó vizsgálatokat ezen a területen is folytatjuk.

A 3. táblázatban szereplő betegcsoport /asztmás gyermekek/ vér vizsgálatát azért végeztük el, mert a mukoviszcidózisnak igen gyakori a tüdő lokalizációja. Igy a felsőléguti betegségben szenvedő asztmások vér összehasonlitása kézenfekvő volt. A táblázat tanusága szerint az aszmások AE csoportja és TBA pozitiv anyagai nem térnek el a kontrollokétól.

Tehát ebből az a következtetés vonható le, hogy az asztmás gyermekek léguti elváltozásai és egyéb anyagcsere eltérései nem vezetnek a mukoviszcidózishoz, hasonlóan a vvt. és plazma AE változásaihoz.

A korábban már felsorolt irodalmi hivatkozások miatt

vizsgáltuk a Down-szindromát, mint a 21 kromoszómához kapcsolt örökletes betegségcsoportba tartozó gyermekeket, ahol mi is az eddigiekkel azonos módon szignifkánsan magasabb SOD értéket kaptunk. Eddig nem vizsgálták ezen beteg gyermekcsoportban a vvt. hemolizátumok K-áz változását és a LP értékét. Addig, amig a K-áz aktivitás szignifikánsan alacsonyabb, a TBA anyagok mennyisége szignifikánsan magasabb értéket mutat a kontrollokénál. Az utóbbi magasabb értékeket /TBA-aktiv anyagok növekedése/ legegyszerübben a SOD aktivitás növekedés és K-áz aktivitás csökkenéssel magyarázhatjuk, amelyek egyrészt H_2O_2 keletkezés fokozódást és csökkent bontást eredményeznek.

Itt elsősorban a Down-kórban szenvedő betegeknél az esetszám növeléssel kivánjuk a nyert értékeket kiegésziteni.

Áttekintve eddigi eredményeink elmondhatjuk, hogy mind a DMP-ben, mind a mukoviszcidozisban szenvedő beteg gyermekeknél sikerült bizonyitanunk a vvt. hemolizátumok és a beteg, valamint a kontroll plazmák összehasonlitásával, hogy a betegeknél az általunk vizsgált AE-ek és a LP értéke olyan változásokat - sok esetben szignifikáns változást - mutat, ami a vizsgált enzimek jelentős szerepére utal a kórlefolyásban. Ezen változásokkal az emlitett betegségek sok tünete jól értelmezhető pl. olyanok, mint a betegek korai "elöregedése" stb.

Összehasonlitásaink bizonyitották, hogy az idült felsőléguti megbetegedés /konkrétan az asztma/ okozta vvt. AE

és LP változások nem lehetnek okai a mukoviszcidozisban megfigyelt enzim és LP eltéréseknek.

A Down-szindrómában szenvedő gyermekeknél a már irodalomból ismert szignifikánsan magasabb SOD aktivitási értékeket kiegészitettük azzal, hogy kimutattuk a vvt. hemolizátumok csökkent K-áz aktivitási értékét és ugy a plazma mint a hemolizátumok fokozott LP-ját.

3./ A Szegedi Városi Tanács Gyermekkórház munkacsoportjával végzett vizsgálatainkban két ábrán /mint ahogy ezt már korábban is emlitettük/ a normál érett ujszülöttek és a kis sulyu koraszülöttek vvt. hemolizátumában mért AE és LP értékeket hasonlitottuk. Itt bizonyos átcsoportositást alkalmaztunk, az ábra párositásokban mégpedig a 12. ábrán egymás mellett ábrázoltuk a SOD és K-áz aktivitásokat, mig a 13. ábrán a LP értékeket, valamint a GP-áz aktivitásokat. Még azt emlitenénk, hogy a leirt esetekben a vért a köldök vénából vették. Az ábrákon a születést követően 24., 72. és 120. órákban vett vérek mennyiségi értékei szerepelnek.

A 12. ábra adatai elsősorban a K-áz aktivitási értékekre nézve mutatják, hogy az enzim aktivitása szignifikánsan alacsonyabb a koraszülöttekben, mint a normál ujszülöttekben. A SOD aktivitás is lényegesen alacsonyabb a koraszülöttekben. Véleményünk szerint ez a koraszülöttek éretlenebb oxidativ védekezésével hozható összefüggésbe.

