

A D A T O K A G L U C O S A M I N Ó - G L I K Á N O K
S Z E R E P É H E Z A Z É R E L M E S Z E S E D É S B E N

Címzavak: heparinocyták
glucosamino-glikánok
 β -lipoproteinek
fiziológias kationok
alvadás-gátlók

ORVOS - BIOLÓGUSI DISSZERTÁCIÓ



Benyújtásra került: A SZEGEDI ORVOSTUDOMÁNYI EGYETEM
BIOKÉMIAI INTÉZETÉBE

Írta: GOMBÁS MARGIT, biológus
Szentés, 1983.

B 5109



E 2.455



Írta: JÓZSEF MARGIT, Biológus
Szeged, 1982.

E L Ő S Z Ó

Az érelmeszesedéssel kapcsolatos kutatásaimat a Kecskeméti Megyei Kórház Kórszövettani Osztályán végeztem, 1969-71-ig, ahol dr. Lusztig Gábor professzor úr munkássága nyomán hagyományai voltak a tudományos kutatásnak. Munkám szerves részét képezte a dr. Lusztig Gábor professzor úr által irányított, átfogó érelmeszesedés kutatásnak.

Dr. Lusztig Gábor professzor úr bölcs, irányító munkájáért, szakmai segítségéért ez úton mondok köszönetet.

Szeretném megköszönni dr. Guba Ferenc professzor úrnak, dr. Földes Vilmos professzor úrnak, és dr. Molnár János professzor úrnak, hogy disszertációm beadását támogatták, és jó tanácsokkal láttak el.

Remélem, hogy munkámmal sikerült egy lépéssel előbbre vinni az érelmeszesedés kórfolyamatának feltárását.

B E V E Z E T É S

Mi teszi ma is aktuálissá a témát?

Az érrelmeszesedés napjaink betegsége, mely egyre növekvő tendenciát mutat. Ezt a tényt neves kutatók nagyszámú vizsgálati anyagon végzett felmérése alátámasztja. Az elhalálozások oka között az érrendszeri betegségek sok országban valamennyi betegséget megelőzve, az első helyre kerültek. Ezen a téren a civilizált országok "vezetnek", melyekben az összes halálestek több, mint 50 %-át a keringési betegségek idézik elő.

/13, 18, 34/

Mivel az érrelmeszesedés boncolás utáni megállapítása klasszikus módszernek tekinthető, így semmiképp sem gondolhatjuk, hogy a betegség egyre növekvő arányszáma pusztán az egyre korszerűsödő diagnosztizálás eredménye.

Az elmondottakból világosan következik, hogy az érrelmeszesedés problémája ma is aktuális.

Dolgozatom elején néhány szóban szeretném ecsetelni az érrelmeszesedés kialakulási folyamatát, és a betegség patomechanizmusára vonatkozó néhány elképzelést. Majd az arteriosclerosisban kulcsszerepet betöltő makromolekulákról és anorganikus komponensekről ejtek néhány szót.

Az érrelmeszesedésről általában

Az arteriosclerosis folyamatának nyomkövetése azóta vált lehetővé, amióta Ignatowskinak és Anyicskovnak atherogén diétával sikerült állatokon előidézni érrelmeszesedést. Uttörő munkájuk nyomán számos neves kutató vizsgálhatta az érrelmeszesedés kialakulási folyamatát. /4, 12, 13, 21, 22, 23, 26, 36./

Az érfal betegsége a belhártya ödémásodásával indul meg, amely a szabad víz megszoródását jelenti a kötött víz rováására. /13./

A Hevessy óta ismert izotóp-jelzés módszerével kimutatható, hogy ezután az érfalban nagymennyiségű kén épül be, ami a szulfatált GAG-ok felhalmozódása miatt jön létre. /6, 26, 28, 32./ Az érfalra sok lipid is felrakódik /13, 14, 15, 16/. Majd az így létrejött foltok területére egyéb makromo-

lekulák is kicsapódnak /6, 14, 15/, jelentős mennyiségű szervetlen anyaggal egyetemben /5, 17, 26, 33/. Így végül kialakulnak a meszes plaquok.

Az érelmeszesedés pathomechanizmusára vonatkozó elgondolások

Az arteriosclerosis kialakulási folyamatára vonatkozólag sok elgondolás látott már napvilágot. Ezek közül röviden ismertetek néhányat, mégpedig azokat, amelyek valami úton-módon összefüggésbe hozhatók a glucosamino-glikánok szerepével.

a./ A filtrációs teória megalkotója I. Page, amerikai kutató. Elméletének ma már inkább csak irodalmi jelentősége van. Az elgondolás abból indul ki, hogy az erek lumen felé eső része a táplálékokat a vérből kapja. Az erek belhártyája a plasma molekuláira nézve szűrőként viselkedik. Az átszűrődő részecskék számának szaporodása, méreteinek növekedése, vagy alakjuk változása megnehezíti a szűrést. Következésképpen a megváltozott részecskék fennakadnak a szűrőn, s ott felhalmozódnak /13/.

b./ A még ma is legnépszerűbb thrombogén teória megalkotója Rakitansky. Munkássága óta még ma is tartja magát az a nézet, hogy az érfali lerakódásban a fibrin és a thrombocyták játszáka a főszerepet. Ezzel egyező állásponton van többek között Perlick, Astrup, Kappert és Tanaka is /1, 13, 19, 29, 35/.

c./ Bihari-Varga Magdolna és munkatársai az érfal pathológias szerkezetváltozásának tulajdonitanak döntő jelentőséget az érelmeszesedés kialakulásában. Abból indulnak ki, hogy egyes érfali területek plaqu-mentesek, holott ezen részeken is ugyanolyan összetételű plasmával érintkezik az érfal, mint a meszes elváltozást mutató területeken /7/. Ezen elgondolás helyességét igazolják Bagdy, valamint Hellem és Stormorken kutatásai, miszerint a vérlemezkék adhéziója és aggregációja a sérült érterületeknél következik be /2/.

d./ Lusztig kutatásai jelentősek, mivel az érfal – eddig figyelmen kívül hagyott – legkülső rétegének, az adventitiának sokrétű, védő szerepét igazolják a betegség kivédésében, illetve károsodása esetén kialakulásában /22, 23, 24, 25, 26/.

e./ Figyelemre méltó Banga Ilona véleménye is, mely szerint az érrelmeszesedés kialakulásában döntő jelentőségű az érfal saját anyagcseréje, az érfalban működő enzimek aktivitása. Nevezetesen az elasztáz és az elasztomukoproteináz mennyisége az atherosclerotikus aortában a normálistól eltérő /3/.

Akármelyik véleményt vesszük tekintetbe, kitűnik, hogy a GAG-ok kulcsfontosságú szereplői az érrelmeszesedésnek. A plaqu-képzésben jelentős szerepet játszó anyagok rövid ismertetése:

A glucosamino-glikánok /GAG/ - régebbi nevükön savanyú mucopolysaccharidák - a máj és a kötőszövet hízósejtjeiben /más néven heparinocyták, mast - sejtek, v. basophyl granulocyták/ termelődnek.

Kémiaileg makromolekuláris cukorpolimerek, láncelágazást nem, vagy csak ritkán tartalmaznak. Disaccharid egységekből épülnek fel, melyben az egyik összetevő a hexuronsav, a másik pedig acetilált vagy szulfurált hexózamin. Ezen leírt kémiai szerkezetük miatt hívjuk a mucopolysaccharidokat glukózamino-glikánoknak.

A polysaccharid-láncok általában váltakozva β 1-3 ill. β 1-4 glikozid-kötéseket tartalmaznak, kivéve a heparint és a heparitin-szulfátot, mely alternálva α ill. β 1-4 glikozid-kötéseket tartalmaz.

Azonkívül anion-csoportokat is tartalmaznak, /innen a "savanyú" elnevezés/ disaccharid-egységenként egytől négyig, ami lehet karboxil vagy szulfát csoport.

A különböző GAG-ok egymástól eltérhetnek a disaccharid-egységek összetételében, az anion csoportok milyenségében, számában és elhelyezkedésében, ebből következően térszerkezetükben is.

A vérplazmában és az aortában előforduló GAG-ok a következők: Hialuronsav. Ez nem szulfatált GAG. Nagy molekulásúlyú, igen viszkózus, szárazanyag-tartalmának megfelelően százszoros mennyiségű vizet tud megkötni.

A Chondroitin-kénsav /v. szulfát/ 3 típusa ismert: A, B és C. A molekula 1-1 disaccharid-egysége átlagosan 2-2 anion-csoportot tartalmaz. A láncok szulfatáltsága nem egyenletes.

A heparitin rendszerint 2-2 anion csoportot tartalmaz dissacharid egységenként, a heparin pedig 3-4-et,

Ez utóbbi 2 GAG szerkezete között valószínűleg nagyobb a hasonlóság, mint a többi között, ugyanis a heparitint és a heparint /röviden heparinoidokat/ a toluidinkék festék kicsapja, míg a többi GAG-komponens oldatban marad.

A glucosamino-glikánok lényeges tulajdonságai szoros összefüggésben vannak funkcióikkal.

Ezek a következők:

Jó vízkötők

Szűrő feladatot látnak el

Kation-cserélők

Komplex-képzők

Véralvadásgátlók

Meg kell még említenem, hogy se szeri, se száma azoknak a tudományos könyveknek és közleményeknek, amelyek a GAG-ok anti-lipaemiás hatását leírják. Akármennyire is tért hódított az az állítás, hogy a glucosamino-glikánok fokozzák a lipoprotein lipase aktivitását, a magam részéről megkérdőjelezném ezt az állítást. Erre a témára a megbeszélésben még visszatérek.

A mucoid anyagok – mint az Bernfeld munkássága óta ismertté vált – a vérplasma fehérjéi közül kettőt megkötnék: a fibrinogént és a β -lipoproteineket / β -LP/. Ez utóbbi makromolekula-tipust szeretném néhány szóval ismertetni.

Az elnevezés eredete: A vérplazma fehérjéi papirelektroforezis folyamán szétválnak. A pozitív anódhoz legközelebb az albuminok kerülnek, majd az α_1 , α_2 globulinok, ezután pedig a β -globulinok helyezkednek el. /Ha a szeparálást ultracentrifugával végzik, akkor a VLDL = very low density lipoprotein, és az LDL = low density lipoprotein frakció felel meg a β -LP-eknek./ A β -lipoprotein molekulák csak kicsi negatív töltéssel rendelkező, gömb alakú óriásmolekulák, átmérőjük kb. 700Å, molsúlyuk milliós nagyságrendű. 80 % lipidet és 20 % fehérjét tartalmaznak. A részletes szerkezet ma már jól ismert, melyet nagyrészt Morrisett és munkatársai tártak fel. A fehérjék és a foszfolipidek poláros csoportja a gömb alakú lipoprotein-mo-

lekulák külső héját alkotják. Az apoláros zsírsavlánc pedig a gömb belseje felé tekint. A cholesterin és cholesterin-észter molekulák a foszfolipidek között helyezkednek el, irányítottaságuk a foszfolipidekhez hasonló. Romics és Szollár szerint a cholesterinek fő szerepe abban áll, hogy a foszfolipid-fehérje komplex fázisátalakulási hőmérsékletét és így gél-folyadék állapotát – fluiditás – módosítja.

Az óriásmolekula belsejében helyezkednek el a neutrális lipidek. A lipoproteinek élettani jelentősége abban áll, hogy a vízben oldhatatlan lipideket oldatban tartják és szállítják.

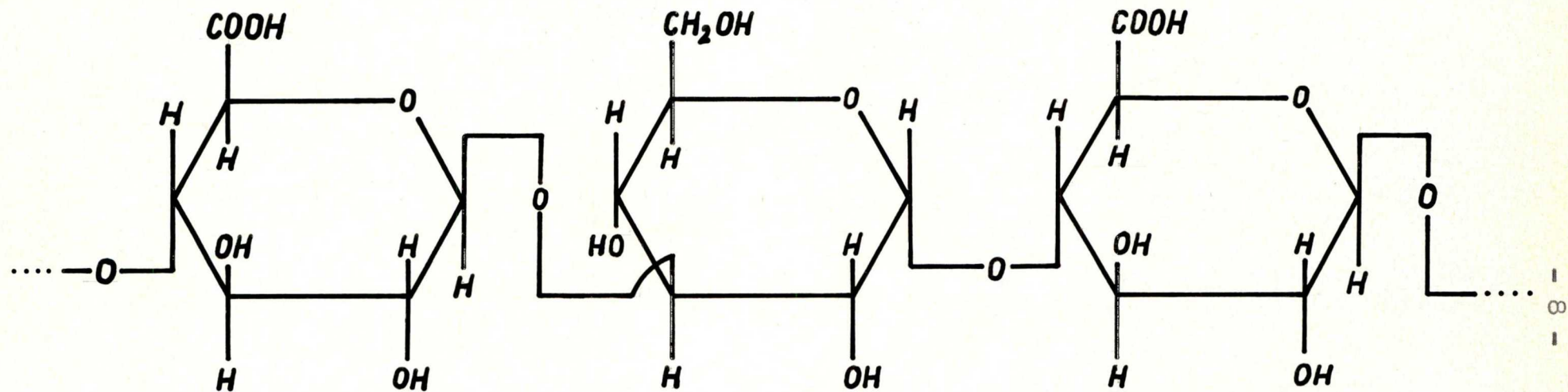
A kétféle makromolekula-típus /tehát a glucosamino-glikánok és a β -lipoproteinek/ 2 értékű kationok közreműködésével szupramolekuláris komplexet képeznek és kicsapódnak az érfalra.

Ezen folyamatról túlzás nélkül elmondhatjuk, hogy az érlelmeszedés pathomechanizmusának lényeges mozzanata.

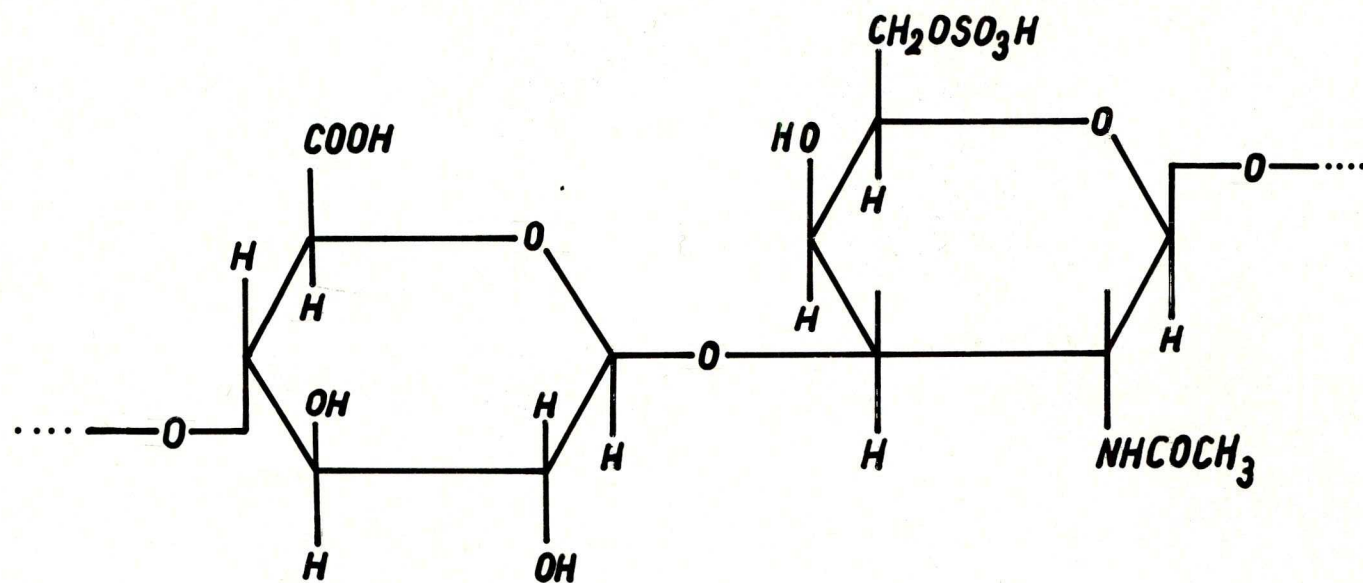
A kationoknak a GAG-okhoz való affinitási sorrendjére vonatkozó irodalmi adatok nagyon eltérőek, annyit azonban elmondhatunk, hogy mennél nagyobb vegyértékű a kation, annál nagyobb a GAG-okhoz való affinitása. Mivel az egyértékű kationoknak is van affinitása a GAG-okhoz, de szupra-molekuláris komplexet nem képeznek a β -LP-ekkel, ezért képesek a szupra-molekuláris komplexet oldani, így therapiás szempontból is számításba jöhetnek.

Az elmondottakat jól alátámasztják Lusztig és Hesz kutatásai, akik megállapították, hogy az ép és súlyos szklerosis-fokot mutató aorta kálium és nátrium tartalma nem különbözik jelentősen, viszont a magnézium az eredeti érték duplájára, a kalcium pedig közel ötszörösére is emelkedhet /17, 26/.

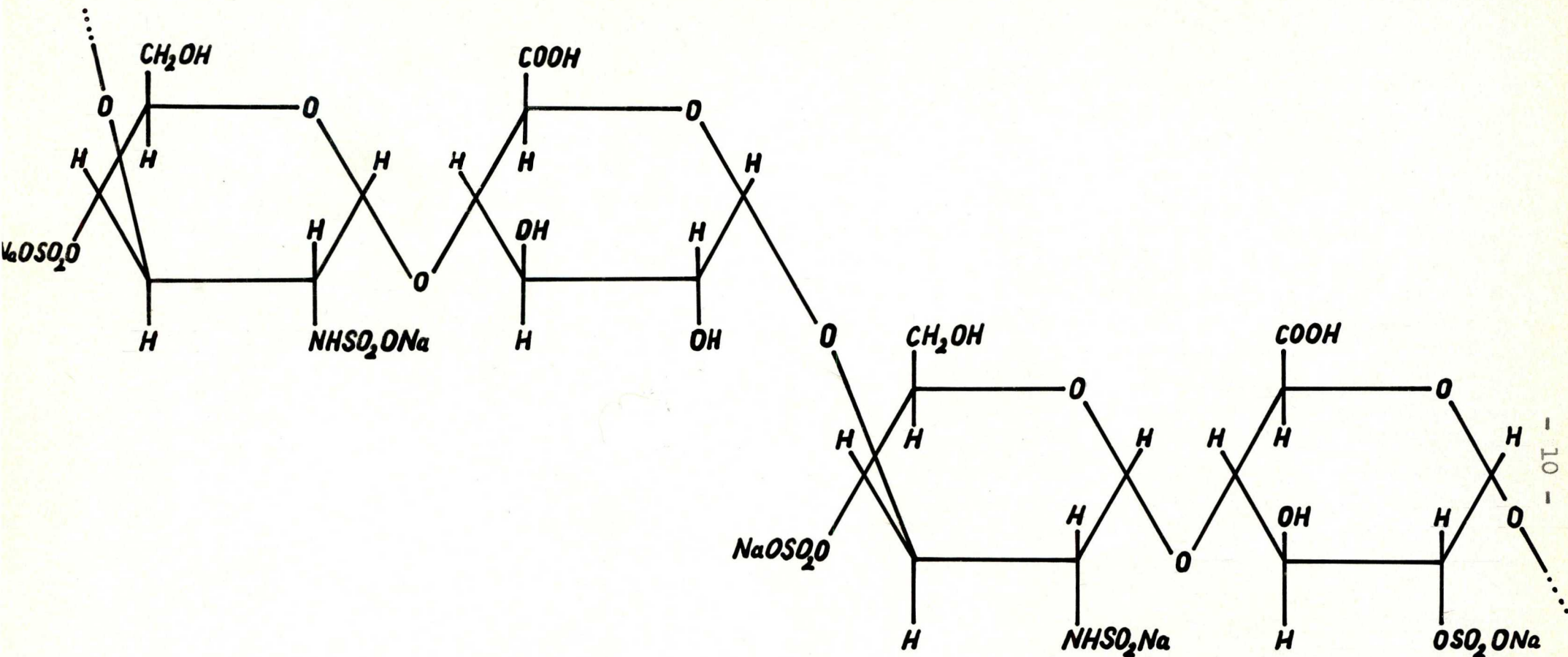
A háromértékű kationok fiziológiásan csak kis mennyiségben vannak jelen. Habár kicsapják a GAG-okat, mennyiségük miatt nem jelentősek a csapadékképzés szempontjából.