A 13. ábra tanusága szerint viszont talán nincs is szükség a koraszülötteknél fokozottan védekezni az oxigén és

az oxigén gyökök ellen, hiszen azok mennyisége is kisebb lehet, amire a koraszülöttek születés utáni alacsonyabb LP értékéből következtethetünk. A GP-áz /GSH-Px/ furcsán nagy szórása a koraszülötteknél részben a még be nem állt védőrendszerre utal, valamint arra, hogy az anyagcsere során keletkező H_2O_2-vel elsősorban a GP-áz találkozik és az enzim végzi az eliminálását a GSH rovására. Az ábrán szembeötlő, hogy az érett ujszülöttek vvt.-ei milyen egyenletes GP-áz aktivitással rendelkeznek.

Másik probléma még, ami a koraszülöttek kisebb AE aktivitásával függhet össze, hogy a fötális hemoglobin sokkal intenzivebben köti az O_2, mint a felnőtt hemoglobin.

De nézzük tovább a hiperbilirubinémiás csoporttal kapcsolatos eredményeink. A 14. ábrán a SOD aktivitás változását foglaltuk össze, és összehasonlitjuk a normál értékekkel, ami annyit jelent, hogy a nem hiperbilirubinémiás ujszülöttek vvt. SOD aktivitásával. Tehát itt a normál ujszülött vvt. hemolizátumok SOD értékeihez hasonlitottuk a hiperbilirubinémia eliminálására leggyakrabban használt módszereknél bekövetkező SOD változásokat, nevezetesen a kék fény kezelést, a vércserével és a riboflavint kékfény kezelés együttes hatására bekövetkező változásokkal. Az ábrán szignifikáns eltéréseket nem lehet felismerni egyetlen mért időpontban sem. /A vércsere esetén az I-III-as értékek, a vércsere előtt, alatt és után mért enzim aktivitásokat és LP-ot jelentik./

A fent elmondottak vonatkoznak a 15. ábrán látható vvt. hemolizátumok K-áz aktivitására is. Talán itt azt emlithetjük

meg, hogy a kék fény hatására a 120. órára szignifikánsan csökken a K-áz aktivitás a kék fénnyel kezelt hiperbilirubinémiás ujszülöttek vvt. hemolizátumában.

A 16. ábra a GP-áz változás összehasonlitására szolgál a már korábban részletezett körülmények között. Itt szembeötlő a normál és kék fénnyel kezelt hiperbilirubinémiás ujszülöttek hemolizátumában mérhető kis szórás és a kombináltak kezeléseknél, gondolunk itt a vércserére és a riboflavin indukált fokozott kék fény hatásra, megfigyelhető nagy szórásokra. Hosszu és nagy számu tapasztalatunk alapján arra gondolunk, hogy itt a vizsgált enzimek "fokozott" igénybevételéről van szó.

A 17. ábrán jó képet kapunk a LP változásokról, vagy ahogy korábban is neveztük - és amit jelent - a TBA pozitiv anyagok mennyiségi érték összehasonlitásáról. Szignifikáns eltérés a normál vvt. hemolizátumokban mért értéktől kizárólag a vércsere utáni 120. órában figyelhető meg, ami a vércsere gondoljuk természetes következménye, hiszen a vércsere alatt már jelentős mennyiségü LP szempontjából rezisztensebb vvt.-kel pótoljuk az egyébként labilisabb ujszülött vvt.-ket.

Emlitettük, hogy a riboflavin mellett kisérleteket végeztünk D-penicillaminnal /D-PA/ a hiperbilirubinémia megszüntetésére. Ezek a vizsgálatok először a DOTE Gyermek Klinikáján Dr. Lakatos Lajos és munkacsoportja részéről tapasztalati alapon kezdődtek. Innen eredően mi is megkiséreltük körülhatárolni azt, hogy a vvt. AE aktivitás változás szempontjából, mit tapasztalhatunk az emlitett munkacsoporttal együttmüködve. Kiderült - és ezt az 5. táblázatban foglaltuk össze -, hogy

az AE-ek közül a D-PA ujszülött kisérleti állatok vvt.-ben csak a K-áz aktivitást fokozza és a P-áz aktivitást közel azonos mértékben csökkenti. /Itt valószinüleg "nem specifikus" P-áz aktivitás változásról van szó, hiszen a vvt. hemolizátumokban, csak a hemoglobin rendelkezik "nem specifikus" P-áz aktivitással./

Áttekintve az elmondottakat állithatjuk, hogy a vvt. hemolizátum AE aktivitás változásai és a LP értéke, sok felvilágositást nyujt egyrészt a koraszülöttek "kevésbé definiált" AE aktivitásáról és segitséget nyujt a hiperbilirubinémia terápia értékelésében is. Arra mindenképpen alkalmas, hogy kézenfekvővé tegye, milyen beavatkozás az, amivel a legjobb eredményt érhetjük el.

Természetesen itt is a végső következtetés levonást még sok kiegészitő kisérlet mozditja elő, amelyeket már végzünk.

4./ Irodalmi és saját munkánk tapasztalatai alapján arra gondoltunk, hogy egy, az előzőektől eltérő területen is próbára tegyük eddigi tapasztalataink az AE változások és LP mérés szempontjából. Igy történt, hogy pszihopatológia esetekben is megvizsgáltuk már korábban jellemzett paramétereket. A 6. táblázatban a demens betegek vvt. hemolizátumából meghatározható AE aktivitásokat és a hemolizátum TBA anyagainak az értékét vetettük össze a normál aktivitásokkal, amit ugyancsak két korcsoportra osztottunk. Itt a SOD aktivitásban és a LP-ban volt jól kimutatható, szignifikáns különbség. Ez annyit jelent, hogy a demens betegek SOD aktivitása szignifikánsan ma-

gasabb a hasonló koru, de nem beteg kontroll csoporténál. A LP-ra vonatkozóan a szignifikancia ellenkező előjelü, amenynyiben a demens betegek vvt. hemolizátum TBA aktiv anyagainak az összértéke alacsonyabb.

A 7. táblázatban a másik pszihopatológiai betegcsoport összehasonlító adatait foglaltuk össze az AE-ek és a TBA pozitiv anyagok szempontjából. Ezekben az esetekben is találtunk szignifikáns eltéréseket pl. a vvt. hemolizátumok SOD aktivitása szempontjából a PMD röviden mániadepresszivás csoport szignifikánsan alacsonyabb SOD értékeket mutatott, mint amit a nem beteg kontroll csoportnál mértünk.

Szignifikánsan magasabb volt viszont a skizofrének és a depressziós csoport TBA pozitiv anyagainak a mennyisége a vvt. hemolizátumokban, mint a kontrolloké.

Összefoglalva itt elmondhatjuk, hogy a pillanatnyi eredményeinkből az tünik ki, hogy a pszihés betegek vvt. AE aktivitása és a TBA pozitiv anyagainak a mennyisége egy-egy csoportban eltér a normál értékektől. Ezen eltérések okára sokféle elképzelést lehetne emliteni többek között pl. a depressziós és skizofrén csoportban a táplálkozásban bekövetkező változásokat stb.

Nyilvánvalóan itt is még további vizsgálatokra van szükség, hogy részben az okokat és a következményeket tisztábban lássuk.

VI. Ö S S Z E F O G L A L Á S

Az V. Értékelés rész áttekintése már képet ad az eddigi vizsgálataink legfontosabb eredményeiről, amit itt kivánok még rövidebben és tömörebben megfogalmazni a korábbi tárgyalás sorrendjében. Igy, először a vér konzervek AE és LP összehasonlitásánál szerzett tapasztalataink összegezem.

1./ Vérkonzervek AE méréseinél a SOD aktivitások jobban megmaradnak a vérkonzervek lejárati idejéig, az adenin és guanin tartalmu tartósitó anyagok jelenlétében, mint azok nélkül. Másrészt, a vvt.-ek SOD aktivitása egyenletesen csökken a vérkészitmény korával, igy az eddig meghatározott összes paraméter közül talán legalkalmasabb a konzervált vér eltarthatóságának a megitélésére.

Nagy ingadozás jellemző a vvt. hemolizátumok K-áz, felüluszó és hemolizátum LP értékére. A felsorolt esetekben nem emlithetők meg azok a konzekvens változások, amelyeket a SOD aktivitás meghatározásnál meg lehetett figyelni. /Ezek az eredmények megegyeznek azokkal a megfigyelésekkel, amit más szerzők akár konzervált vérek ion anyagcseréjében, vagy más enzimek aktivitásának időbeli változásával kapcsolatban különböző konzerváló szerek esetén megfigyeltek /Orlina et al. /1969/; Schechter et al. /1962//.