HIALURONSAV – MOLEKULA

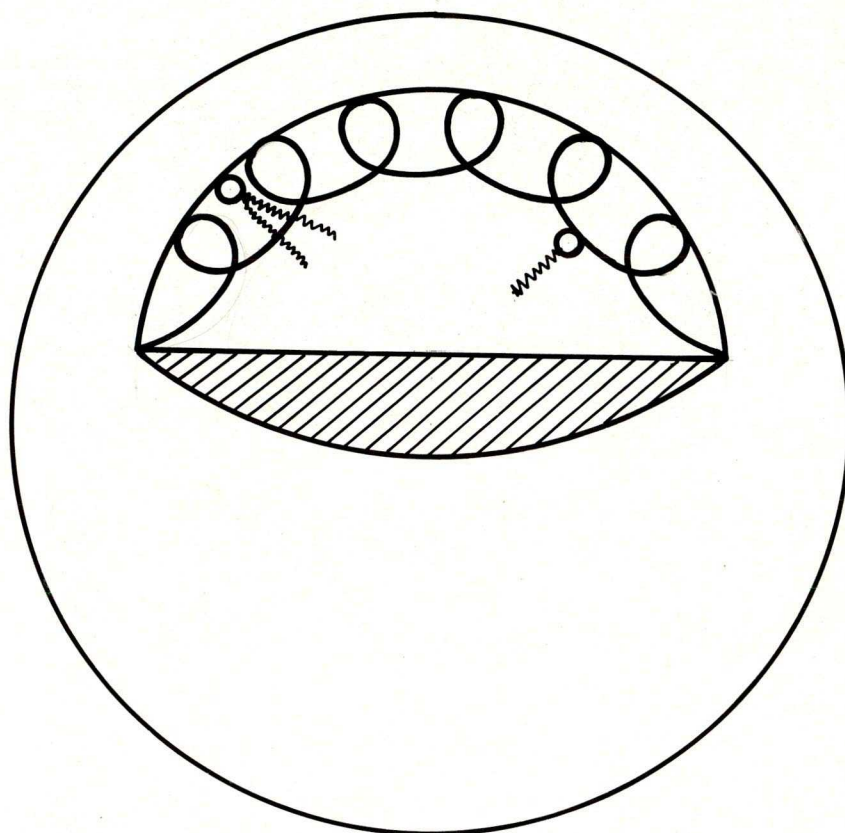


CHONDROITIN-KÉNSAV MOLEKULA



HEPARIN MOLEKULA NÁTRIUM-SÓJA

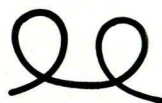
[AKÉPLETBŐL JÓL KITŰNIK, HOGY EZ A MPS - FÉLESEG A LEGPOLÁROSABB]



β - lipoprotein molekula térszerkezeti modellje

 - foszfolipid molekula

 - cholesterolin molekula

 - apoprotein

/ Morrisett, J.D.; Jackson, R.L.; Gotto, A.M.: Lipoproteins.
Ann. Rev. Biochem. 44. 183-207, 1975 /

K I S É R L E T I E R E D M É N Y E K

I. HIZÓSEJT-REAKCIÓ AZ AORTA THORAKÁLIS ÉS ABDOMINÁLIS ADVENTITIÁJÁBAN AZ ATHEROSCLEROSIS FÜGGVÉNYÉBEN

A hizósejtekkel foglalkozó irodalom ma már csaknem áttekinthetetlen. Selye /17/ 1965-ben megjelent könyvében a hizósejt felfedezése óta több, mint 2500 irodalmi adatot gyűjtött össze. A közlemények száma azóta is szaporodik. E nagy szám is a hizósejteknek fontos és szerteágazó szerepére utal, melyet az emberi szervezetben a normó és pathofunkciós állapotban betölt. A szerzők többsége egyetért abban, hogy a hizósejteknek aktív szerepük van az arteriosclerosis kialakulásában. Véleményünk szerint a valósághoz legközelebb Douglas és munkatársai /4/ állanak, kik szerint a hizósejtek egy adaptációs rendszert alkotnak az érfalban, s mint ilyen vesznek részt az ott történő physiológiai és pathológiai történésekben. E megfigyelés összhangban van Lusztig vizsgálataival, melyek kapcsán megállapította, hogy cholesterol-etetett nyulak aorta adventitiájában 6 hét után a hizósejtek térfogata átlagosan 12 %-kal, 8 hét után 61 %-kal nőtt, majd erősen lecsökkent. Hasonló változást észlelt a hizósejtek számában is, mely optimumát 8 heti cholesterol-kezelés után érte el, azt követően pedig csökkent /8/.

Bár a hizósejtek bizonyos morfológiai elváltozásai, így a sejtmegnagyobbodás nem tekinthető fajlagos reakciónak, mégis a hizósejtek számának és térfogatának ilyen mérvű változásai az adventitiában a hypercholesterinaemiát kísérő kezdeti fokozott aktivitásra, majd kimerülési állapotra utalnak, s mint ilyenek egy adaptációs rendszer reakciójának részét képezik. Következtetései helyességére utal Sundberg /19/ 1955-ben tett megfigyelése, mely szerint a nagyerek adventitiájában a középkorig a hizósejtek száma nő, majd az öregkorral csökken.

Az adventitia hizósejtjei hypercholesterineemiában histochemiailag is jól regisztrálható változáson mennek át. A cytoplasmában, különösen a granulumokban GAG felszaporodás észlelhető, valamint a lipase, phosphatase, glucuronidase és peroxidase aktivitás fokozódik /9/.

Ezen eredmények annál is inkább érdekesek, mert a hízósejtekről tudott dolog, hogy valóságos biokémiai laboratóriumok, cytoplasmájukban a granulumok elsősorban bőséges kén-tartalmu GAG-ok.

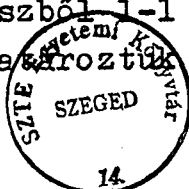
Lusztig kutatásai alapján megállapítást nyert, hogy az aorta adventitiájában atherosclerosis és öregkor során jellegzetes GAG anyagcsereváltozások történnek /10/. Ugyancsak kimutatta, hogy a GAG-anyagcsere az érfalban bizonyos localisatiós és hormonális szabályozás alatt áll. Eloszlásbeli különbséget - aorta thoracalis, abdominalis - a GAG frakciók közül a chondroitinsulphatB, valamint a heparin-heparitin mutatott /11/.

Anyag és módszerek

Összesen húsz, 17-68 év közötti egyén aortájának adventitiáját dolgoztuk fel. Az elhunytak között GAG-anyagcserezavarban szenvedő egyén nem volt. A vizsgálati anyagot az arteriosclerosis súlyosságának megfelelően négy csoportba osztottuk /0-tól III-ig/ nemre, korra és halálokra való tekintet nélkül. Sclerosis-fokonként 5-5 cadaver adventitiáját vizsgáltuk, külön a thoracalis és külön az abdominális részt.

Az aortákat a halál után maximum 6-12 órával kipreparáltuk. Mielőtt az aortát feldolgozás céljából feldaraboltuk volna, az atherosclerosis fokának megállapítása a WHO szempontjai szerint történt /18, 20, 22/. Ennek alapján az atherosclerosis súlyosságát részben makroszkóposan, részben kémiai vizsgálattal - cholesterolin - meghatározás - állapítottuk meg. Makroszkópos észlelésre a mellkasi és hasi szakasz, az első intercostális arteriától a bifurcatióig szolgált. Az aorták mindegyikét gondosan kiterítettük, milliméterpapíron lerajzoltuk, majd a fentebb említett atherosclerotikus laesiókat a milliméterpapíron berajzoltuk. Ennek segítségével meg tudtuk határozni, hogy az elváltozást mutató területek az össz-aorta felület hány százalékát teszik ki.

A kémiai vizsgálat céljára a mellkasi felső, a mellkasi alsó, a hasi felső és alsó részből 1-1 cm-es darabkát levágtunk és azokból együttesen meghatároztuk az érfal cholesterolin-tartal-



mát az alábbi eljárás szerint:

65-70 C^o-ú thermostátban 24-28 óra alatt az aortát kiszá-
ritottuk, majd kis darabokra aprítottuk. Alkohol-éter 3:1 ará-
nyú keverékével extraháltuk. Egy napi állás után az extractu-
mot leszűrtük, bepároltuk, majd a koncentrátum aliquot részé-
ből Rappaport és Eichhorn szerint /1/ cholesterolin meghatáro-
zást végeztünk.

Mindezen szempontok figyelembevételével anyagunkat az aláb-
bi atherosclerosis-stádiumokra osztottuk:

0. stádium: makroszkóposan az aorta belfelületén elválto-
zás nem, vagy csak alig látható. Elváltozás nagysága 0-5 %,
cholesterin tartalom: 400-1000 mg/100 g szárazanyag.

I. stádium: /enyhe elváltozás/ makroszkóposan szétszórtan
kisebb-nagyobb lipid plaquok. Elváltozás nagysága 5-30 %,
cholesterin-tartalom: 1000-+200 mg/100g szárazanyag.

II. stádium: /Középsúlyos elváltozás/ makroszkóposan rész-
ben szétszórt, részben összefolyó lipid és fibrotikus plaquok.
Elváltozás nagysága: 30-60 %, cholesterolin-tartalom: 3200 mg/100g
szárazanyag.

III. stádium: /súlyos elváltozás/ makroszkóposan összefo-
lyó lipid, fibrotikus, részben meszes gócok. Elváltozás nagy-
sága 60 % felett. Cholesterolin-tartalom 1000-2700 mg/100g szá-
razanyag.

Jelen vizsgálat céljaira a mellkasi mintákat az aortából
eredő első intercostális artéria területéről, míg a hasi sza-
kaszt az elágazás feletti részből vettük.

A 0,5 cm-es szövetmintákról a zsirszövetet eltávolítottuk,
az adventitiát az intima-media komplexről lefejtettük, majd
formalinban rögzítettük. Paraffinos beágyazás után 5 μ -os met-
szeteket készítettünk, pH 3-as acetát-pufferben oldott, 0,1 %-
os toluidinkék-oldattal festettük, majd ammoniummolibdenát
2,5 %-os, káliumferricianid 0,5 %-os keverékeleggyel kezeltük.

Ezzel a festési eljárással általában a GAG-ok, így a he-
parin is jól festődik, mely anyagot a hizósejtek nagy mennyi-
ségben tartalmazzák. E sejtféleség biborlilára festődik, míg
egyéb szöveti komponensek kék színben tűnnek elő.

A hizósejtek számának megállapítása úgy történt, hogy mind a mellkasi, mind pedig a hasi szakaszból készített 10-10 sorozatmetszetben az aorta kerülete mentén az adventitiában megszámláltuk a hizósejteket. 10 metszetben levő sejtszámot tekintettünk önkényesen egy-egy aorta-szakasz adventitiális hizósejtszámának, majd csoportonként átlagot számoltunk.

A hizósejtek aorta-szakaszonkénti átlagos térfogatát 50 sejt adatai alapján számoltuk ki, majd csoportonként átlagoltuk. Mivel a hizósejtek ellipszoid forgástestnek tekinthetők, köbtartalmukat az alábbi képlet alapján határoztuk meg:

$$V = a^2 \cdot b \cdot \frac{\pi}{6}$$

ahol "a" a rövidebb átmérő, "b" a hosszabb átmérő. A valószínűségi értékeket Student-féle kétmintás "t" próba alapján számoltuk ki /6/.

Eredmények

1. A sclerosis-fokok szerinti hizósejtszám alakulás a két szakaszon – thoracalis és abdominális – jelentős eltérést mutatott /1.táblázat, 1.ábra./.

A mellkasi szakaszon 0. sclerosis-fokban – 10 metszetre számítva – átlagosan 212 ± 59 hizósejt volt. Ez a szám I. súlyossági stádiumban átlagosan 331 ± 26 -ra nőtt.

A mellkasi szakaszon a sejtek számbeli növekedése a II. sclerosis-fokban éri el a maximumát $/536 \pm 43/$. Ez a 0. stádiumhoz viszonyítva 153 %-os emelkedést jelent $/p \ll 0,01/$.

A III. súlyossági fokban jelentős csökkenés mutatkozik $/209 \pm 28/$, mely a maximumhoz képest 61 %-os visszaesést jelent $/p \ll 0,01/$.

Az abdominalis részen 0. sclerosis-fokban a hizósejtek száma átlagosan 232 ± 48 volt.

A hasi szakaszon, ahol a sclerosis mindig előrehaladottabb stádiumban van, mint a mellkasi részen, a maximális sejtszámot az I. stádiumban észleltük $/470 \pm 65/$. Ez 0. sclerosis-fokhoz képest 103 %-os növekedést jelent $/p < 0,02/$.

A II. stádiumban a hasi részen már számbeli csökkenés mutatkozik $/406 \pm 98/$, mely a III. fokban még kifejezettebb

/168 $\pm$ 60/. Ez a maximumhoz képest 64 %-os csökkenésnek felel meg /p=0,01/. Amennyiben a két szakasz értékéből átlagot számolunk és a hizósejtek számának alakulását e szerint figyeljük, a számszerű változások igen egyértelműek. Az aorta adventitiájában a hizósejtek száma a II. sclerosis fokot jelentő középsúlyos atherosclerosisig megduplázódik, majd súlyos sclerosisban erősen lecsökken /222, 400, 471, 188/. A növekedés különösen az enyhe sclerosis kialakulásakor domináns. Azonos sclerosis-fokban hasonlítva össze a thoracalis és abdominális aorta-adventitia hizósejtjeinek számát, szignifikáns különbséget a két szakasz között nem találtunk /1 Táblázat, 1. ábra/.

2. A hizósejtek sclerosis-foknak megfelelő térfogatváltozása szintén eltérést mutat a két szakaszon.

A thoracalis régióban 0. stádiumban a hizósejtek átlagos térfogata, melyet egyenként 50-50 sejt méretei alapján számoltunk ki, 401 $\pm$ 16 μ^3 volt.

I. sclerosis-fokban térfogatcsökkenés észlelhető, átlagosan 372 $\pm$ 3 μ^3 . A mellkasi szakaszon a térfogatminimumot a II. stádiumban észleltük /343 $\pm$ 46 μ^3 /, mely 0. fokhoz képest 14,5 %-os csökkenést jelent /p>0,2/.

A hasi szakaszon a térfogati értékek a következőképpen alakultak: 0. fokban 344 $\pm$ 25 μ^3 . I. sclerosis-fokban kis méretű térfogattnövekedés következik be /401 $\pm$ 50 μ^3 /, majd a II. stádiumban jelentkezik a maximum /670 $\pm$ 69 μ^3 /, Ez a minimumhoz képest /0 fok/ 96 %-os növekedés /p<0,01/. A III. sclerosis-fokban térfogatcsökkenést figyeltünk meg /454 $\pm$ 70 μ^3 /, mely a II. stádiumhoz képest 32 %-os térfogatcsökkenést jelent /p>0,05/.

A hizósejtek térfogatának változása a két szakasz átlaga alapján lényegében a számszerű változásokkal megegyező, A hizósejtek térfogata középsúlyos sclerosis-fokig nő, különösen az I. stádiumot követően, majd csökken /372, 386, 501, 460 μ^3 /. Az abdominális és thorakális szakasz hizósejtjeinek térfogata közötti különbség csupán a II. sclerosis-fokban szignifikáns /p=0,01/ /2.táblázat, 2. ábra/.

Megbeszélés

Bersohn /2/ véleménye szerint elméleti következtetések alapján el kell fogadnunk, hogy a hizósejteknek fontos szerepük van az atherosclerosis pathogenesisében és pedig azáltal, hogy belőlük heparin szabadul fel, mely csökkenti a vérlemezkék adhaesióját és gátolja a véralvadást. Mióta Bélanger és munkatársai /3/ kimutatták, hogy magnéziumhiány csökkenti a hizósejtek számát, az a vélemény alakult ki, hogy a magnéziumhiány kapcsolatban van a hizósejtekkel, heparintermeléssel. Pollak /15/ megfigyelte, hogy azokban az egyéneknél, akiknek a plasmája tejszerű, az érfalban a hizósejtek száma magas. Paterson és Mills /13/ 1958-ban 67 boncolási esetben összefüggést az atherosclerosis súlyossága és a hizósejtek száma között nem talált. Ezzel szemben kifejezett csökkenés volt észlelhető a hizósejtek számában, amennyiben thrombosis, infarctus vagy acut coronaria insufficiencia állott fenn. Lino és Salvatore /7/ viszont atherosclerotikus egyének szívében a hizósejtszámot subnormálisnak találta. Pomerance /16/ megfigyelte, hogy coronaria occlusióban szenvedőkön a koszorús verőerek körül a hizósejtek száma nő. Véleménye szerint a perivascularis hizósejt-szaporulat a heparin-felszabadulás gátlóságának kifejezője. Wexler /21/ öreg tenyészpatkányokban leírta, hogy az arteriosclerosis kifejlődése a szívben a hizósejtek számának csökkenésével és degenerációjával jár együtt, a granulomok pedig ortochromatikusává válnak. Hedbon /5/ és Phillips /14/ elektronmikroszkópos vizsgálatai is igazolják, hogy a hizósejtek granulomai egy középső ortochromatikus és egy széli, köpenyszerű metachromatikus rétegből állanak. Bizonyos stimuláló agensek hatására ez a metachromatikus köpeny leválik, vagy szintézise gátlást szenved. E megfigyelésekkel összhangban vannak Lusztig megfigyelései is /12/. Megállapította, hogy cholesterolin-étetésre a nyulak szívizomzatában és bőrében a heparinocyták meggyőző quantitativ és qualitativ változást mutatnak, mely a granulom-formáció változásaiban és az ortochromasia fokozódásában nyilvánult meg. Quantitativ reakció mind a szívben, mind a bőrben csak kifejezett hypercholesterinaemia állapotában volt megfigyelhető. E megfigyelés annak le-

hatóságát veti fel, hogy a hizósejtreakció létrejöttéhez bizonyos cholesterolin-szint, ún. küszöbérték meghaladása szükséges, vagy pedig az exogén eredetű cholesterolin, mint fizikokémiai inger fejti ki nem specifikus irritatív hatását a hizósejtekre.

Ezen tanulmányunkban az emberi aorta-adventitia képezte vizsgálatunk tárgyát, mely kapcsán a hizósejtek számszerű és térfogatbeli változására az atherosclerosis függvényében az alábbi megfigyeléseket tettük:

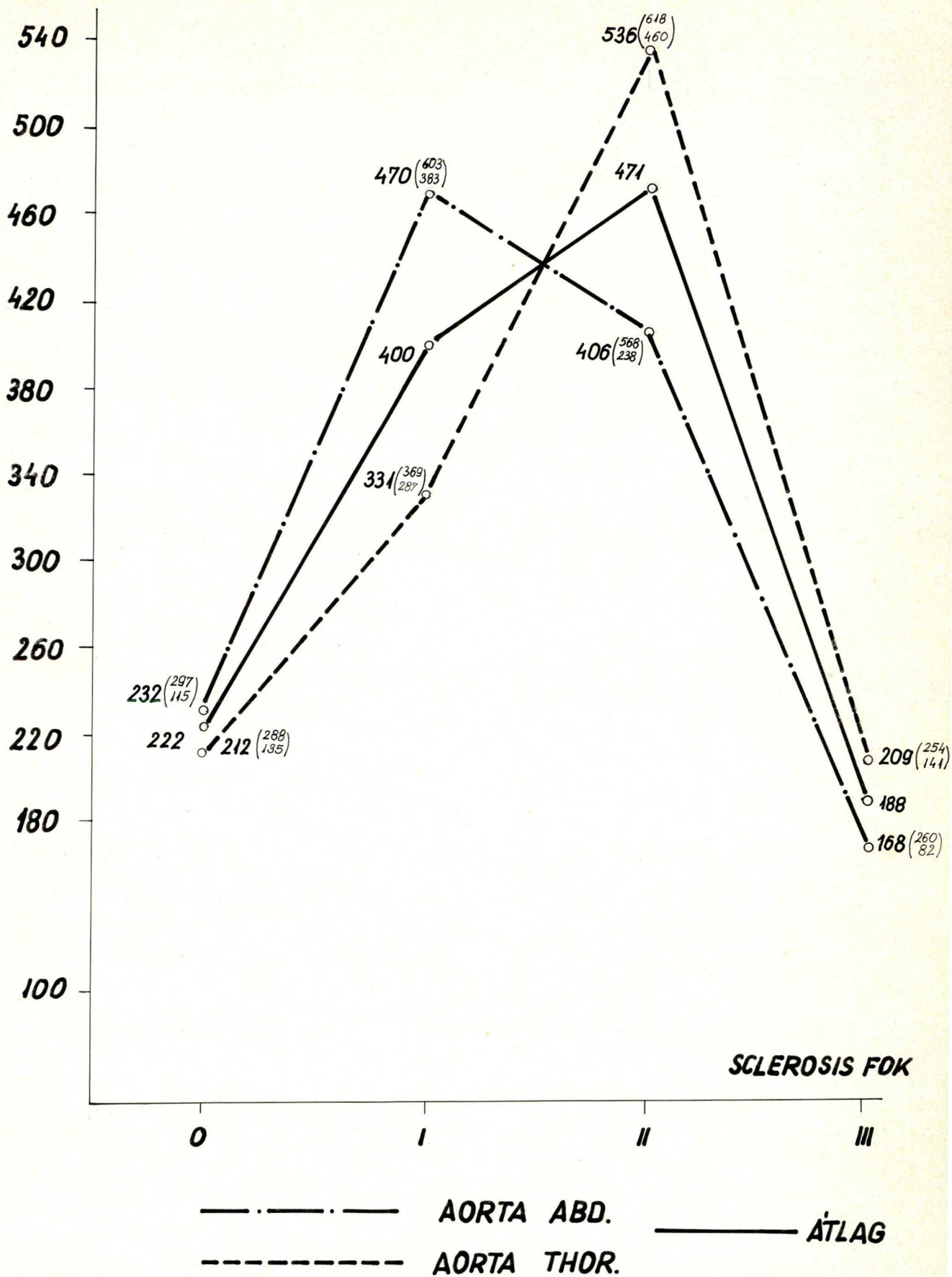
1. Az abdominális régióban a hizósejtek száma előbb éri el a maximumot, mint a thoracalis részen, a számbeli csökkenés pedig hamarabb következik be. Ezen jelenség bizonyára correlatióban állhat azzal a megfigyeléssel, hogy a hasi szakaszon az arteriosclerosis mindig előrehaladottabb stádiumban van, mint a mellkasi részen.
2. A térfogati értékek alakulását egybevetve a számbeli változással, megfigyelhető, hogy a sejtszám és sejttérfogat nem változik synchron. A térfogati érték visszaesése a mellkasi szakaszon az atherosclerosis középsúlyos stádiumában új sejtek képződésére utal.
3. A sclerosis-fok szerinti térfogatváltozások a hasi szakaszon sokkal szembetűnőbbek, mint a mellkasin.
4. Az abdominalis régióban az atherosclerosis III. fokában a térfogat csökken — mely a kimerülési állapot jele lehet — míg a mellkasi részen ezen sclerosis-fokban a térfogat növekedik. Ugy látszik, hogy ez utóbbi régióban a védekező mechanizmus még működőképes.
5. A két régió átlagértékeinek alapján arra a következtetésre kell jutnunk, hogy a hizósejtek reakciójában a számszerű változás az elsődleges, melyet a térfogatváltozás csak másodsorban követ.
6. Az abdominalis aorta adventitiájában a hizósejtek számszerű és térfogatreakciója hevenyebb formában zajlik, mint a thoracalis szakaszban.

I/1. táblázat

Az atherosclerosis és a hizósejtek számának összefüggése az aorta thoracalis és abdominalis adventitiájában								
Sclerosis foka	0		I		II		III	
Aorta-szakasz	M	H	M	H	M	H	M	H
Hizósejtek számának átlaga 10 metszetben	195	115	310	420	534	400	141	192
	111	230	287	383	618	490	254	102
	234	262	350	501	564	568	252	260
	135	258	339	443	462	328	195	204
	288	297	369	603	504	244	201	82
Átlag	212 $\pm$ 59	232 $\pm$ 48	331 $\pm$ 26	470 $\pm$ 65	536 $\pm$ 43	406 $\pm$ 98	209 $\pm$ 28	168 $\pm$ 60

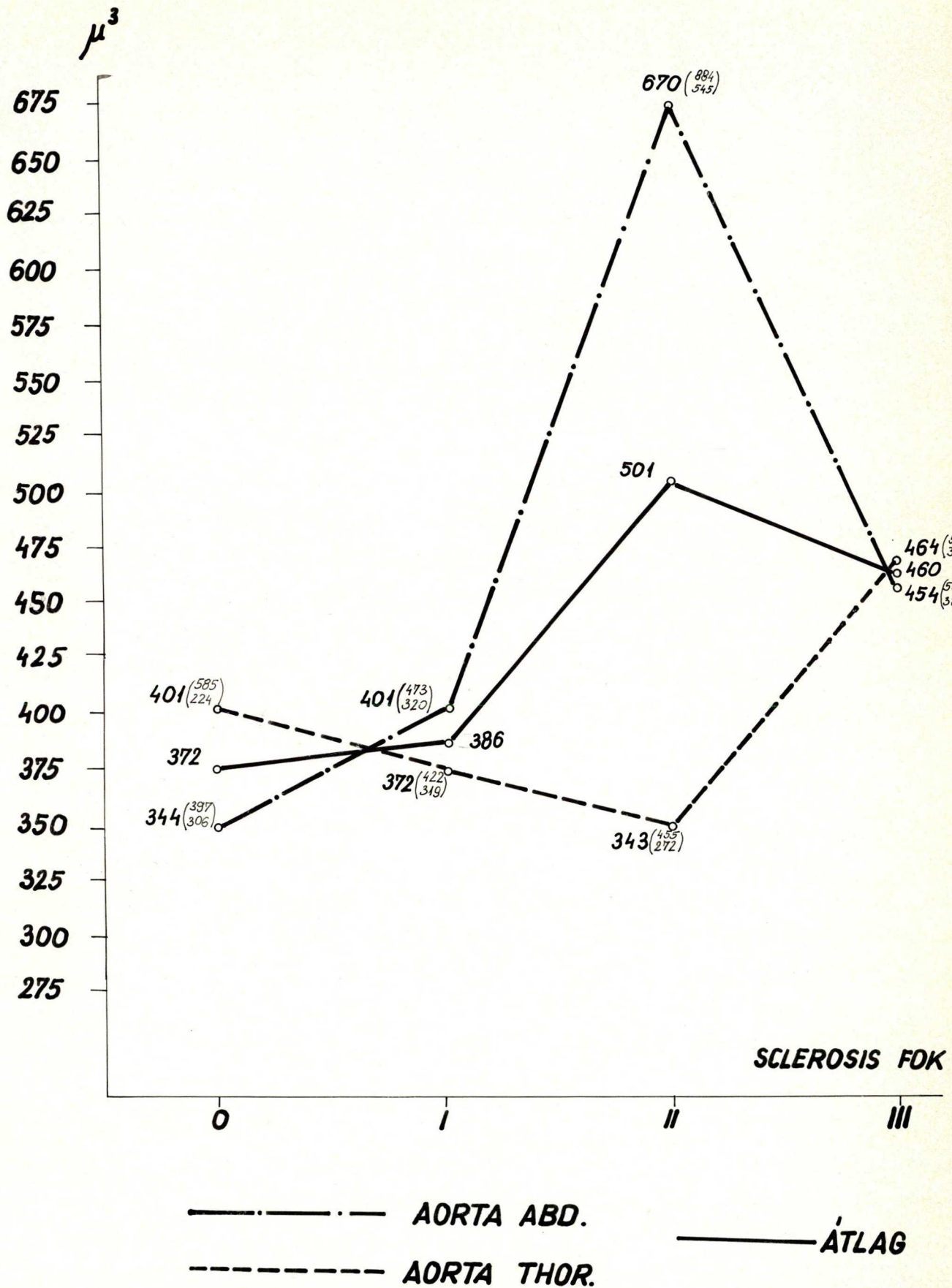
I/2. táblázat

Az atherosclerosis és a hizósejtek térfogatának összefüggése az aorta thoracalis és abdominalis adventitiájában								
Sclerosis foka	0		I		II		III	
Aorta-szakasz	M	H	M	H	M	H	M	H
Sejttérfogat átlaga μ^3 -ban	424	317	319	434	455	572	510	382
	424	306	422	473	315	669	484	410
	385	397	396	369	328	678	462	552
	387	354	348	369	272	884	397	394
	408	345	375	320	347	545	483	532
Átlag	401 $\pm$ 16	344 $\pm$ 25	372 $\pm$ 30	401 $\pm$ 50	343 $\pm$ 46	670 $\pm$ 69	467 $\pm$ 30	454 $\pm$ 70



I / 1. ábra

Heparinocyták számának alakulása az érlemeszesedés függvényében,
az aorta adventitiájában



I / 2. ábra

A heparinocyták térfogatának alakulása az érlemeszesedés
függvényében, az aorta adventitiájában

II. AZ ATHEROSCLEROTIKUS AORTA-FAL RÉTEGEK GAG-JAINAK

HATÁSA A VÉRALVADÁSRA

Több szerző kimutatta, hogy az érfalban véralvadást befolyásoló anyag van /2, 8, 34, 45/, bár ellentmondó megfigyelésekről is tudunk /39, 40/. Lusztig 1966-ban számolt be munkatársaival az emberi aorta GAG-jainak véralvadásra kifejtett hatásáról /21/. A vizsgálatokat az intima-mediából izolált GAG frakciókkal végezte. Nikitin /32/ kísérletes cholesterol-sclerosisban az aortában csökkent coagulációs aktivitást észlelt. Emberen tett megfigyelések során megállapították, hogy az intima-mediának van a legnagyobb coagulációs /thromboplastikus/ aktivitása, míg az adventitia coagulációs effektusa kisebb. Kísérletes atherosclerosisban viszont azt találták, hogy a plasmában a recalcificálási idő megnyúlik, a heparin tolerancia teszt pedig csökken. E megfigyelés összhangban van Lusztig 1966-ban tett megfigyelésével, mely szerint cholesterol-etetett nyulakban a thrombin-inaktiválási módszerrel mért heparin tartalom a vérben emelkedik.

Ha tekintetbe vesszük az előző megfigyeléseket, melyek szerint az atherosclerosist nem csupán az intima-mediában, hanem az adventitiában is szöveti anyagcsereváltozás kíséri /27/, sőt ebben bizonyos localisatiós és hormonális tényezőknek is szerepük van /28, 29/, jogos a kérdés, hogy ezen változások vajon nem járnak-e együtt az érfal coagulációs effektusának megváltozásával.

Mindezen tényezők indokoltá teszik, hogy vizsgálat tárgyává tegyük az érfal valamennyi rétegéből - intima-media, adventitia - külön-külön izolált össz-GAG coagulációs hatásának vizsgálatát az atherosclerosis súlyosságának függvényében, valamint ezen véralvadásra kifejtett hatás és a GAG-ok érfali localisatiója közötti összefüggés tisztázását.

Anyag és módszerek

Összesen húsz, 18-75 év közötti egyén aortális GAG-jainak hatását vizsgáltuk a véralvadásra. A vizsgálati anyagot az I. fejezetben leírtak szerint osztályoztuk. A kísérlet folyamán mind az intima-media komplexnek, mind pedig az adventitiának thoracalis és abdominális szakaszát külön vizsgáltuk. Az aortákat a halál után maximálisan 4-16 órán belül kiperaráltuk. Az adventitiát az intima-media komplexről leválasztottuk. A holttestekből nyert minták feldolgozása a következőképp történt: a szövetdarabokat 3x24 órán át abszolút acetონban zsirtalanítottuk és víztelenítettük. Majd vákuumszáritóban 30-35 fokon száritottuk. Az acetón-száraz aortákat korpafinomságúra őrlöttük. A GAG kivonást Buddecke módosított eljárása szerint /6, 7/ végeztük: 0,5 g porított aortára 10 ml 0,5 n NaOH-ot öntöttünk. Egy éjszakán át 4 fokon állni hagytuk, centrifugáltuk. A lúgos extractumot leöntöttük és a műveletet 5 ml 0,5 n NaOH-val megismételtük. Az összegyűjtött felülúszókat 2 n ecetsavval neutralizáltuk. A GAG-okat a következő összetételű oldattal csapattuk ki: 10 ml cc ecetsav, 1 g nátrium-acetát 100 ml alkoholban oldva. A csapadékot centrifugáltuk, majd 96 %-os alkoholban négyszer átmostuk. Az így nyert GAG masszát 37 fokos thermostatban száritottuk, majd dörzsmózsárban porítottuk.

A porított GAG-keverékből fiziológiás NaCl-dal szuszpenzió-sorozatot készítettünk, - 10 mg/ml, 5 mg/ml, 1 mg/ml, 0,1 mg/ml, 0,01 mg/ml - melynek anticoagulans effektusa alapján görbét szerkesztettünk. A görbe felszálló ágához húzott érintő felezőpontjának megfelelően /inflexiós pont/ választottuk ki azt a standard GAG-szuszpénzió értéket - 2 mg/ml, - mellyel a továbbiakban a vizsgálatokat végeztük.

A különböző sclerosis-fokot mutató aortákból izolált GAG-ok 2 mg/ml-es szuszpenziójából 0,1 ml-t adtunk az alvadási rendszerhez. A véralvadási vizsgálatokhoz palackozott humánvér plazmáját használtuk. A kontroll meghatározások során GAG oldat helyett 0,1 ml fiz.NaCl oldatot használtunk. A thrombin-inaktiválás sebességének meghatározásakor az alvadási rend-

szerhez serum helyett GAG-szuszpenziót adtunk.

Mértük a recalcifikált plasma alvadás-idejét /mp/ szálhúzásos módszerrel, a prothrombin-szintet /Quick szerint/, thrombinos alvasztási időt /mp/ - Horn és mtsai szerint, thrombin időt toluidinkék jelenlétében /mp/ - Horn és mtsai szerint, thrombin-inaktiválás sebességét "k" sebességi állandóval kifejezve - Gerendás szerint /16/.

Eredmények

A recalcifikált plasma alvadási ideje az aorta GAG-jainak hatására az érelmeszesedés előrehaladtával egyre inkább megnyúlt, míg a végső stádiumban csökkent.

A kifejtett hatás nagysága alapján a legnagyobb mértékben az adventitia hasi szakaszának GAG-kivonata nyújtja meg az alvadási időt. Ezután következik az intima-media mellkasi, az adventitia mellkasi, és az intima-media hasi szakasza /1. ábra/.

A prothrombin-index értékei a recalcifikált plasma alvadásidő görbéjének mintegy tükörszimmetriáját mutatják. Az arteriosclerosis súlyosbodásával a prothrombin-index először csökken, majd növekszik. Mivel itt a kapott értékek keresztezik egymást, pontos sorrendet a változás mértékével kapcsolatban a négy érfal-rész között felállítani nem lehet. Az mégis megfigyelhető, hogy a csökkenés mértéke a két adventitia-szakaszban a legkifejezettebb /2. ábra/.

Érdekes, hogy a thrombin-idő az aorta-károsodás előrehaladtával egyre növekszik, mely a III. súlyossági stádiumban is tovább folytatódik, annak ellenére, hogy ezen sclerosis-fokban a recalcifikált plasma alvadás-ideje - amelyben az alvadási tényezők összessége jut kifejezésre - már csökkenő tendenciát mutat a maximumhoz képest.

Az arteriosclerosis előrehaladtával a legszembetűnőbb változást az adventitia hasi szakasza mutatta. Az adventitia mellkasi régiójában is jelentős változást figyelhattunk meg, míg az intima-media változásai az adventitiához képest jelentéktelenebbek /3. ábra/.

A toluidinkék jelenlétében mért thrombinos alvadási idő /toluidinkék-idő/ az arteriosclerosis súlyosbodásával megnyúlik, majd a III. fokban kissé csökken. A toluidinkék-idő növekedése az arteriosclerosis kifejlődésével nem heparin természetű, anticoagulans tulajdonsággal rendelkező GAG képződésére utal.

A toluidin-kék idő változása a thrombin-időhöz képest a négy aorta részben eltérően alakul. Az adventitia szakaszok toluidin-kék ideje kevésbé nő az intima-media komplex thoracalis és abdominalis részéhez képest. A legkisebb változás az adventitia hasi szakaszában észlelhető. /4. ábra/

A thrombin-idő és a toluidinkék-idő különbsége – mely a heparinszerű GAG frakció mennyiségére enged következtetni – az aorta adventitiájában, elsősorban a hasi szakaszban a legnagyobb.

A thrombin-inaktiválás sebessége, mely a heparin mennyiségére ad tájékoztatást, az érrelmeszesedés kifejlődésével először nő, majd csökken. A sebességi constans /"k"/ maximális értéke a négy érfal-szakaszban lényeges eltérést nem mutat. A különbség abban mutatkozik, hogy a maximumok a négy régióban nem ugyanazon sclerosis-fokban jelentkeznek. Az intima-media komplex "k" értéke mind a thoracalis, mind pedig az abdominalis régióban az I. sclerosis-fokban éri el a maximumot, majd csökken. Az adventitia abdominalis részében a sebességi constans értéke szintén az I. stadiumban éri el a csúcsot, míg a thoracalis részben ez a II. stádiumban következik be /5. ábra/.

Megbeszélés

Lusztig 1966-ban vizsgálat tárgyává tette az emberi aorta GAG-jainak anticoagulációs hatását /21/. Ennek kapcsán az érfal – intima-media – GAG-jainak a thrombin-időre, toluidinkék-időre, prothrombin-aktivitásra és a recalcifikálási időre kifejtett hatását vizsgálta. Megállapította, hogy az anticoagulans hatás nem egyetlen GAG frakció tulajdonsága, hanem a heparinon és heparitinen kívül alvadásgátló hatása van a chondroitin-szulfátnak, s valószínűleg a hyaluronsavnak is.

Erre a toluidinkék-idő változásainak elemzése utal. Ugy látszik az előbbi komponensek alvadásgátló hatását a toluidinkék nem függeszti fel. Megállapította, hogy a GAG komplex alvadásgátló hatása nem azonos az izolált frakciók anticoaguláns effektusával. Az érfal GAG-jainak nagy mennyisége gátolja a recalcifikált plasma és a prothrombinos rendszer /Quick/ alvadását. Ugyanakkor a különböző koncentrációjú GAG oldatok különbözőképpen befolyásolják az egyes alvadási factorok aktivitását. Az a tény, hogy egészséges, hyperthyreotikus és arteriosclerosisban szenvedők aortájának GAG-jai – még azonos frakció-összetétel esetén is – eltérő anticoaguláns hatást mutattak, amellet látszik szólani, hogy különböző kórképekben megváltozik a GAG-ok polimerizáltsági foka. Valószínűleg összefüggés van a GAG frakciók polimerizáltsága és anticoaguláns hatása között /20/.