2./ A korábban részletezett kooperációs munkáink közül először a DMP-ben megbetegedett gyermekek vér, AE aktivitás és LP méréseink értékeljük. Mindkét mérési csoportban hasonló koru, nem beteg gyermekek vérében meghatározható enzim akti-

vitások és LP értékek szolgáltak az összehasonlításra. A szülők véréből mért paraméterek összehasonlítása a Szegedi Vérellátó Állomástól származó heparinnal alvadásgátolt felnőttek véréből mért értékekkel történt.

A beteg gyermekek véréből meghatározott SOD, K-áz aktivitások szignifikánsan magasabbak voltak a DMP-ben beteg gyermekeknél, mint azt a kontrolloknál tapasztaltuk. Ugyanez vonatkozott a plazma és vvt. hemolizátumok TBA-reaktiv anyagainak a mennyiségére. Ebben az esetben, tehát igazolódott, hogy a vér AE aktivitások és a LP mérés jól használható egyrészt a betegség tüneteinek molekuláris biológiai magyarázatára, másrészt diagnosztikus célokra.

A másik vizsgált örökletes anyagcsere betegségben, a mukoviszcidózisban, a beteg gyermekek és a heterozigóta szülők hasonló koru kontrollokkal történő enzim és LP összehasonlitását tettük közzé. Itt egy szignifikáns eltérés érdemel emlitést, a K-áz aktivitások szignifikáns eltérése, amennyiben a beteg gyermekek és szüleik vvt. hemolizátumainak K-áz aktivitása szignifikánsan magasabb a kontrollokénál. A plazma TBA-reaktiv anyagainak értékei szintén magasabbak voltak a beteg gyermekeknél, mig a hemolizátumoké alacsonyabbak. Ugyanakkor a heterozygóta szülők és a beteg gyermekeknél mért értékek átlagai egymáshoz hasonlitanak. Ebben az esetben a vér K-áz aktivitás meghatározását és LP különbségét a Cl^- ion permeállás mellett ajánlani lehet a betegség diagnosztizálására.

Mivel a mukoviszcidózis végső stádiumában leggyakrabban

a léguti megbetegedések tünetei kerülnek előtérbe, megvizsgáltuk azt, hogy a legismertebb és gyakori krónikus léguti betegségben hogyan változnak meg a korábbi paraméterek. Itt a beteg gyermekeknél kissé magasabb hemolizátum SOD értéket és plazma LP változást kaptunk, tehát a két idült léguti tünetcsoport nem mutat hasonlóságot.

A 21 kromoszóma eltéréssel összefüggő Down-szindrómában szenvedő gyermekek vér AE vizsgálatát kiegészitettük, az irodalomból ismert SOD emelkedés mellett megmértük, hogy a K-áz aktivitás mutat-e valamilyen eltérést a kontrollokkal szemben. Kiderült, hogy a beteg gyermekeknél a K-áz aktivitás szignifikánsan alacsonyabb a normál értékeknél. A plazmában mérhető TBA-reaktiv anyagok mennyisége viszont szignifikánsan magasabb a kontrollokénál és erősen emelkedett a hemolizátumokban. Az általunk mért összehasonlító adatok - véleményünk szerint - előmozditják Down-szindrómában a patobiokémiai összefüggések felderitését.

3./ A Szegedi Gyermekkórház munkatársaival összekapcsolt vizsgálataink ban először arra kerestünk feleletet, hogy a koraszülött és az érett ujszülöttek AE aktivitása eltér-e egymástól. Azt találtuk, hogy az összes vizsgált AE aktivitása és a LP értéke a koraszülöttek vérében szignifikánsan alacsonyabb. A megfigyeléseink sok eddig ismert jelenség patobiokémiai magyarázatához szolgáltatott adatokat. Mégpedig arra a problémára, hogy a rövidebb vagy hosszabb ideig tartó hiperoxia miért és hogyan károsithatja a koraszülöttek szervezetét /Oroszlán et al. /1982/ és Lakatos et al. /1982//.

A hiperbilirubinémiák befolyásolására sokféle módszer

áll rendelkezésre. Éppen ezért ezt a kérdést is összehasonlitottuk az AE-ek és a LP értékek vonatkozásában. A legelterjedtebben használt kék fény kezelést és két másik módszert vizsgáltunk, amelyek közül a vércserét nagyon régóta alkalmazzák a már nehezen megfordítható hiperbilirubinémiák terápiájában, mig a riboflavinnal szenzibilizált kék fény kezelés használata ujabb keletü /Pataki és mti, 1983/. A vvt. SOD és K-áz aktivitás méréseink nem mutatnak szignifikáns eltérést egyik vizsgált csoportban sem, bár ha az azonos csoport egy-egy adatát vetjük össze, ott felfedezhetőek szignifikáns különbségek az emlitett AE-eknél is.