Tanaka /43/ a coagulatiós factorok szerepét vizsgálta az arteriosclerosis genesisében. Azt találta, hogy az intima thromboplastikus aktivitása kifejezett, a mediájé és az adventitiájé viszont alacsony. Ugyanakkor az adventitia fibrinolytikus aktivitása fokozottabb, mint az intima-mediáé. A szerző megjegyzi, hogy nagy egyéni variációk lehetségesek, sőt ugyanazon egyén különböző régióiból eltávolított artériák is változó fibrinolytikus aktivitással rendelkezhetnek. A változást jól demonstrálja, hogy a muscularis típusú carotis interna intima-mediájából készített homogenisatumnak a fibrinolytikus aktivitása magasabb, mint az elasztikus típusú arteria carotis communisnak.

Figyelemre méltó Schimpf /36/ megállapítása, mely szerint az érfal alvadást gátló, vagy fokozó hatását a kísérleti feltételek szabják meg.

A legtöbb kutató emberi atherosclerosisban azt találta, hogy az érfal thromboplastikus aktivitása csökken. /1, 13, 14, 15, 22/ Ellentétes megfigyelések is akadnak /39, 40/. Marhák aortájában életkortól függően a thromboplastikus factor tartalmának csökkenését találták /24/. Más szervekben is találtak hasonló, életkortól függő elváltozást, így nyulak agyában,

periosteumban, csontvelőben, inhuvelyben, szalagokban /10/.
Lusztig a vérben experimentalis atherosclerosisban heparin-
szerű anyagok koncentrációjának emelkedését észlelte /25/.
Joggal tételezhetjük fel, hogy hasonló anyagok nemcsak a plas-
mában, hanem az érfalban is felszaporodnak /21/. Nikitin és
Oberina /33/ kimutatták, hogy öregedéssel, valamint atheros-
clerosisban a GAG-ok felszaporodnak.

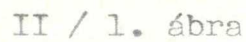
Deutschinoff és Popwassilem /14/ 1965-ben az atheroscle-
rotikus érfal alvadásgátló aktivitását vizsgálva kimutatták,
hogy az érlemeszesedés súlyosságával párhuzamosan fokozódik
az anticoagulans hatás. Az atherosclerotikus érfal-extractum
erősen megnyújtotta a recalcifikálási, a heparin-tolerantia
teszt, s a protaminszulfát teszt alvadási idejét.

Az érfal coagulációs rendszere még nem teljesen tisztá-
zott. Nyilvánvaló, a hatás több komponensből tevődik össze.
Miután a GAG-ok véralvadásra kifejtett hatása nem egyetlen
frakció tulajdonságán alapul, célravezetőbbnek tartottuk az
össz-GAG coagulációs effektusának vizsgálatát, különös tekin-
tettel az érfali localisatióra, s az atherosclerosis súlyos-
sági fokára.

Ennek kapcsán a következő megállapításokat tettük:

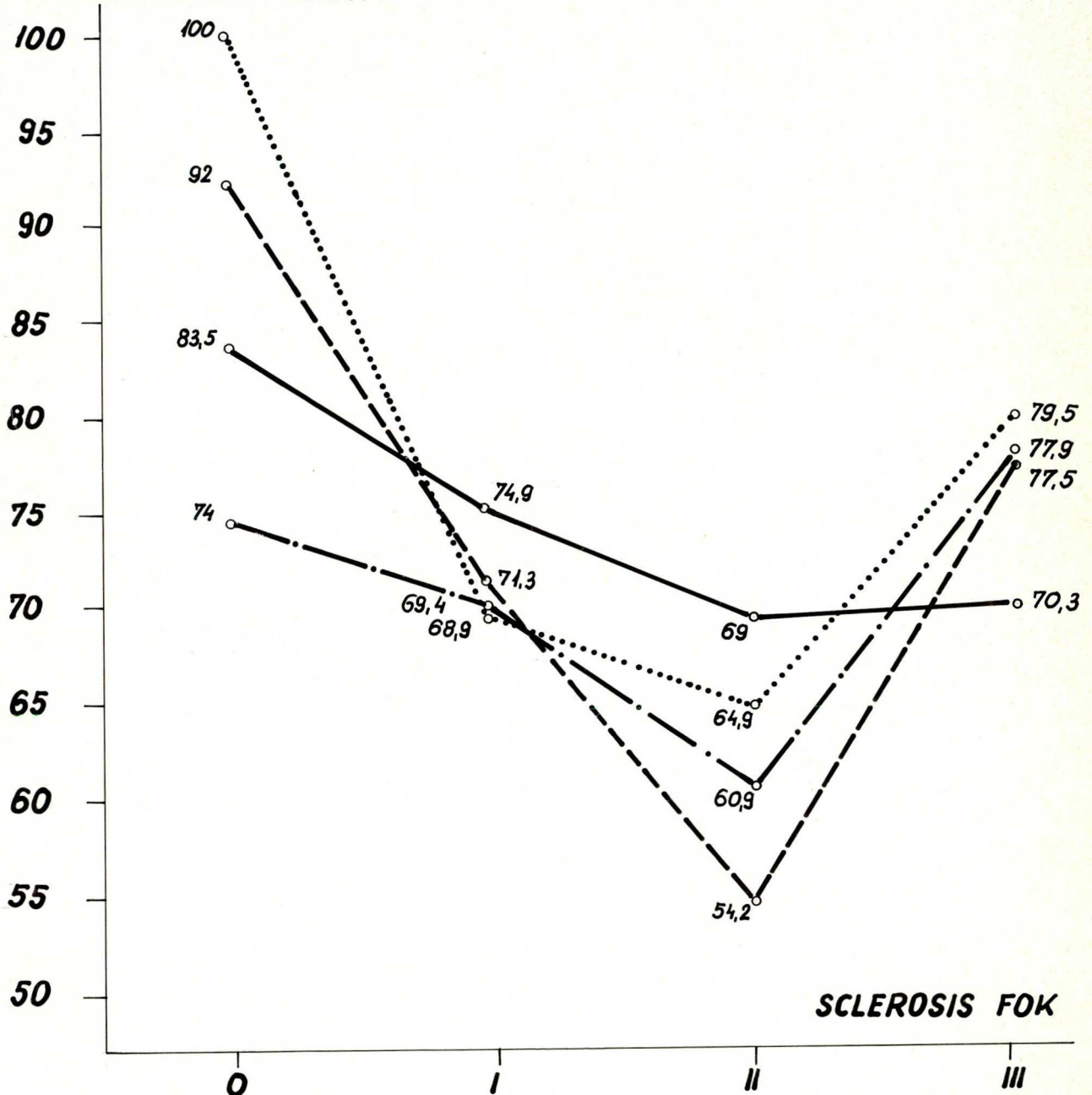
1. Az atherosclerosis előrehaladtával az érfali GAG-ok vér-
alvadásgátló effektusa először növekszik, majd a végső
stádiumban csökken.
2. A thrombin-idő /a különböző meszeségi fokot mutató aortá-
ból kivont GAG-ok hatására/ a sclerosis súlyosságával egyre
nő, mely tendencia a legsúlyosabb sclerosis fokban is ki-
mutatható. Ezzel szemben egyéb véralvadási tényezők reakció-
ideje a meszesedés súlyosságával csökken. Ebből 2 követke-
zetést vonhatunk le: a/ A különböző véralvadási tényezőkre
egyazon összetételű GAG-kivonat különbözőképpen hat. b/ Ha
a thrombin-idő megnyúlását összehasonlítjuk a recalcifikált
plasma alvadás-idejének alakulásával /ez utóbbi az alvadá-
si tényezők összességét fejezi ki/, akkor feltételezhetjük,
hogy az előbbi coagulációs tulajdonsággal rendelkező GAG-
ok hatása fedí el.

3. A thrombin idő és a toluidinkék-idő közötti különbség nagyobb, mint amennyi a kontroll és a GAG-ok jelenlétében mért toluidinkék-idő között van. Ezért úgy látszik, hogy az atherosclerosis kifejlődésével keletkező GAG-ok egy részét heparinszerű anyag teszi ki, amely az adventitiában nagyobb mennyiségben képződik, mint az intima-mediában.
4. Érelmeszesedés folyamán bizonyos mennyiségben nem heparin-természetű GAG-ok is keletkeznek, melyek az intima-mediában nagyobb mennyiségben vannak jelen, mint az adventitiában.
5. Az adventitia mellkasi szakaszában a "k" sebességi állandó csak az atherosclerosis II. stádiumában éri el a maximumot, míg a többi három érfalrészben ez már az atherosclerosis kezdetén bekövetkezik.
6. Az atherosclerosis progressiója során, mikor már a plaque-képződés megindul, az adventitia szerepe az érfal védekező reakciójában mind kifejezettebbé válik, mely az ottani GAG-ok véralvadásra kifejtett hatásban is érvényre jut.



A recalcificált plazma alvadásiidejének alakulása különböző sclerosis fokot mutató aortából kivont mucopolysaccharidok hatására

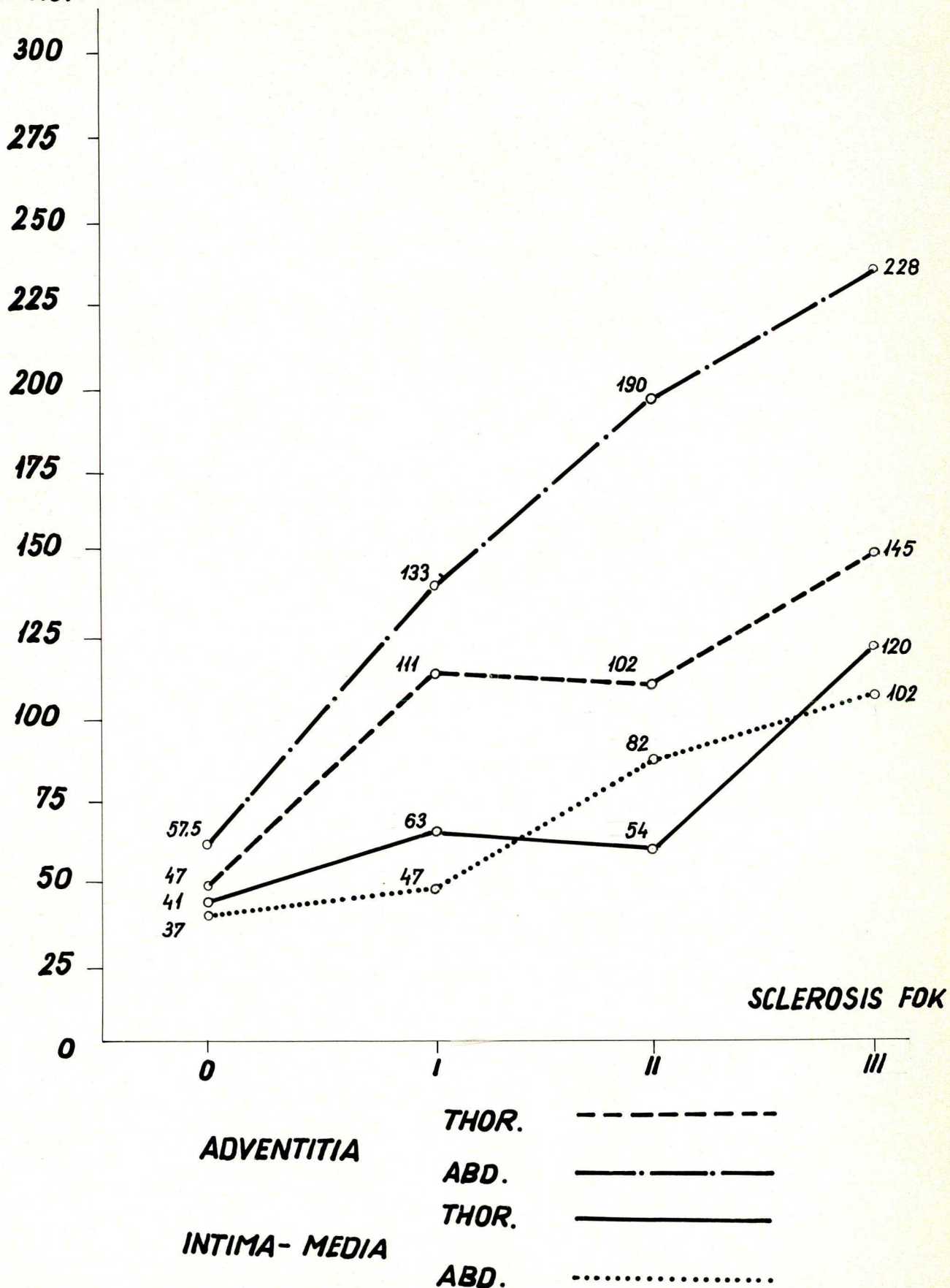
PROTHROMBIN-INDEX



ADVENTITIA	THOR.	---
	ABD.	-.-.-
INTIMA - MEDIA	THOR.	—
	ABD.	

II / 2. ábra

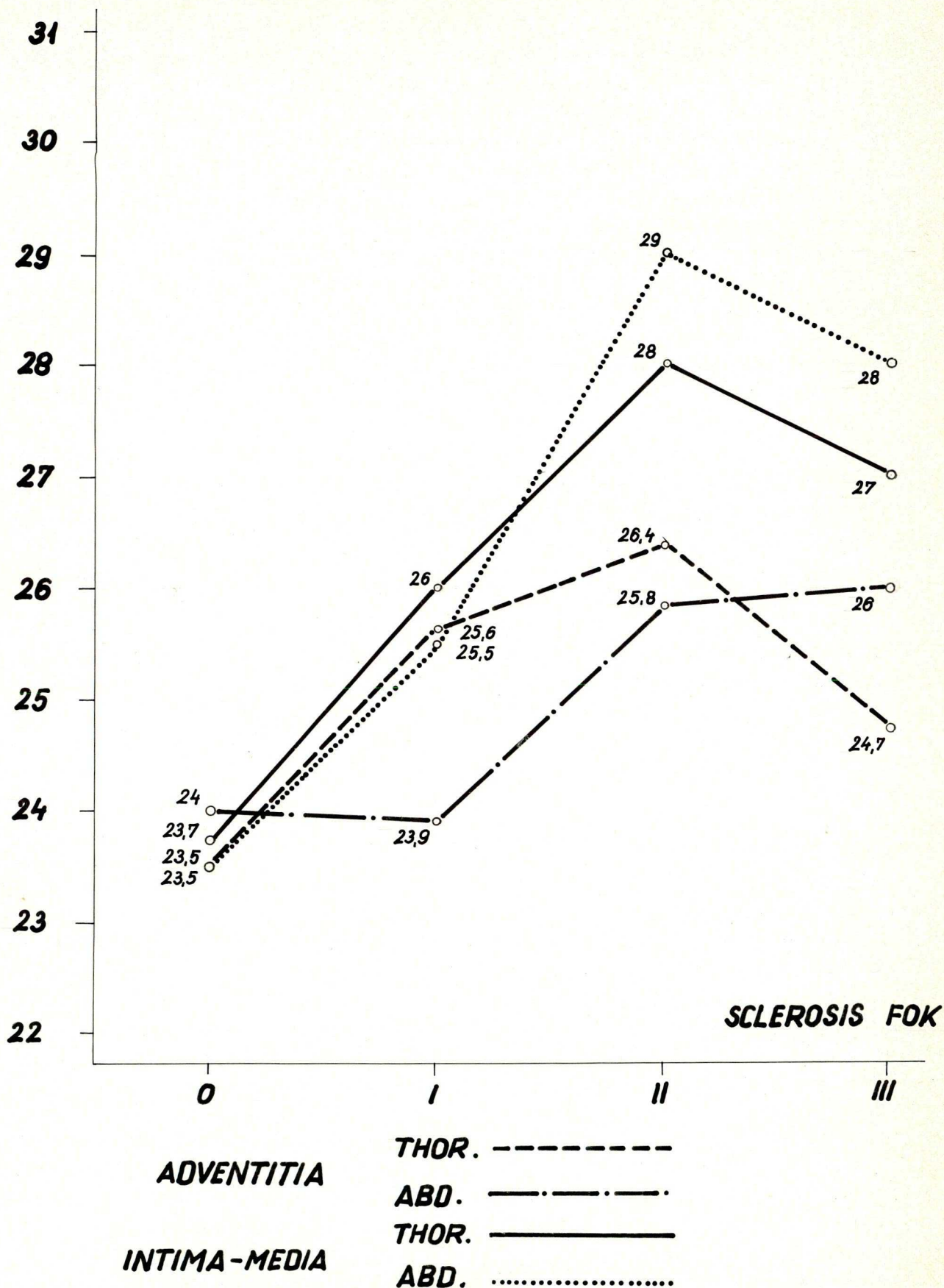
Aortális mucopolysaccharidák hatása a prothrombin-indexre,
az érlemezés függvényében



II / 3. ábra

A scleroticus érfal mucopolysaccharidjeinek hatása a thrombin-időre, az érlemezés függvényében

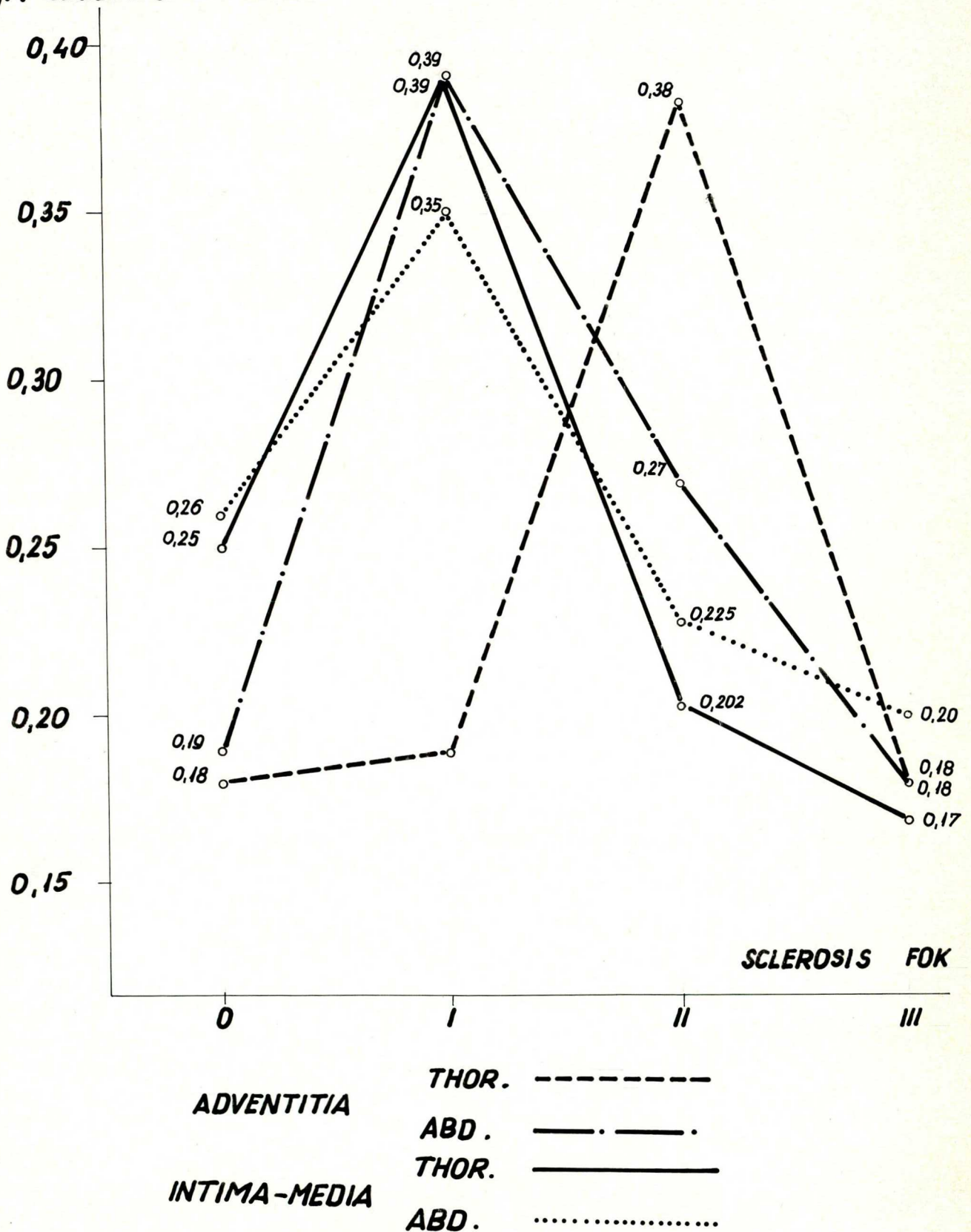




II / 4. ábra

A scleroticus érfal mucopolysaccharidáinak hatása a toluidin-kék időre, az érlelmeszesedés függvényében

„K” SEBESSÉGI ÁLLANDÓ



II / 5. ábra

A scleroticus érfal mucopolysaccharidáinak hatása a thrombin-inaktiválás sebességére, az érlemeszesedés függvényében

III. SERUM-BÉTA-LIPOPROTEIDEK ÉS AORTÁLIS GAG-OK KÖZÖTTI
KOMPLEXKÉPZŐDÉS VIZSGÁLATA AZ ÉRELMESZESEDÉS
FÜGGVÉNYÉBEN

Bernfeld és munkatársainak /3/ vizsgálatai óta vált ismeretessé, hogy polianionok és béta-lipoproteidek között kétértékű kationok jelenlétében komplexképződés jön létre.

Ezen észlelés elvi alapjaiból kiindulva, GAG-okkal, mint polianionokkal, többen végeztek ilyen jellegű vizsgálatokat. Így Burstein /9/ emberi savó β -LP-tartalma és a heparinnal való komplexképződés mértéke között összefüggést talált. Gerő, Bihari-Varga és munkatársai /11, 12, 6/, majd később Amenta és Waters /1/ emberi aortából praeparált GAG-keverék és serum- β -LP között ilyen specifikus komplex keletkezését igazolták.

Általánosan elfogadottá vált, hogy ezen komplexnek tekintélyes szerep jut az atherosclerotikus plaque-ok kialakításában.

A szerzők különbözőképp vélekednek, hogy a komplexképzésben az aorta GAG-jai közül mely komponensek vesznek részt. Bihari-Varga és munkatársai /5/ az intimális GAG-frakciók közül a heparitinsulphatot találták a β -LP-kötő komponensnek. Hyaluronsavval és chondroitinsulphattal komplexképződést nem észleltek. Bernfeld /4/ úgy találta, hogy a chondroitinsulphat nem kötődik a β -LP-hez. Berenson /2/ electrophoretikus vizsgálatai szerint /2/ a frakciók közül komplexképződés szempontjából a hyaluronsav és a heparitinsulphat jöhet számításba. Srinivasan és munkatársai /16/ a különféle GAG-ok közül a heparint találták a leghatásosabb komplexképzőnek. Jelen pillanatban általánosan elfogadott, hogy a szöveti GAG-ok közül a heparinoid frakció /heparin-heparitin/ jöhet leginkább számításba, a serum- β -LP-vel való komplexképzés tekintetében. Ezt mi sem bizonyítja jobban, mint hogy serumból a β -LP kinyerése heparinnal igen bevált praeparatív eljárásnak bizonyult.

Azonban a komplexképzés szempontjából nemcsak a GAG frakciók kémiai kvalitása, hanem ezen belül a frakció fizikai-kémiai sajátosságai /mólsúly, polimeritási fok, ion-eloszlás,

hidratáció, stb./ is jelentősen befolyásolhatja a GAG- β -LP komplex képződését.

Az atherosclerosis pathogenesisise során a már kialakult β -LP-Me⁺⁺-GAG komplex kötése erősségét nem lehet figyelmen kívül hagyni, mivel ezen komplex spontán bomlása vagy enzimatis lebontása is beleszólhat a végső kép kialakításába, bár e jelenségekre vonatkozó irodalmi adatot nem találtunk.

Mivel az érelmeszesedés kialakulásában a β -LP-Me⁺⁺-GAG komplex vezető szerepe vitathatatlan, érdemesnek találtuk megvizsgálni, vajon a laesio progressiójával a komplexképződésre hajlamos frakció hogyan változik a két érfalrétegben, külön az adventitiában, külön az intima-media komplexben.

Miután a szupramolekuláris komplex képződésében a fent vázoltak szerint igen sok tényező játszik közre, azonkívül keletkezésének és esetleges bomlásának, illetve bontásának mechanizmusát sem ismerjük még kielégítően, így méréseinkből messzemenő következtetések nem vonhatók le, de adatokat szolgáltatnak arra nézve, hogy a sclerotikus változások progressiójával hogyan alakul az összkép az aortában.

Anyag és módszerek

GAG-ok kivonása aortából

Összesen ötven, 17-80 év közötti egyén aortáját dolgoztuk fel. A vizsgálati anyagot az I. fejezetben leírt módon osztályoztuk. A kísérlet folyamán külön vizsgáltuk az adventitiát és az intima-media komplexet.

A GAG-ok kivonása a II. fejezetben leírtak szerint történt.

β -LP-ek nyérése serumból

Vizsgálatunkhoz a béta-lipoproteidet gyűjtött humán serumból nyertük, melynek kicsapását Burstein /10/ módszerével végeztük /500 ml serum+20 ml 5 %-os heparin+25 ml 1 molos mangánklorid/. A csapadékot 15 percig 6000 g-vel centrifugáltuk. A felülúszó elöntése után az 500 ml serumból nyert csapadékot

5 ml 1 molos nátriumkloridban oldottuk. A β -LP-t a heparintól és egyéb szennyező molekuláktól saját módszerünkkel választottuk el gél-chromatographiával. E célra Sephadex G-100-at használtunk, Duzzasztott állapotban 30 ml géltre 3 ml oldatot vittünk fel. Az oszlopról lefolyt β -LP-nek a heparintól való elválását 1 molos MnCl_2 hozzácseppentésével, óraüvegen ellenőriztük. Az összegyűjtött β -LP-oldatot Sephadex G-25-tel 0,7-es extinkciójúra töményítettük. A bacteriumok oldatunkban való elszaporodását 0,01 %-os nátrium-azid hozzáadásával akadályoztuk meg. A továbbiakban az összes mérést ezzel a molárisan standard koncentrációjú, 0,7-es extinkciójú β -LP-oldattal végeztük.

A kísérlet kivitelezése

Az aortából nyert GAG-porból pH 8-ra állított desztillált vízzel 10 mg/ml-es koncentrációjú oldatot készítettünk, melyet üvegszűrőn szűrtünk.

A GAG-béta-lipoproteid közötti komplex képződését Amenta és Waters /1/ turbidimetriás módszerével vizsgáltuk. Az elegy összetétele a következő volt: 0,2 ml 0,7-es extinkciójú β -LP-oldat, 4,8 ml 0,2 %-os pH 7,4-es CaCl_2 és 0,4 ml 1 %-os GAG-oldat. A vak-próba összetétele a fentiekől abban különbözött, hogy 4,8 ml CaCl_2 helyett 4,8 ml desztillált vizet tartalmazott.

A zavaros rendszer extinkcióját "Spektronom 400" fotométerben mértük, 650-740 nm-es tartományban, nyolc perccel a GAG-oldat hozzáadásának pillanatától számítva /ezen reakcióidőt az előzetesen mért extinkció-értékek időbeni változása alapján állapítottuk meg/.

Eredmények

A sclerosis-fok előrehaladtával az érfalból kivont GAG-oknak a β -LP-vel való komplexképződése az intima-media és az adventitia átlagértékét tekintve, a következőképp alakult: A sclerosis-mentes aortából nyert egységnyi mennyiségű GAG se-

rum- β -LP oldattal, CaCl_2 jelenlétében 0,665-ös extinkcióértéket adott. A turbiditas I-es sclerosis-foknál 0,687-re, II-es sclerosis-foknál pedig 0,768-ra emelkedett, majd súlyos stádiumban 0,673-ra esett vissza. Megállapíthatjuk tehát, hogy a sclerosis-fok előrehaladtával az érfalból kivont GAG-oknak a β -LP-vel való komplexképződés mértéke közepes sclerosis-fokig nő, majd súlyos sclerosis-fokban – az adventitia és az intima-media átlagértékét tekintve – megközelítőleg a nulla sclerosis-fokban mért értékre esik vissza, mely az adventitia estén valamivel magasabb, az intima-mediánál pedig alacsonyabb a sclerosis-mentes aorta ezen értékeinél. A különbségek 0-II, valamint II-III súlyossági stádiumok között szignifikánsak $/P < 0,01/$.

A két érfalréteg /adventitia, intima-media/ GAG-jainak β -LP-vel való reagálás utáni turbiditás értéke 0. stádiumban az adventitiánál 0,675, az intima-mediánál 0,655. Egyes sclerosis-fokban az adventitiánál 0,750, az intima-mediánál 0,665 zavarossági értéket kaptunk. Középsúlyos stádiumban az adventitiánál 0,786-ra, az intima-mediánál 0,752-re emelkedik az extinkcióérték. A legsúlyosabb sclerosis-fokban az adventitia turbiditási értéke 0,700-ra, az intima-mediáé pedig 0,645-re esik vissza. A súly szerint egységnyi mennyiségű GAG komplexkötő hajlamát tehát minden sclerosis-fokban magasabbnak találtuk az adventitiában, mint az intima-mediában.

A két érfalréteg értékei közötti különbség I. és III. sclerosis-fokban szignifikáns $/P < 0,01/$ /1. ábra/.

Megbeszélés

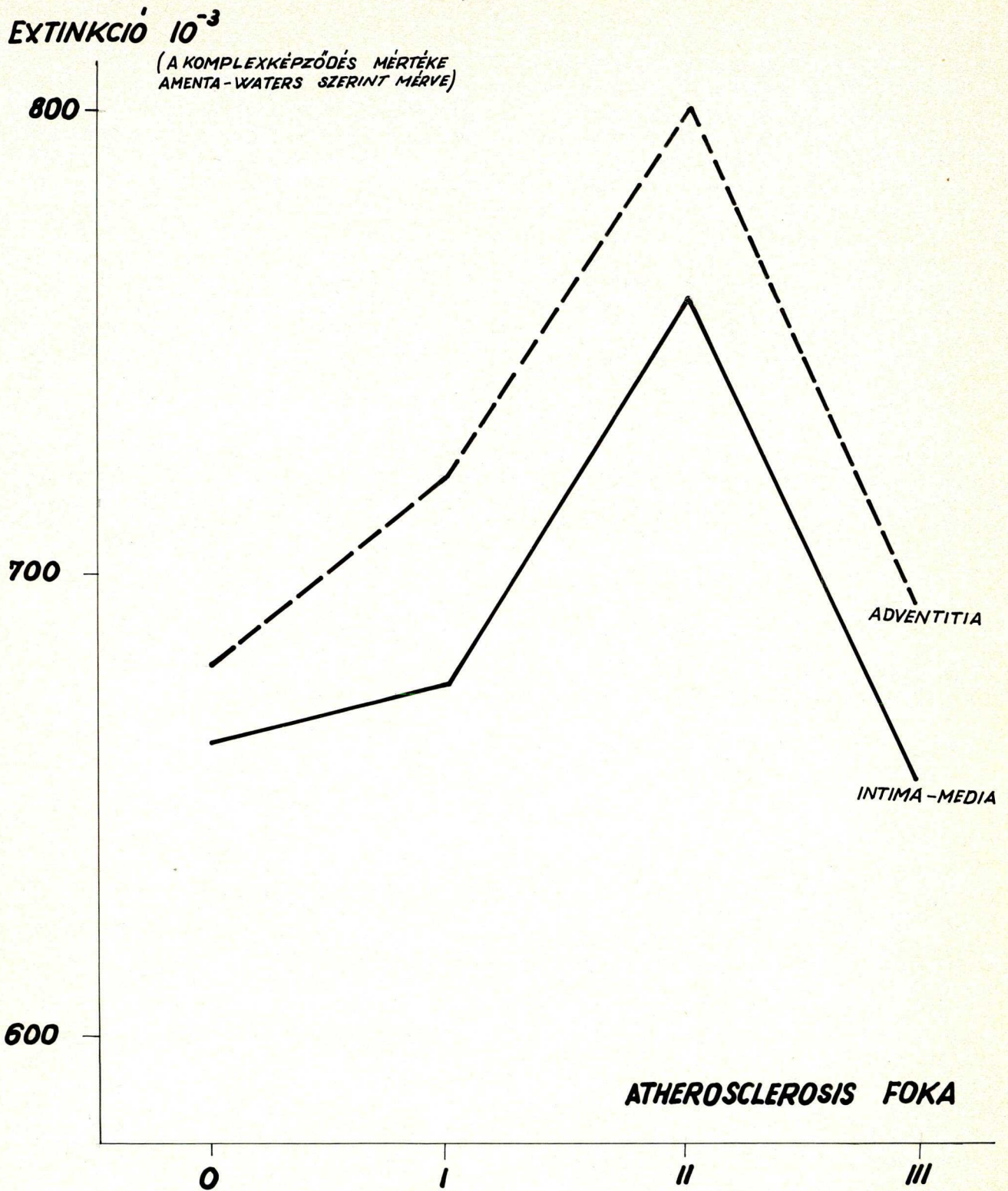
Általánosan elfogadott, hogy a szöveti GAG-ok közül a heparinoidok /heparin-heparitin/ komplexet képeznek a sérumbéta-lipoproteidjével. Kísérletünk alapján úgy találtuk, hogy:

1. Az arteriosclerosis előrehaladtával az érfalból kinyert, súly szerint egyenlő mennyiségű GAG-ok komplexkötő képessége középsúlyos stádiumig nő, majd a legsúlyosabb sclerosis-fokban lecsökken. Ez tehát azt jelentené, hogy a heparinoidok moláris mennyisége a meszesedés előrehaladtával II. fokú sclerosisig nő, majd csökken. Lusztig és munkatársai /13/

előző kísérleteik alapján azt találták, hogy a heparin-heparitin mennyisége az életkor előrehaladtával mind az intima-mediában, mind pedig az adventitiában először nő, majd csökkenést mutat. Az aorta intima-mediájának heparin-heparitin tartalmában ugyancsak változást találtak atherosclerosis folyamán, habár az érlemeszesedés előrehaladtával növekvő, majd végső soron csökkenő tendenciát csak férfiaknál sikerült kimutatniuk. Az adventitiában növekvő, majd csökkenő tendenciát szintén észleltek. Más kísérletekben szignifikánsnak találták az adventitia mast-sejtjeinek számbeli változását, mely 0-II sclerosis-fokig szignifikánsan nő, majd III. stádiumban szignifikáns csökkenést mutat. Ez az észlelés az adventitiában létrejövő heparinoid mennyiség emelkedését, majd csökkenését igazolja /14/, bár meg kell jegyezni, hogy a heparinocyták heparinoidokon kívül még sok más anyagot is termelnek.

2. Méréseink alapján megállapítást nyert, hogy a súly szerint egyenlő koncentrációjú GAG-oldatok közül az adventitia GAG-jai nagyobb mértékben képeznek komplexet a serum-betalipoproteiddel, mint az intima-mediáé. Tehát ez azt jelenti, hogy a súly szerint azonos mennyiségű GAG-kivonat molárisan több heparint tartalmaz az adventitiában, mint az intima-media komplexben /ez persze nem jelenti azt, hogy az adventitia abszolút értékben is több heparinoidot tartalmaz, az intima-mediához képest/.

Ezt látszik alátámasztani előző, véralvadásos kísérletünk /15/, melyben a toluidinkék-idő és a thrombin-idő különbsége — mely Gerendás szerint a heparinszerű anyag mennyiségére enged következtetni — az aorta adventitiájának GAG-jai jelenlétében minden sclerosis-fokban nagyobbak bizonyult, mint amekkora különbséget az intima-media súly szerint azonos mennyiségű GAG-jainak jelenlétében kaptunk.



III / 1. ábra

Az aortafal rétegeiből izolált mucopolysaccharidák
komplexxötő hajlama az érlemeszesedés függvényében

IV. EMBERI AORTA GAG-JAINAK VISZKOZITÁS-VÁLTOZÁSA ÉRELMESZESÉSBEN

Az arteriosclerosis pathogenesisének egyik központi kérdése, hogy az érfalban felszaporodó GAG-ok az érlemeszesedés progressiójával milyen változáson mennek keresztül. Ezen makromolekulák fiziko-kémiai változásai, az egyes frakciók aránya és polimerizáltsági foka Gerő és munkatársai /4/ szerint jelentősen befolyásolhatják az egyéb makromolekulákkal /béta-lipoproteinek/ való komplexképzési hajlamot, valamint az atheromás plau-ok keletkezését.

Banga /1/ a GAG-ok által előidézett, mesenchymalis állapotban bekövetkezett változásoknak, így a viszkozitás-változásnak is jelentőséget tulajdonít az érlemeszesedés kialakulásában.

A GAG-ok viszkozimetriás vizsgálata – egyéb fiziko-kémiai vizsgálattal kombinálva – rávilágít a molekulák alakjában és polimeritás-fokában bekövetkezett változásokra. E tulajdonságok viszont jelentősen befolyásolják az egyéb molekulákkal való komplexképzési hajlamot, s ezen jellemzők ismeretében /alak és nagyság/ következtethetünk a hidratációs viszonyokra is.

Mivel az aorta GAG-jainak érlemeszesedés kapcsán bekövetkezett viszkozitás-változásáról irodalmi adatokat nem találtunk, úgy gondoltuk, hogy megvizsgáljuk az egyes rétegekből /intima-media, adventitia/ izolált GAG-ok viszkozitás-változását érlemeszesedésben mind a mellkasi, mind a hasi aortaszakaszban.

Anyag és módszerek

Összesen ötven 16-84 év közötti egyén aortájának GAG-kivonatát vizsgáltuk. A vizsgálati anyagot az I. fejezetben leírtak szerint osztályoztuk.

A kísérlet folyamán mind az intima-media komplexnek, mind pedig az adventitiának thoracalis és abdominalis szakaszát külön vizsgáltuk.

A GAG-ok kivonása a II. fejezetben leírt módszerrel történt.

A GAG-porból 0,2 n NaOH-val koncentráció sorozatot készítettünk. A GAG-port a maximális hidratálódás érdekében mérés előtt 24 órával feloldottuk, s felhasználásig 4 C°-on tartottuk.

A vizsgálatot módosított Ostwald-féle viszkoziméterben, 37 C°-on végeztük. A hőmérséklet állandóságát ultratermosztáttal biztosítottuk. A mérések alapján a koncentráció sorozatból az 1 %-os GAG-oldatot választottuk a belső viszkozitás meghatározására. A makromolekulák tulajdonságaira jellemző belső viszkozitást a következő képlet alapján számoltuk:

$$(\eta) = \left(\frac{\eta_{rel} - 1}{c} \right) dl/g$$

ahol "c" a GAG koncentrációja vegyesszázalékban /oldószer = 0,2 n NaOH/.