A glutation peroxidáz aktivitást a kék fény kezelés nem változtatja meg, viszont a vércserénél és a riboflavin kék fény kezelés során jelentős aktivitás változásokat irhatunk le, amit a bilirubin sugárszenzibilizáló szerepével és az oxigén gyökök enzim induktor sajátosságaival magyarázhatunk.

A LP értékek összehasonlitásában nagyon szépen megfigyelhető a kék fény terápiára jól reagáló hiperbilirubinemiás esetek gyors LP lecsengése. Ugyanez vonatkozik a vércserére is. Végeredményben a 120-dik órára a LP-os eredmények a kontroll adatokkal vethetőek egybe. Eredményeink alapján ugy tünik, hogy a riboflavin és kék fény nem hat eltérően a hiperbilirubinémiák eliminálásában, mint a másik két módszer, tehát aerob körülmények között olyan oxigén gyökök keletkezését mozditja elő, amelyek hozzájárulnak a bilirubin eltávolitásához, "szintelen" termékek létrehozásához. A LP értékeinek az alakulása is az előző mondatban szereplő fokozott oxigén gyök aktiválást támasztja alá. Erre elsősorban a kék fény kezelés, valamint

a riboflavin kék fény kezelés fokozatosan lecsengő és nagy szórást mutató értékei utalnak.

A D-PA-nak, amit szintén az ujszülöttek sárgaságának a megszüntetésére használnak membrán permeabilitást befolyásoló hatása mellett ujszülött patkányoknál csak szignifikáns K-áz aktivitás növelő hatása mutatható ki, ami felfogható ugy is, hogy a D-PA valamilyen módon növeli a H_2O_2 keletkezést és a H_2O_2 indukálja a K-áz növekedést.

4./ Ismét humán vérekkel végzett vizsgálataink összefoglalva bebizonyitottuk, hogy a pszihopatologiai státus jelentős hatást gyakorol az AE aktivitásra és a TBA aktiv anyagok menynyiségére. Ez nyilván összetett okokra visszavezethető jelenség, de mégis, mint megfigyelés fontos a pszihopatologia események molekuláris szintü megközelitésében.

VII. I R O D A L O M

J.V. Bannister and H.A.O. Hill /Editors/: Chemical and biochemical aspects of superoxide and superoxide dismutase. Vol 11A; Elsevier/North Holland, Oxford, 1980.

W.H. Bannister and J.V. Bannister /Editors/: Biological and clinical aspects of superoxide and superoxide dismutase. Vol. 11B; Elsevier/North Holland, Oxford, 1980.

R.F. Beers Jr. and I.W. Sizer: J. biol. Chem. 195, 133 /1952/

R.C. Bray, S.A. Cockle, E.M. Fielden, P.B. Roberts, G. Rotilio and L. Calabrese: Biochem. J. 139, 43 /1974/

D.A. Butterfield and W.R. Markesbery: J. Neurol. Sci. 47, 261 /1980/.

I.M. Campbell, D.N. Croizer, and R.B. Caton: Pediatrics, 57, 480 /1976/

B. Chance and A.B. Maehly: Methods in Enzymol. /Editors: S.P. Colowich and N.O. Kaplan/ Vol. 3, 764 /Academic Press, New York, 1955.

D.T.Y. Chiu, F.H. Stults, and A.L. Tappal: Biochem. Biophys. Acta 445, 558 /1976/.

G. Cohen and R.A. Greenwald /Editors/: Oxy radicals and their scavanger systems. Vol. 1, Elsevier 2.; Amsterdam and New York, 1983.

A Concetti, P. Massei, G. Rotilio, N. Bruneri and H. Rachmilevicz: J. Lab. Clin. Med. 87, 1057 /1976/.

R.I. Feigal and B.A. Shapiro: Nature /London/, 278, 276 /1979/.

S.H. Francis, S. Brandon and J.H. Park: Fed. Proc. 35, 1652 /1976/

R.R. Frants, A.W. Erikson, P.H. Jongeloet and A.J. Hamers: Lancet 1975: 2, 42.

I. Fridovich in E. Quagliariello F. Palmieri and T.P. Singer /Editors/ Horizons in biochemistry and biophysics. Vol. 1. 1-37. o. Addison-Wesley Publ. Co., London, 1974.