η_{rel} = az 1 %-os GAG-oldat és a 0,2 n NaOH-oldat átfolyás-idejének hányadosa.

Eredmények

1. Az azonos érszakaszból és rétegből származó GAG-ok viszkozitás-változása az atherosclerosis progressiójával:

Az aortafal mindkét rétegében és szakaszában a GAG-ok viszkozitása az érrelmeszesedés középsúlyos stádiumáig növekszik. Súlyos atherosclerosisban mind az intima-media, mind az adventitia GAG-jainak viszkozitása a thoracalis és abdominalis szakaszban egyaránt jelentősen csökken, mely értékek alacsonyabbak, mint a sclerosis-mentes aorta GAG-jainak viszkozitása.

Az intima-media abdominalis szakaszát kivéve, az atherosclerosis 0-II. és II-III. stádiuma között a GAG-ok viszkozitás-változása kifejezett szignifikanciát mutatott / $p < 0,01$ /. Az intima-mediában a GAG-ok viszkozitása az érrelmeszesedés 0-II. stádiumában ugyancsak szignifikánsan

nőtt, ha az aorta mellkasi és hasi szakasza között különbséget nem tettünk.

Mindezek alapján megállapíthatjuk, hogy érelmeszesedés során az aorta mindkét szakaszában, valamint az intima-mediában és az adventitiában a GAG-ok viszkozitása jelentősen megváltozik.

2. Az intima-media és az adventitia viszkozitás-értékeinek összehasonlítása ugyanazon aorta-szakaszban azonos sclerosis-fok mellett:

Az adventitiában a GAG-ok viszkozitása valamennyi atherosclerosis-fokban meghaladja az intima-media komplexből izolált GAG-ok viszkozitás-értékét. A mellkasi aortában minden sclerosis-fok mellett szignifikáns a különbség $/p < 0,01/$ az intima-media és adventitia között, míg az abdominális szakaszban ez a különbség súlyos atherosclerosisban megszűnik.

Eredményeink egyértelműen igazolják, hogy lényeges különbség van az intima-media és az adventitia GAG-jainak viszkozitása között, mely különbség az aorta mellkasi szakaszában kifejezettebb.

3. Az abdominális és thoracalis localisatio szerepe az intima-media és adventitia GAG-jainak viszkozitálásában:

Csupán némi különbség volt kimutatható a mellkasi és hasi aorta GAG-jainak viszkozitása között. Ez elsősorban az intima-mediában dominált, ahol az enyhe és közép súlyos atherosclerosisban a mellkasi aortában a viszkozitás-értékek szignifikánsan magasabbak voltak.

Az adventitiában kizárólag súlyos atherosclerosisban, a mellkasi szakaszban volt a GAG-ok viszkozitása lényegesen nagyobb /ábra, táblázat/.

Mindezek arra utalnak, hogy a mellkasi és a hasi elhelyezkedésnek is van szerepe a GAG-ok viszkozitálásában, melynek jelentősége azonban nem látszik annyira dominálónak, mint annak, hogy a GAG-ok az intima-mediában vagy az adventitiában helyezkednek el.

Megbeszélés

Az aortafal össz-GAG-jaiban bekövetkezett viszkozitás-változás létrejöhet:

1. Polymeritásfok változása által

a/ általános polymeritásfok változása révén,

b/ valamelyik extrem méretű frakció felszaporodásával.

/Legnagyobb molekulasúlyú GAG frakció a hyaluronsav, a legkisebb GAG-molekula pedig a heparin./

2. A molekulák alakváltozásával.

/Igaz ugyan, hogy azonos mólsúly mellett az azonos kémiai jellegű molekulák alakja főleg a közeg kvalitásának függvénye, azonban elképzelhető, hogy a poláris csoportokban – szulfát, karboxil – létrejött változás, valamint a lánc-elágazásokban bekövetkezett módosulás miatt ugyanazon médiumban a makromolekulák különböző alakot vesznek fel.

Mivel eredményeink ezen tényezőkből adódnak, így kísérleteink alapján nem tudjuk pontosan megmondani, hogy a viszkozitásértékek változását mennyiben okozta a molekulák alakjában és mennyiben a polymeritási fokban bekövetkezett változás. Ha megvizsgálnánk a GAG-oknak atherosclerosis folytán bekövetkezett alak- vagy mólsúlyváltozását, s a mérési eredményeket egybevetnénk a viszkozitás-értékkel, választ kaphatnánk, hogy ez utóbbi mennyiben köszönhető az egyik vagy másik jellemző tulajdonság megváltozásának. Ennek tisztázására még egyéb fiziko-kémiai vizsgálat is szükséges.

Ennek ellenére jelen kísérletünk alapján az aortában uralkodó hidratációs viszonyokra általános következtetéseket vonhatunk le:

Ismeretes, hogy ha az összehasonlítandó molekulák kémiai szempontból azonos jellegűek, a nagyobb molekulasúlyú a kisebbhez képest, valamint a nyújtottabb formájú /pálcika alakú/ molekulák a gömbalakú molekulához képest több vizet tud megkötni. A viszkozitás-értékek pedig – mint tudjuk – nagyobb molekulasúly és nyújtottabb molekulaforma esetén nagyobbak.

Tehát a viszkozitás-értékekből a hidratációs viszonyokra tudunk következtetni.

Mivel irodalmi adatokat csak a GAG-frakciók arányára vonatkozólag találtunk, így mérési eredményeink alátámasztása csupán ennek alapján történt, ami viszont nem zárja ki más tényezők /1/a, 2. pont/ közrejátszását.

A mérések alapján úgy látszik, hogy az adventitia GAG-jai /mivel a nagyobb viszkozitású molekulák hidratáltabbak/ a hidratációs viszonyokat optimálisabban biztosítják, mint az intima-media. Ezt a következtetést látszik alátámasztani Haruki és munkatársainak megfigyelése /5/, mely szerint az adventitiában – mind az ép, mind pedig a sclerotikus intima-mediához viszonyítva – magasabb a hyaluronsav-tartalom. /Ezen komponens felelős leginkább az optimális hidratációs viszonyok fenntartásáért./

Az atherosclerosis progressiója során a közép súlyos stádiumig a viszkozitás-értékek növekedését tapasztaltuk az aortafal rétegeiben. Ez azt jelenti, hogy a sclerosis-fok előrehaladtával egy bizonyos határig a GAG-ok hidratációs készsége növekszik.

Ez összhangban áll Hesz és Lusztig vizsgálataival /6/, melynek során azt tapasztalták, hogy az érfali GAG-ok vízkötő képessége az érrelmeszesedés előrehaladtával nő, tehát az érfalban a subintimalis oedema képződéséért nem az aortafal GAG-jaiban bekövetkezett változás a felelős, viszont kedvező körülményt teremthetnek az érfali GAG-ok és a nagymolekulájú lipoproteidek közötti komplex kialakulásához.

Súlyosabb atherosclerosisban a viszkozitásértékek csökkenését tapasztaltuk. Ez kapcsolatban állhat régebbi eredményeinkkel, miszerint az időskori aorta hyaluronsav-tartalma csekély /7/.

Valószínű azonban, hogy ehhez a viszkozitás csökkenéséhez jelentősen hozzájárul a GAG-ok "öregedése" is, mely kompaktabb gömbforma felvételével jár, és a hidratációs viszonyokat kedvezőtlenül befolyásolja.

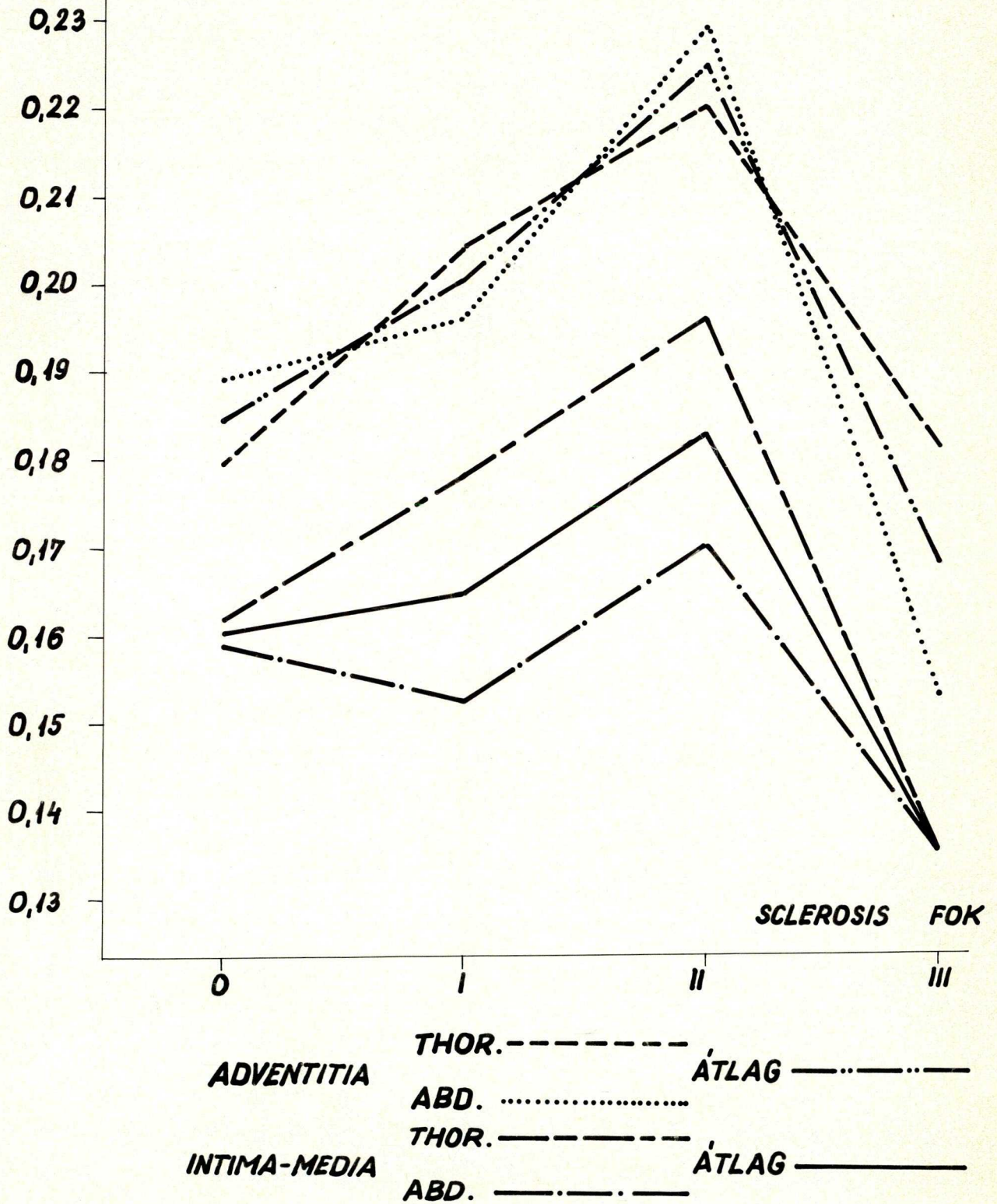
IV/1. táblázat

1. táblázat

Az aorta-fal mucopolysaccharidáinak viszkozitás-változása atherosclerosisban

	Atherosclerosis foka	0.		I.		II.		III.	
	Aorta-szakasz	mellkasi	hasi	mellkasi	hasi	mellkasi	hasi	mellkasi	hasi
Aorta-fal rétegei	Intima-media	0,160 $\pm 0,0025$	0,160 $\pm 0,013$	0,177 $\pm 0,011$	0,151 $\pm 0,001$	0,194 $\pm 0,01$	0,170 $\pm 0,012$	0,126 $\pm 0,001$	0,130 $\pm 0,002$
	$[\eta]$ dl/g	0,160		0,164		0,182		0,128	
	Adventitia	0,180 $\pm 0,023$	0,190 $\pm 0,013$	0,202 $\pm 0,015$	0,196 $\pm 0,035$	0,216 $\pm 0,011$	0,225 $\pm 0,010$	0,176 $\pm 0,005$	0,145 $\pm 0,013$
	$[\eta]$ dl/g	0,185		0,199		0,221		0,160	

**BELSŐ VISZKOZITÁS
[η]**



IV / 1. ábra

Belső viszkozitás és az arteriosclerosis fokának összefüggése
mucopolysaccharid oldatoknál

É R T É K E L É S

Disszertációmban vizsgálat tárgyát képezték az érelmeszesedésben kulcs-szerepet betöltő glucosamino-glikánok.

Bár az eddigi vizsgálatok egyelőre még csak az adatgyűjtés céljait szolgálják, mégis néhány általános érvényű megállapítást lehet tenni ezen eredmények alapján.

Elmondhatjuk, hogy a betegség előrehaladtával az érfali hizósejtek – melyek az aortális GAG-ok termeléséért felelősek – jellegzetes számbeli és térfogatbeli változást szenvednek.

A különböző sclerosis-fokot mutató, különböző érfal-rétegből és szakaszból származó aortadarabokból kivont GAG-ok más-más féleképpen befolyásolják a véralvadási tényezőket, a sérum-béta-lipoproteinekkel való komplexképzést, és más-más fiziko-kémiai tulajdonságot mutatnak.

Ha a szélső értékeket vesszük figyelembe, /0-II. ill. II-III. sclerosis fok/ megállapíthatjuk, hogy a mérési eredmények alakulásában a legnagyobb változásokat a sclerosis idézi elő, míg az érfalrétegek és szakaszok közti különbség /azonos sclerosis-foknál/ jóval kisebb. Ez alól csak a mast-sejtek térfogatának alakulása képez kivételt. Az a tény tehát, hogy a meszesedés kialakulása jobban befolyásolja az értékek alakulását, mint a szöveti különbségek és a localis tényezők, aláhúzza a külső tényezők döntő jelentőségét.

A mast-sejtek számának és térfogatának érelmeszesedés kapcsán való változása felhívja a figyelmet arra, hogy a védekezési reakcióban a sejtek differenciálódási folyamatai is részt vesznek. A vérplazmába kerülő különböző lipoid anyagok elősegítik a hizósejtek képződését. Mivel ezt a folyamatot kémiailag egymástól igen eltérő szerkezetű lipoid-féleségek kiválthatják, feltételezhető, hogy a vérplazma dielektromos állandójának változása, mint nem-specifikus fizikai-kémiai inger hozza létre a mast-sejtek számbeli növekedését.

Feltűnő hasonlóságot mutat a különböző paramétereket ábrázoló görbék alakulása is. Mindegyikről elmondhatjuk /a thrombin-idő kivételével/, hogy maximum-görbét ír le. A grafikonok felszálló szára az adaptációs mechanizmus működésbe-lépését jelzi, míg a leszálló szár a kimerülési fázisnak felel meg.

Az adaptációs mechanizmusra vonatkozó elképzelést jól érzékelteti például a thrombin-inaktiválás sebességének grafikonja. A sebességi konstans a 4 érfali régióban nem ugyanazon sclerosis-fokban éri el a maximumot. Az adventitia thoracalis részén ez az érték csak a II. stádiumban éri el a maximumot, míg a többi régióban a maximum már az I. stádiumban jelentkezik. Ez azzal magyarázható, hogy a 4 érrészlet közül a mellkasi adventitia van a legkevésbé kitéve az atherogén ártalomnak, így a védekező mechanizmus csak később lép működésbe.

Az adaptációs mechanizmusra vonatkozó észlelések jól alátámasztják Lusztig ezirányú elgondolásait.

Meg kell azonban jegyezni, hogy a grafikonok lefutását nemcsak az adaptációs mechanizmus szabja meg. Abba egyéb tényezők is beleszólnak. Így jelentős lehet az érelmeszesedés folyamán a különböző frakciók arányának változása is, mely abból adódik, hogy a különböző GAG-ok komplexképzési hajlama különböző, így a komplexképzésre hajlamosabb molekulák fledúsulnak az érfalban.

Tekintsük például a toluidin-kék idő alakulását, /mely a nem-heparin természetű GAG-okra vonatkozólag ad felvilágosítást/. A sclerosis-mentes aortában a különböző szakaszokban és rétegekben ez a tényező közel azonos, míg a legsúlyosabb stádiumban az értékek széthúzódnak. A toluidin-kék idő értékei súlyos sclerosisban a különböző rétegekben és szakaszokban sorrendben a következő: legnagyobb az intima-media hasi szakaszán, majd az intima-media mellkasi részén, ezután az adventitia hasi-, majd mellkasi szakasza következik. Érdekes, hogy az atherogén hatás is ugyan ilyen sorrendben jut érvényre a különböző érfal-rétegek és szakaszok esetén.

A legsúlyosabb sclerosis-fokban mért toluidin-kék idő értékeiből tehát kiderül, hogy minél inkább ki van téve egy érfalrész a meszesítő tényezőnek, annál több benne a nem-heparin Természetű GAG. /Viszont minél kevésbé van kitéve az érfaldarab az atherogén ágensnek, annál kevesebb benne a nem-heparin GAG-ok aránya./ Ezt alátámasztják a komplex-képzési

kísérletek is, melyek igazolják, hogy az adventitiális GAG-kivonatokban a heparinoidok aránya nagyobb, mint az intima-media GAG-jaiban.

Nagyon érdekes, hogy a viszkozitás-értékek a legsúlyosabb sclerosis-fokban, a különböző rétegekben és szakaszokban éppen fordított sorrendben változnak, mint ahogy a toluidinkék idő mérésénél megfigyelhettük. Ez bizonyára nem a véletlen játéka. Valószínű, hogy a jelenségek összefüggésének eredményeképpen alakultak így az adatok. Legnagyobb viszkozitást mutat az adventitia mellkasi szakasza, /ez a régió van legkevésbé kitéve a patogén ágensnek, melynek mértékét túlnyomó részt a plasma összetétele, és a haemo-dinamikai tényezők determinálnak/ majd az adventitia hasi-, az intima-media mellkasi- majd végül az intima-media hasi részének viszkozitás-értéke következik /ez utóbbi régió van legjobban kitéve a meszesedésnek/.

Tehát az atherogén ágensnek kevésbé kitett érfal-részek viszkozitás-értéke magasabb. Így fel kell tételeznünk, hogy a nagy viszkozitást a rendkívül viszkózus hialuronsavnak köszönhetjük, míg a meszesedésnek jobban kitett részben a többi nem-heparin frakciók halmozódnak fel.

A viszkozitás-értékek alakulásában valószínűleg beleszól a GAG-ok "öregedés" is. Elképzelhető, hogy a meszesedésnek régebb óta kitett szakaszon az érfalra kicsapódó GAG-ok szerkezetében utólagos változás áll be, mely esetleg keresztkötések kialakulása révén a poláros csoportok elvesztéséhez, és így a viszkozitás-értékek csökkenéséhez vezethet. /A plasma-alkotó makromolekulák körében előfordul, hogy egy enzim a már kicsapódott makromolekulák között utólagosan keresztkötéseket hoz létre. Így például Laki és Lóránd leírtak egy enzimet, amely a fibrin-láncok között létesít kovalens kötések - ez a fibrin stabilizáló faktor, vagy Laki-Lóránd faktor - és így oldhatatlanná teszi az aggregátumot./

Feltételezem, hogy a szérum β -LP-Me⁺⁺-GAG szupramolekuláris komplex, /mely Banga Ilona szerint nem-kovalens kötődés által jön létre/ az érfalra való kicsapódást követően keresztkötések révén állandósul.

Ezzel kapcsolatban vessünk egy pillantást a következő táblázatra, mely a plasma 4 fő ionkomponensének mennyiségét tünteti fel:

A plasmavíz ionösszetétele, mmol/kg víz-ben kifejezve:

Viztartalom ml/kg	940	
Nátrium ⁺	153	} 157
Kálium ⁺	4	
Kálcium ⁺⁺	3	} 4
Magnézium ⁺⁺	1	

Megjegyzés: Me⁺⁺ kétértékű fémion általában.

Ha összeadjuk külön-külön az 1 és 2 értékű fémionok moláris mennyiségét, rájöhethetünk arra, hogy az 1- és 2-értékű kationok aránya a plazmában közel 40 : 1-hez. Tehát 40x nagyobb töménységben vannak jelen fiziológiás körülmények között az 1 értékű kationok /a Na és a K együttléve/, mint a kétértékűek /Ca, Mg/. Laboratóriumi körülmények között, /ld.: Béta-lipoproteinek nyérése szérumból/ ha az egyértékű ionok moláris koncentrációja 20-szor nagyobb volt, mint a kétértékű ionoké, akkor a makromolekuláris komplex maradéktalanul feloldódott. Önként adódik a kérdés, hogy az érfa-
li β -LP-Me⁺⁺-GAG depositio miért nem oldódik fel fiziológiás körülmények között, hiszen a plazmában 40-szeres túlsúlyban vannak az egyértékű kationok a kétértékűekhez viszonyítva. A leírtak alapján reálisnak tűnik egy komplex-stabilizáló faktor létezését feltételezni, mely a GAG-ok és a β -LP molekulák között alkotnak utólagosan keresztkötéseket.

A heparinoidok és béta-lipoproteinek kapcsolatára vonatkozólag szeretnék még valamit megemlíteni. A heparin clearing effektisa /a β -LP-ek eliminálódása a lipoprotein-lipáz aktivitásának fokozásán keresztül/ általánosan elfogadott. Egyes irodalmi adatok és saját kísérleteim viszont két-ségessé teszik, hogy valóban létrejönne clearing-effektus heparin adására. Érveim a következők: 1./ Bihari-Varga Magdolna és munkatársai in vitro nem észlelték a lipoprotein-lipáz aktivitásának fokozódását. 2./ Saját, β -LP-ekkel végzett vizsgálataim azt mutatták, hogy heparin és Me^{++} hatására β -LP-ek jelenlétében nem egyszerűen kolloidális komplex, hanem csapadék keletkezett.

Igaz ugyan, hogy az in vivo vizsgálatok alkalmával heparin befecskendezésére a β -LP-ek csökkenését tapasztalták, de egyáltalán nem biztos, hogy ez a jelenség a lipoprotein-lipáz mennyiségi növekedésének köszönhető. Abból indulok ki, hogy az enzim-aktivításra vonatkozó vizsgálatok majdnem kivétel nélkül a szubsztrát-elimináció sebességének mérésén alapulnak, /Biró Endre: Biokémia, 1980./ nem pedig az enzim-fehérje abszolút koncentrációjának mérésén. Az elmondottak alapján lehetséges, hogy a "clearing-effektus" a szó szoros értelmében optikai csalódás: a befecskendezett heparin β -LP-ek és kétértékű kationok jelenlétében egyszerűen kicsapódik az érfalra, és az ezt követően levett vérminták plasmája ezért látszik feltisztultnak. Az igazság eldöntése csak akkor válna lehetővé, ha heparin adás előtt és után a lipoprotein-lipáz enzim abszolút mennyiségét mérhetnénk. Ez azonban a preparatív nehézségek miatt nem könnyű.

A természetes és cholesterolin által indukált érrelmeszesedés kapcsán fellépő fokozott glucosamino-glikán termelést, mint a szervezet védekező mechanizmusát tekintjük. Ezt genetikai regulációs mechanizmus alapján úgy képzeljük el, hogy: a lipoid természetű anyagok – így pl. a cholesterolin – felszaporodása derepresszálja azt a gént, amely a heparint szintetizáló enzimfehérjék szintézisét irányítja. Így a vér alvadákonyságát elősegítő lipoidok felhalmozódása beindít egy olyan

mechanizmust, mely által alvadásgátló anyagok: GAG-ok keletkeznek. Az érrelmeszesedés thrombogén teóriáját tekintve, a GAG-termelés a véralvadás gátlásával valóban az arteriosclerosis ellen dolgozik. Ha azonban figyelembe vesszük, hogy ugyanakkor a glucosamino-glikánok a β -lipoproteidekkel való komplexképzés folytán a sclerotikus plaqueok kialakításában a "főszerepet" játsszák, rádöbbenünk arra, hogy a heparin-termelés az érrelmeszesedést tulajdonképpen nem védi ki, legfeljebb csak némiképp "elnapolja", mivel a heparin a plasma-béta-lipoproteinekkal a plaqueok egyik alkotóelemévé válik.

A természet-adta ellentmondás kiküszöbölése céljából felvethetjük: annak a lehetőségét, hogy keresünk olyan GAG-ot, amely csökkenti ugyan a vér alvadékonyságát, azonban nem alkalmas a β -LP-ekkel való komplexképzésre, vagy esetleg olyan labilis komplexet képez, hogy az érfalban uralkodó körülmények közötti bomlása, illetve bontása könnyedén végbe-mehet.

Ugy gondolom, hogy empirikus úton is kereshetünk olyan GAG-ot, amely gátolja ugyan a véralvadást, de nem képez komplexet a β -lipoproteinekkal, Ennek menete a következőképpen képzelhető el: GAG-kivonatot készítünk, ehhez fölös mennyiségben adunk kétértékű kationt és β -lipoproteidet. A keletkezett csapadékot lecentrifugáljuk. A kapott felülúszót dializáljuk, hogy a Me^{++} -ok eltávozzanak az oldatból. Majd a folyadékot gél-szűrővel megtisztítjuk a fölös β -LP-től. Az oldatunkban ezek után már csak azok a GAG-ok vannak jelen, melyek nem képeztek komplexet a β -LP-ekkel. Az így kapott tiszta GAG-oldatot kis pórusú géllal szűrés szerint betöményítjük, majd megnézzük, hogy oldatunknak maradt-e még alvadás-gátló effektusa. Ha igen, akkor már csak a frakció azonosítását kell elvégezni.

A természetben azonban nem biztos, hogy találunk olyan GAG-ot, amely meggátolja ugyan a véralvadást, de viszont nem képez komplexet a β -LP-ekkel.

A GAG- Me^{++} - β LP szupramolekuláris komplex keletkezési mechanizmusának pontos ismeretében lehetőségessé válna a GAG-molekulákra olyan gyökcsoportok felvitele, amelyek tér-

szerkezetüknél fogva akadályoznák a komplex kialakulását. A makromolekuláris komplexben ligandumként szerepelhetnek: a GAG-ok részéről a szulfát- és karboxil-csoportok, míg a β -lipoproteinek esetében /ld.: a bevezetésben lévő ábrát/ a foszfát-csoportok vagy a protein rész karboxil-csoportja. Tehát a GAG-molekulák szulfát vagy karboxil csoportjainak közelébe kellene gyököket bevinni, úgy, hogy a β -LP-molekula "ne férjen hozzá" a GAG-molekula szulfát, vagy karboxil csoportjához, de a Ca^{++} még odaférjen. /Valószínű ugyanis, hogy a GAG-ok alvadásgátló hatásukat nagyrészt Ca^{++} -kötő képességüknek köszönhetik./

A GAG-ok közül a heparint széles körben alkalmazzák az atherosclerosis terápiájában, holott az csak a pillanatnyi thrombosis-veszélyt szünteti meg, a továbbiakban pedig hozzájárul a sclerosis progressiójához.

Ezért volna célszerű az itt vázolt, új típusú alvadásgátló előállítása.



Összefoglalás

1. A glucosamino-glikánok az érrelmeszesedés folyamán jellegzetes mennyiségi és minőségi változáson mennek keresztül. Ezt igazolják: az adventitia basophyl granulocytáinak szám- és térfogatbeli változásai, valamint a véralvadásos vizsgálatok /a recalcifikált plasma alvadásideje, a prothrombin index, a thrombin idő, a toluidinkék-idő, és a thrombin-inaktiválás sebessége/.
2. A GAG-oknak az érrelmeszesedés kapcsán fellépő mennyiségi és minőségi változásai egyszerű fizikai-kémiai módszerekkel – komplexképzés, viszkozitás – kimutathatók.
3. A vizsgálati eredmények azt bizonyítják, hogy az érrelmeszesedés kutatásában Lusztig által bevezetett eljárás – mely szerint az aortát 4 régióra osztjuk vizsgálat alkalmával – könnyen elérhető módszert szolgáltat a GAG-ok mennyiségi és minőségi változásainak időbeli követéséhez egyazon érrelmeszesedési fokon belül is. Ugyanis a különböző rétegekben és szakaszokon a következő sorrendben mennek végbe a kóros elváltozások: intima-media hasi, intima-media mellkasi, adventitia hasi és végül az adventitia mellkasi szakasza következik. Így a pathológiás folyamatok jól nyomon követhetők.
4. A GAG-oknak az atherosclerosisban betöltött szerepének kutatása számos újabb és újabb kérdést vet fel. Az egyik legszembeeszkőbb paradoxon az, hogy a GAG-ok egyrészt mérséklék az érrendszeri betegségeket – alvadásgátlás, érfalli hidratáció biztosítása – másrészt viszont komplexképzésük révén részt vesznek a meszes foltok kialakításában. Mivel különböző GAG-ok véralvadásra kifejtett hatása és komplex-kötő képessége más és más, így ideális határesetben elképzelhető olyan GAG, amely megakadályozná

a vérrögök képződését, de olyan fizikai-kémiai sajátságokkal rendelkezne, hogy nem képezne csapadékot a magas zsírtartalmú β -LP-ekkel. Egy ilyen tulajdonságokkal rendelkező alvadásgátló keresése az eddigieknél előnyösebb tulajdonságú thrombózis-elleni gyógyszer készítését tenné lehetővé.

IRODALOM A BEVEZETÉSHEZ

1. Astrup T.: Medizininische. 1959. 42. 1959.
2. Bagdy D.: A véralvadás orvosi biokémiája. Medicina, Bp. 1977.
3. Banga Ilona: Elasztin és elasztáz az atherosclerosis-kutatásban. Medicina, Bp. 1978.
4. Benkő S., Macher A., Szarvas T., Tiboldi T.: Effect of essential oils on atherosclerosis of cholesterol-fed rabbits. Nature, 190, 731, 1961.
5. Berki E., Korányi A., Liszka Gy., Major E.: Ép és atherosclerotikus aorták anorganikus tartalma. Orv. Hetil. 106, 201, 1965.
6. Bihari-Varga Magdolna, Gergely J., Gerő S.: Az intimális mucopolysaccharidák β -lipoproteid kötő komponense. Orv. Hetil. 104. évf. 30. szám. 1963. VII. 28. 1401-1404.o.
7. Bihari-Varga Magdolna, Fehér J., Gerő S.: Az érfal pathológiás szerkezetváltozásának szerepe a lipidlerakódásban. Orv. Közlem. /Szekszárd/ 11, 18, 1975.
8. A biológia aktuális problémái. 4. kötet. Fiam Béla: A véralvadás biológiai alapjai. Medicina, Bp. 1975.
9. A biológia aktuális problémái. 10. Kötet. Németh-Csóka Mihály: A kötőszövet mukopoliszacharidjai. Medicina, Bp. 1977.
10. Biológiai Lexikon. Főszerkesztő: Straub F. Brúnó. Akadémiai kiadó, Bp. 1978.
11. Biró Endre: Biokémia. Az Eötvös Lóránd Tudományegyetem jegyzete, Tankönyvkiadó, Bp. 1980.
12. Constantinides, P.: Mast Cells and Susceptibility to Experimental Atherosclerosis. Science. 117. 505, 1953.
13. Gergely János: Az érlemeszesedésről. Medicina, Bp. 1962.
14. Gerő S., Gergely J., Dévényi T., Jakab L., Székely L., Virág S.: Nature, 1960. 187:152.

15. Gerő S., Gergely J., Dévényi T., Jakab L., Székely L.,
Virág S.: J. Atheroscler. Res. 1961. 1:67.
16. Goldsmith G.A.: Highlights on the cholesterol-fats,
diets, and atherosclerosis problem. J. Amer.
med. Ass., 176, 783, 1961.
17. Hesz Á., Lusztig G.: Ép és atherosclerotikus emberi
aortafal rétegeinek összehasonlító vizsgálata.
III. Makroelemek. Kisérlet. Orvostud. 26, 158,
1974.
18. Junge-Hülsing G.: Az arteriosclerosis pathogenesis és
prophylaxisa. Therapiewoche Heft 15, 1966. 485.
19. Kappert A.: Helv. Med. Acta Suppl. XL.I. and Vol.
1962. 29.
20. Kőrös Endre: Bio-szervetlen kémia. Gondolat. Bp. 1980.
21. Lusztig G., Szabó Zsuzsanna, Józsa L.: Kisérletes cho-
lesterinsclerosis a véralvadás tükrében. Kisérlet.
Orvostud. 18, 142, 1966. Folia haemat. 86, 272,
1966.
22. G. Lusztig, B. Góg: Histo chemische Untersuchungen der
Mastzellen in der Aortenadventitia bei experi-
mentellen Hypercholesterinämie. Zbl. Allg. Path.
Anat. 112, 400 /1969/
23. Lusztig G.: A hizósejtek hisztokémiai vizsgálata az
aorta-adventitiában kísérletes hypercholesterin-
aemia kapcsán. Bács-Kiskun Megyei Kórház évköny-
ve, 1969.
24. Lusztig G., Kristóf Á.: Az aortafal rétegek mucopolysacc-
haridáinak összehasonlító vizsgálata az athe-
rosclerosis, életkor, és nem függvényében.
Bács-Kiskun Megyei Kórház Évkönyve, 1969.
25. Lusztig G., Hesz Á.: Az aortafal-rétegek mucopolysacc-
haridáinak összehasonlító vizsgálata. Orv. Hetil.
111, 1213, 1970.
26. Lusztig Gábor: Nagydoktori értekezés. Kecskemét, 1977.

27. Morrisett, J. D., Jackson, R. L., Gotto, A. M.: Lipoproteins. Ann. Rev. Biochem. 44. 183-207, 1975.
28. Nikitin, Yu. P., Oberina, Yu. N.: Kisley mukopolisakharidy arterial'noj stenki, vozrast i ateroskleroz. Arh. Pat. 30, 11/3, 1968.
29. Perlick E. és mtsai: Z. ges. inn. Med. 1955. 10. 480.
30. Rák K., Varga L., Krizsa F. és Cserháti J. Orv. Hetil. 104. évf. 27. szám. 1963. júl. 17.
31. Romics László - Szollár Lajos: Lipidek, lipoproteinek és hyperlipoproteinaemiák. Medicina, Bp., 1977.
32. Schettler, F. G., Boyd, G. S.: Atherosclerosis. Elsevier Publ. Co., Amsterdam, London, New York, 1969.
33. Schettler, F. G., Weizel, A. /Eds./: Atherosclerosis III. proceedings of the third International Symposium, Berlin, 1973. Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York. 1974.
34. Szabolcs Paula: Ószintén a szivinfarktusról. Medicina, Bp., 1977.
35. Tanaka, K.: Thrombus and coagulation factors in the genesis of atherosclerosis. Acta path. jap. 18, 91, 1968.
36. Watson, W.C.: The role of the mast cell in experimental atherosclerosis. Brit. J. Exper. Path. 39. 340.

IRODALOM AZ I. FEJEZETHEZ /HIZÓSEJTEK/

1. Bálint P. Klinikai laboratoriumi diagnosztika.
Medicina Könyvkiadó. Budapest, 1962.
2. Bersohn I. Atherosclerosis and coronary heart disease.
Possible incrimination of magnesium deficiency in their promotion. Med. Proc. 4, 62, 1958.
3. Bélanger, L.F., van Erkel, G. A., Jakerow, A. Behavior
of the dermal mast cells in magnesium-deficient rats. Science, 126, 29, 1957.
4. Douglas, C. R., Jorquera, J. A., Perez, V., Escobar, E.,
Rosenkranz Mucopolysaccharide content of the
arterial wall of the rat upon emptying of the
mast cells. Acta physiol. lat. amer. 14, 37,
1964.
5. Hedbom, A., Snellman, O. Isolation and analysis of large
cytoplasmic granules of tissue mast cells.
Exp. Cell Res. 9, 148, 1955.
6. Juvancz Ireneusz Statisztikai eljárások. In Klinikai la-
boratoriumi diagnosztika. Szerk. Bálint P.
Medicina Könyvkiadó, Budapest, 1962.
7. Lino, S., Salvatore, V. Sui rapporti fra mastcellule e
sostanze metacromatiche del connettivo.
Biol. Lat. /Milano/ 8, 776, 1955.
8. Lusztig G. Hyprecholesterinaemiát kísérő hizósejt-reac-
tio vizsgálata az aorta-adventitiában.
Moroh. igazságü. orv. Szla. 10, 49, 1970.
9. Lusztig, G., Góg, B., Histochemische Untersuchung der
Mastzellen in der Aorten-adventitia bei
experimentellen Hypercholesterinamie. Zbl.
allg. Path. path. Anat. 112, 100, 1969.
10. Lusztig, G., Hesz Á., Az aortafal-rétegek mucopolysaccha-
ridainak összehasonlító vizsgálata az athe-
rosclerosis, életkor és nem függvényében.
Orv. Hetil. 111, 1213, 1970.

11. Lusztig, G., Hesz Á. Az aorta-thoracalis és abdominalis közti-anyagcseréje, vmint a nemek szerepére vonatkozó összehasonlító vizsgálatok. Orv.Hetil.
12. Lusztig G., Góg B. Heparinicyta-reactio vizsgálata a cholesterolin-szint tükrében. Morph.igazságü.orv.Szle. 8, 27, 1968.
13. Paterson, J. C., Mills. J. Myocardial mast-cell counts in coronary sclerosis. Arch. Path. 66, 335, 1958.
14. Phillips, P. H., Burch, G. E., Hibbs, R. G. Significance of tissue chromaffin cells and mast cells in man Circulat. Res. 8, 692, 1960.
15. Pollak, O. J., Mast cells in the circulatory system of man. Circulation, 16, 1084, 1957.
16. Pomerance, A. Peri-arterial mast cells in coronary atheroma and thrombosis. J. Path. Bact. 76, 55, 1958.
17. Selye, H. The Mast Cells. Butterworths, London, 1965.
18. Sternby, N. H., Vanecek, R., Vihert, A., Kagan, A., Uemura, K. Correlation of type and extent of atherosclerosis in aorta and coronary arteries obtained at autopsy. The search for predictors of coronary stenosis and myocardial infarction. Bull. Wld. Hlth. Org. 33. 741, 1965.
19. Sundberg, M. On the mast cells in the human vascular wall; a quantitative study on changes at different ages. Acta. path. microbiol. scand. Suppl. 107, 1955.
20. Uemura, K., Sternby, N., Vanecek, R., Vihert, A., Kagan, A. Grading atherosclerosis in aorta and coronary arteries obtained at autopsy. Application of a tested method. Bull. Wld. Hlth. Org. 31, 297, 1964.

21. Wexler, B. C. Myocardial mast cell changes in arteriosclerotic rats. Arch. Path. 78, 46, 1964.
22. World Health Organization Technical Report Series. No 143. Classification of atherosclerosis lesions. Report of a study group. World. Health Organization. Geneva, 1958.