I. Fridovich: Ann. Rev. Biochem. 44, 147 /1975/.

I. Fridovich and H.M. Hassan: TIBS 4, 113 /1979/.

K. Gyurokits, L. Szabó, A. László and B. Matkovics: Eur. J. Pediatr. 137, 115 /1981/.

F. Haber and J. Weiss: Proc. Roy. Soc., Ser. A, 147, 332 /1934/.

N.C. Kar, C.M. Pearson: Clin. Chim. Acta 94, 277 /1979/.

I Kerese and B. Matkovics: Symp. on aminoacids. Oct. 15-19. Brno; Csehszlovákia.

K. Lajkó, K. Barabás, L. Szabó and B. Matkovics: VII.-th World Congress of Psychiatry, P183, Vienna, 1983.

M. Laurent, D. Daveloose, D. Leterrier, F. Fischer and S.G. Shapiro: Clin. Chim. Acta 105, 183 /1980/.

O.H. Lowry, N.J. Rosebrough, A.L. Farr and R.J. Randall: J. biol. Chem. 193, 265 /1981/.

T. Mann and D. Keilin: Proc. Roy. Soc., London. B126, 303 /1939/.

B. Matkovics, R. Novák, Hoang Duc Hahn, L. Szabó, Sz.I. Varga and G. Zalesna: Comp. Biochem. Physiol. 56B, 31 /1977/.

B. Matkovics, A. László and L. Szabó: Clin. Chim. Acta 118, 289 /1982a/.

B. Matkovics, K. Gyurkovits, A. László and L. Szabó: Clin. Chim. Acta, 125, 59 /1982b/.

B. Matkovics, SzI. Varga, L. Szabó and H. Witas: Horm. metabol. Res. 77 /1982c/.

B. Matkovics and L. Szabó: Proc. of the Symp. on advances in liquid Chromatogr., Szeged, 1982d.

B. Matkovics, K. Gyurkovits, A. László and L. Szabó: In Oxy radicals and their scavanger systems. /Editors: R.A. Greenwald and R. Cohen/ Vol. II, 411. Academic Press, New York, 1983.

J. McCord and I. Fridovich: J. biol. Chem. 244, 6049 /1969/.

A. Michelson, J. McCord and I. Fridovich /Editors/: Superoxide and superoxide dismutases. Academic Press, London, 1977.

H.P. Misra and I. Fridovich: J. biol. Chem. 247, 3170 /1972/.

Oroszlán Gy., Szabó L., Lakatos L., Matkovics, B. és Karmazsin L.: Kisérletes Orvostud. 34, 446 /1982/.

Pataki, L., Matkovics, B., Novák, Z., Martonyi, E., Molnár, A. és Varga, I.: Magyar Pediáter. 13, 267 /1983/.

R.C. Perkins, A.H. Beth, L.S. Wilkerson, W. Serafin, L.R. Dalton, C.R. Park and J.H. Park: Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 77, 790 /1980/.

A.R. Orlina and A.M. Josephson: Transfusion 9, 62 /1969/.

Z.A. Place r, L. Cushman and B.C. Johnson: Anal. Biochem. 16, 359 /1966/.

L.A. Saik, Hui-Lung Hsich, W.H. Baricos and E. Shapiro: Pediatr. Res. 16, 933 /1982/

D.C. Schechter and H. Swan: Arch. Surgery. 84, 269 /1962/.

I. Sedlak and R.H. Lindsey: Anal. Biochem. 25, 192 /1968/.

P.-M. Sinet and P. Garbier: Arch. Biochem. Biophys. 212, 411 /1981/.

P.-M. Sinet: Ann. N.Y. Acad. Sci. 396, 83 /1982/

H. Somer: J. Neurol. Sci. 48, 445 /1980/.

Varga, I., Matkovics, B., Pataki, L., Novák, Z., Martonyi, E. és Molnár, A.: Magyar Pediáter. 13, 293 /1983/.

R.L. Walford: Ann. N.Y. Acad. Sci. 396, 95 /1982/.

KÖSZÖNETNYILVÁNITÁS

Doktori disszertációmat a JATE Biológiai Izotóp Laboratóriumában készitettem.

Dolgozatom és kisérleteim egy csoportmunka részét képezik, ezért köszönettel tartozom minden kooperáló intézetnek.

Külön köszönettel tartozom Dr. Matkovics Bélának, aki sokoldalu, értékes, elméleti és gyakorlati segitségével támogatott.