IRODALOM A II. FEJEZETHEZ /VÉRALVADÁS/

1. Alfonsov, V. V., Kuznik, B. I.: O roli tkanevykh faktorov svertyvaniya krovi koronarnykh arterii v praskhozkdenniitthrombozov. Kardiologija, 4, 53, 1967.
2. Astrup, T., Albrechtsen, O. K., Classen M.: Thromboplastic and fibrinolytic activity of human aorta. Circulat. Res. 7, 969, 1959.
3. Billimoria, J. D., Irani, V. J., McLagan, N.: Blood lipid fractionation and blood clotting in isdhaemic heart disease. J. Atheroscler Res. 5, 102, 1965.
4. Böttcher, C. J. F., Fent, C. M.: Changes in the composition of phospholipids and phospholipoid fatty acids associated with atherosclerosis in the human aortic wall. J. Atheroscler. Res. 1, 36, 1961.
5. Buck, R. C., Rossiter, R. J.: Lipids of normal and atherosclerotic aortas. Arch. Path. 51, 224, 1951.
6. Buddecke, E.: Untersuchungen zur Chemie der Arterienwand. I. quantitative Zusammensetzung des Gefassbindegewebes. Z. Physiol. Chem. 310, 171, 1958.
7. Buddecke, E.: Darstellung und chemische Zusammensetzung von Mucopolysacchariden der Aorta des Menschen. Z. Physiol. Chem. 318, 33, 1960.
8. Campbell, L. L.: The thromboplastin activity of bovine thoracic aorta. J. Amer. pharm. Ass., Sci. Ed. 43, 359, 1954.
9. McCandless, E. L., Zilverssmit, D. B.: The effect of cholesterol on the turnover of lecithin, cephalin and sphingomyelin in the rabbit. Arch. Biochem. 62, 402, 1956.

10. Capaldo, A., Del Buono, G.: Ricerche sull attivita tromboplastinica dei varii organi e tessuti. Nota. V.: cervello suo comportamento nelle varie eta. Riv. Biol. 16, 253, 1954.
11. Chargaff, R., Birks, P. M., Fearnley, G. R., Origin of fibrinolytic activity from veins and its bearing on the fate of ve venous thrombi. Lancet, 1, 1288, 1963.
12. Choranian, A. V., Hollander, W.: Phospholipid synthesis in the human arterial intima. J. Clin. Invest. 45, 932, 1966.
13. Coccheri, S.: Attivita thromboplastinica e fibrinolitica nelle tonache normali e nell' aorta arteriosclerotica. G. Geront. 9, 1187, 1961.
14. Deutschinoff, A., Popwassilem, J.: Über die globale Gerinnungsaktivitat des atherosclerotischen Gefasses. In: Gefasswand und Blutplasma. II. Hrsg. R. Emmrich, E. Perlick. Fischer Verlag, Jena, 1965, 335.
15. Donner, L.: Some coagulant proptertiss of the arterial wall in atherosclerosis. J. Atheroscler. Res. 2, 88, 1962.
16. Gerendás M.: Véralvadás és vérzéscsillapítás. OVSZ. kiadványa, Budapest, 1960.
17. Hecht, E., Shapiro, D.: Sphingosine as an inhibitor of blood clotting. Science, 125, 1041, 1957.
18. Hecht, E.: Lipoide und Gerinnungsaktivitat des Blutes und der Gewebe. In: Gefasswand und Blutplasma. Hrsg. R. Emmrich, E. Perlick. Fischer Verlag, Jena, 1961. 197.
19. Heyrovsky, A.: Über die Sphingopipoide des Blutplasmas und der Gefasswand. In: Gefasswand und Blutplasma. Hrsg. R. Emmrich, E. Perlick. Fischer Verlag, Jena, 1961. 123.



20. Horn Z.: A heparin therápiás értékelése.
Közg. Jogi Kiadó, Bp. 1962. 10.
21. Józsa L., Szabó Zsuzsanna, Lusztig G.: Az emberi aorta mucopolysaccharidák anticoagulans hatásának vizsgálata. Kisérlet. Orvostud.: 18, 426, 1966.
Folia haemat. 86, 345, 1966.
22. Kirk, J. E., The thromboplastin activities of human arterial and venous tissues. Circulation, 22, 654, 1960.
23. Klimova, K. N.: O vliyanii lipopolisakharidov na sistemu svertyvaniya krovi. In: Materialy konferentsii po problemam svertyvaniya krovi. Baku, 1966. 135.
24. Lombardi, V., Scandigli, G., Mattii, R.: Attività thromboplastinica e fibrinolitica dell'aorta in età deversa. G. Geront. 9, 1135, 1961.
25. Lusztig G., Szabó Zsuzsanna, Józsa L.: Kísérletes cholesterolinsclerosis a véralvadás tükrében. Kisérlet. Orvostud. 18, 142, 1966. Folia haemat. 86, 272, 1966.
26. Lusztig G., Szabó Zsuzsanna, Józsa L.: A szérum anticoagulans és clearing-szerű effectusának vizsgálata kísérletes cholesterolinsclerosisban. Kisérlet. Orvostud. 18, 294, 1966.
27. Lusztig G., Hesz Á.: Az aortafal-rétegek mucopolysaccharidáinak összehasonlító vizsgálata az atherosclerosis, életkor és nem függvényében. Orv. Hetil. 111, 1213, 1970.
28. Lusztig G., Hesz Á.: Az aorta-thoracalis és abdominalis közti anyagcseréje, valamint a nemek szerepére vonatkozó összehasonlító vizsgálatok. Orv. Hetil.
29. Lusztig G., Gombás Margit: Hízósejt-reactio az aorta thoracalis és abdominalis adventitiájában az atherosclerosis függvényében. Moph. Igazságü. Orv. Szle.
30. Merskey, C.: Blood coagulation abnormalities produced by feeding cholesterol to rabbits. Brit. J. Haemat. 3, 366, 1957.

31. Merskey, C., Sapeika, N., Uys, C. J.: Anticoagulants and cholesterol-induced atheroma. *S. Afr. med. J.* 30, 1235, 1956.
32. Nikitin, Yu. P.: The coagulation activity of the aortic wall in atherosclerosis. *Cor et vasa*, 11, 198, 1969.
33. Nikitin, Yu. P., Oborina, Yu. N.: Kisley mukopolisakhari-dy arterial'noj stenki, vozrast i ateroskle-roz. *Arh. Pat.* 30, 11/3, 1968.
34. Perlick, E.: Gefasswand und Gerinnung sfaktoren. In: Ge-fasswand und Blutplasma. Hrsg. R. Emmrich, E. Perlick. Fischer Verlag, Jena, 1961, 211.
35. Phillppson, Ch.: Phospholipids in the aortic intima du-ring adrenaline induced atherosclerosis. *Cor et Vasa*, 8, 132, 1966.
36. Schimpf, K.: A comparison of the pro-coagulative and the anticoagulative actions of the wall of the rabbit aorta. *J. Atheroscler. Res.* 7, 311, 1967.
37. Smith, E. B.: The influence of age and atherosclerosis on thechemistry of aortic intima. *J. Athe-roscler. Res.* 5, 224, 1965.
38. Sternby, N. H., Vanecek, R., Vihert, A., Kagan, A., Uemura, K.: Correlation of type and extend of atherosclerosis in aorta and coronary ar-teries obtained at autopsy. The search for predictors of coronary stenosis and myocar-dial infarction. *Bull. Wld. Hlth. Org.* 33, 741, 1965.
39. Stevenson, T. D., Schrodt, G. R.: Coagulant properties of norma and arteriosclerotic blood vessels. *Circularion.* 20, 775, 1959.
40. Stevenson, T. D., Schrodt, G. R., Reed, L.M.: The coagu-lation properties of normal and arteriosc-lerotic aortas. *Amer. J. med. Sci.* 241, 632, 1961.

41. De Sütő-Nagy, G.: The chemical nature of an anticoagulant derived from tissues. J. Biol. Chem. 156, 433, 1944.
42. Szalontai, S.: A vérlemezke savanyú mukopoliszaharida szbmikroszkópos lokalizációja és változása a viszkozus metamorfozis folyamán. X. Biokémiai Vándorgyűlés előadásai, Esztergom, 1, 1969.
43. Tanaka, K.: Thrombus and coagulation factors in the genesis of arteriosclerosis. Acta Path. Jap. 18, 91, 1968.
44. Uemura, K.; Sternby, N., Vanecek R., Vihert A., Kagan A.: Grading atherosclerosis in aorta and coronary arteries obtained at autopsy. Application of a tested method. Bull. Wld. Hlth. Org. 31, 297, 1964.
45. Witte, S., Bressel, D.: Über die Thrombokinase-Aktivität der Blutgefäße. Folia hemat. 2, 236, 1958.
46. World Health Organization Technical Report Series. No 143. Classification of atherosclerosis lesions. Report of a study group. World Health Organization. Geneva, 1958.

IRODALOM A III. FEJEZETHEZ /KOMPLEX-KÉPZÉS/

1. Amenta, J. S., Waters, L. L. The precipitation of serum lipoproteins by mucopolysaccharides extracted from aortic tissue Yale J. Biol. Med. 33, 112, 1960.
2. Berenson, G. S. A study of acid mucopolysaccharides of bovine aorta with the aid of a chromatographic procedure for separating sulfated mucopolysaccharides. Biochim. Biophys. Acta 28, 176, 1958.
3. Bernfeld, P., Donahue, V. M., Berkovitz, M. E. Interaction of human serum-lipo-globulin with polyanions. J. Biol. Chem. 226, 51, 1957.
4. Bernfeld, P. in The Lipoproteins Methods and Clinical Significance. S. Karger, Basel-New-York. 1958. 24.
5. Bihari-Varga, Magdolna, Gergely J. és Gerő S. Az intimalis mucopolysaccharidák béta-lipoproteid kötő komponense. Orv. Hetil. 104, 1401, 1963.
6. Bihari-Varga, Magdolna, Gergely J., Gerő, S. Further investigations on complex formation in vitro between aortic mucopolysaccharides and-lipoproteins. J. Atheroscler. Res. 4, 106, 1964.
7. Buddecke, E. Untersuchungen zur Chemie der Arterienwand. I. Quantitative Zusammensetzung des Gefassbindegewebes. Z. physiol. Chem. 310, 171, 1958.
8. Buddecke, E. Darstellung und chemische Zusammensetzung von Mukopolysacchariden der Aorta des Menschen. Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. 318, 33, 1960.
9. Burstein, M., Samaille, J. Dosage des-lipoproteines series apres precipitation selective par l'héparine. Presse méd. 66, 974, 1958.

10. Burstein, M. et al. Rapid Method for the Isolation of Lipoproteins from Human Serum by Precipitation with Polyanions. *Lipid Res.* 11, 583, 1970.
11. Gerő, S., Gergely, J. et al. Role of mucoid substances of the aorta in the deposition of lipids. *Natura /London/* 187, 152, 1960.
12. Gerő, S., Gergely, J. et al. Role of intimal mucoid substances in the pathogenesis of atherosclerosis. Part I. Complex formation in vitro between mucopolisaccharides. *J. Atheroscler. Res.* 1, 67, 1961.
13. Lusztig G., Kristóf Á. Az aorta-fal rétegek mucopolisaccharidáinak összehasonlító vizsgálata az atherosclerosis életkor és nem függvényében. Bács-Kiskun megyei Kórház évkönyve. 1969. Kecskemét. 8, 229, 1969.
14. Lusztig, G., Gombás, Margit Mastzellenreaction in der Adventitia der Aorta thoracalis und abdominalis durch Atherosclerose bedingt. *Zbl. allg. Path. path. Anat.* 114, 353, 1971.
15. Lusztig, G., Gombás, Margit Die Wirkung saurer Mukopolysaccharide aus verschiedenen Schichten der atherosklerotischen Aortenwand auf die Blutgerinnung. *Folia haemat. /Lpz./* 95, 392, 1971.
16. Srinivasan, SR., Lopez, S. A. et al. Complexing of serum pre- β -and β -lipoproteins and acid mucopolysaccharides. *Atheroscler.* 12, 321, 1970.
17. Sternby, N. H., Vanecek, R. et al. Correlation of type and extent of atherosclerosis in aorta and coronary arteries obtained at autopsy. The search for predictors of coronary stenosis and myocardial infraction. *Bull. Wld. Hlth. Org.* 33, 741, 1965.

18. Uemura, K., Sternby, N. et al. Grading Atherosclerosis in aorta and coronary arteries obtained at autopsy. Application of a tested method. Bull. Wld. Hlth. Org. 31, 297, 1961.
19. World Health Organization Technical Report Series. No 143, Classification of atherosclerosis lesions. Report of a study group. World Health Organization. Geneva, 1958.

IRODALOM A IV. FEJEZETHEZ /VISZKOZITÁS/

1. Banga Ilona: Mukopolysaccharidák biológiai jelentősége. Magy. Tud. Akad. Biol. Oszt. Közl. 5, 217, 1962.
2. Buddecke, E.: Untersuchung zur Chemie der Arterienwand.I. Quantitative Zusammensetzung des Gefäßbindegewebes. Z. physiol. Chem. 310, 171, 1958.
3. Buddecke, E.: Darstellung und chemische Zusammensetzung von Mucopolysacchariden der Aorta des Menschen. Z. physiol. Chem. 318, 33, 1960.
4. Gerő S., Bihari-Varga Magdolna, Virág S., Végh Márta: Az intimális lipoid lerakódás mechanizmusának vizsgálata. Magy. Tud. Akad. Biol. Orv. Tud. Oszt. Közl. 18, 293, 1967.
5. Haruki, F., Kirk, J. E.: Composition of acid mucopolysaccharides in human vascular tissue. J. Lab. clin. Med. 64, 867, 1964.
6. Hesz Á., Lusztig G.: Az aorta mucopolysaccharidjainak vizsgálata érrelmeszesedésben. XI. Biokémiai Vándorgyűlés előadásszövegei. Sopron, 1970. 3. köt.
7. Lusztig, G., Józsa L., Kristóf, Á.: Die Rolle des Lebensalters und Geschlechts im intermediären Stoffwechsel der Aortenwand. Z. Alternsforsch. 23, 35, 1970.
8. Lusztig G., Hesz Á.: A mellkasi és hasi aortaszakasz mucopolysaccharid tartalmának összehasonlító vizsgálata. Orv. Hetil. 112, 428, 1971.
9. Sternby, N. H., Vanecek, R., Vihert, A., Kagan, A., Uemura, K.: Correlation of the type and extent of atherosclerosis in aorta and coronary arteries obtained at autopsy. Bull. Wld. Hlth. Org. 33, 741, 1965.

10. Uemura, K., Sternby, N., Vanecek, R., Vihert, A., Kagan, A.: Grading atherosclerosis in aorta and coronary arteries obtained at autopsy. Application of a tested method. Bull. Wld. Hlth. Org. 31, 297, 1964.
11. World Health Organization technical report series. No 143. Classification of atherosclerotic lesions. Report of a study group. World Health. Organization, Geneva, 1958.

A DISSZERTÁCIÓ MEGÍRÁSÁHOZ FELHASZNÁLT SAJÁT IRODALOM

1. Dr.Lusztig Gábor és Gombás Margit: Hízósejtek quantitativ változása emberi érelmeszesedésben az aorta adventitiájában. Morph. és Ig.Orv. Szemle, 11. 3, 1971.
2. Von Gábor Lusztig und Margit Gombás: zbl. allg. Path. Bd. 114, S. 353-360 /1971/
3. Lusztig G., Gombás M.: Az atherosclerotikus aortafal-rétegek savanyú mucopolysaccharidáinak hatása a véralvadásra. Kisérletes Orvostudomány 23. 358-366. 1971.
4. Von G. Lusztig, und M. Gombás: Folia Hematol., Leipzig 95 /1971/ 3, S. 292-303.
5. Gombás M., Lusztig G.: Serum-béta-lipoproteidek és aorta mucopolysaccharidák közötti komplex-képződés vizsgálata az érelmeszesedés függvényében. Kisérletes Orvostudomány 24. 627-631. 1972.
6. Gombás M., Lusztig G.: Emberi aorta mucopolysaccharidáinak viszkozitás-változása érelmeszesedésben. Kisérletes Orvostudomány 24. 417-421. 1972.
7. Von Margit Gombás und G. Lusztig: Deutsche Zeitschrift für Verdauungs - und Stoffwechselkrankheiten. Band 32. /1972/ Heft 5/6.
8. Gombás M., Lusztig G.: Mukopolysaccharidák öregedése arteriosclerosisban. A Magyar Biofizikai Társaság XII. vándorgyűlése. Budapest 1983. augusztus 25. /poszter/.



Végül, de nem utolsó sorban szeretnék mindazoknak köszönetet mondani, akik hozzásegítettek a disszertáció elkészítéséhez:

Dr. Lusztig Gábor professzor úrnak, hogy dolgozatom szakmailag ellenőrizte; a SzOTE tanárainak: dr. Guba Ferenc professzor úrnak, dr. Földes Vilmos professzor úrnak, és dr. Molnár János professzor úrnak, a dolgozat beadásához nyújtott segítségükért, és jótanácsaikért; dr. Jakab Györgyi tudományos Főmunkatársnak, a formai szerkesztéshez nyújtott tanácsaiért;

Dr. Kőrös Endre professzor úrnak, az alvadásgátló leírásának szakmai ellenőrzéséért;

Fodor Árpád körzeti üzemvezetőnek, hogy törekvésem önzetlenül támogatta, és biztosította az órahallgatáshoz szükséges időt;

Egykori munkatárseimnek: Danis Mihály és Csajányi Eghiáné könyvtárosoknak az irodalom-kutatás terén nyújtott segítségükért; a JATE és a SzOTE könyvtárosainak, és Imrényi Tiborné könyvtárosnak, a szakirodalom kikereséséért;

dr. Somogyi Zsuzsanna és dr. Szita Gyöngyi doktornőknak módszertani segítségükért;

Szepesi Sándorné gépirónőnek, lelkiismeretes munkájáért;

Nagy Lajos és Szücs Lajos szaktanároknak, az ábrák pontos szerkesztéséért;

Daróczy Gabriella főelőadónak, az ügyintézésért;

Keserü Ferencnek technikai segítségéért; valamint mindazon ismerősöknek és munkatársaknak, akik biztatásaik révén elősegítették a disszertáció megírását.

TARTALOMJEGYZÉK

ELŐSZÓ	1
BEVEZETÉS	2
Mi teszi ma is aktuálissá a témát?	3
Az érrelmeszesedésről általában	3
A plaqu-képzésben szerepet játszó anyagok	5
Ábrák a bevezetéshez	8
KISÉRLETI EREDMÉNYEK	12
I. Hízósejt-reakció az aorta thorakális és abdo- minális adventitiájában az atherosclerosis függvényében	13
Anyag és módszerek	14
Eredmények	16
Megbeszélés	18
Táblázatok, ábrák az I. fejezethez	20
II. Az atherosclerotikus aortafal-rétegek GAG-jai- nak hatása a véralvadásra	24
Anyag és módszerek	25
Eredmények	26
Megbeszélés	27
Ábrák a II. fejezethez	31
III. Serum-béta-lipoproteinek és aortális GAG-ok közötti komplexképződés vizsgálata az érrel- meszesedés függvényében	36
Anyag és módszerek	37
GAG-ok kivonása aortából	37
β -LP-ek nyérése serumból	37
A kísérlet kivitelezése	38
Eredmények	38
Megbeszélés	39
Ábra a III. fejezethez	41
IV. Emberi aorta GAG-jainak viszkozitás-változása érrelmeszesedésben	42
Anyag és módszerek	42
Eredmények	43
Megbeszélés	45
Táblázat, ábra a IV. fejezethez	47

ÉRTÉKELÉS	49
A mérési eredmények közös értékelése	50
Javaslat új típusú alvadásgátló keresésére ...	55
ÖSSZEFOGLALÁS.....	57
IRODALOM	59
A bevezetéshez	59
Az I. fejezethez /hizósejtek/	62
A II. fejezethez /véralvadás/	65
A III. fejezethez /Komplex képzés/	70
A IV. fejezethez /viszkozitás/	73
A disszertáció megírásához felhasznált saját irodalom	75
KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS	76

