

Véralvadási tényezők változása nyulak teljestest röntgenbesugárzása után

I. A kísérletek elvi alapjai: alvadásvizsgálatok egészséges állatokon

Írta: **Fiam Béla** dr. t. orvosalezredes és **Resofszki Pál** dr. t. orvosalezredes

A sugárhatásokat követő postradiations syndroma egyik nagyjelentőségű patológiai tényezője a vérzés. *Fernau-Schramek* és *Zarzycki* (1) már 1913-ban észlelték az erősebb sugárhatást követő vérzési tendenciát, melynek patomechanikai tényezői közül az utóbbi években elsősorban a vér alvadási és antikoaguláns tényezőinek sugárhatást követő viselkedésével foglalkoztak.

Tekintve azt, hogy az elmúlt években a véralvadás folyamatáról való ismeretünk igen sok, sokszor azonos hatású tényezővel bővült, szükségesnek tartottuk a sugárzás véralvadásra gyakorolt hatásának irodalmi ismertetése előtt az alvadás modern koncepciójának rövid ismertetését.

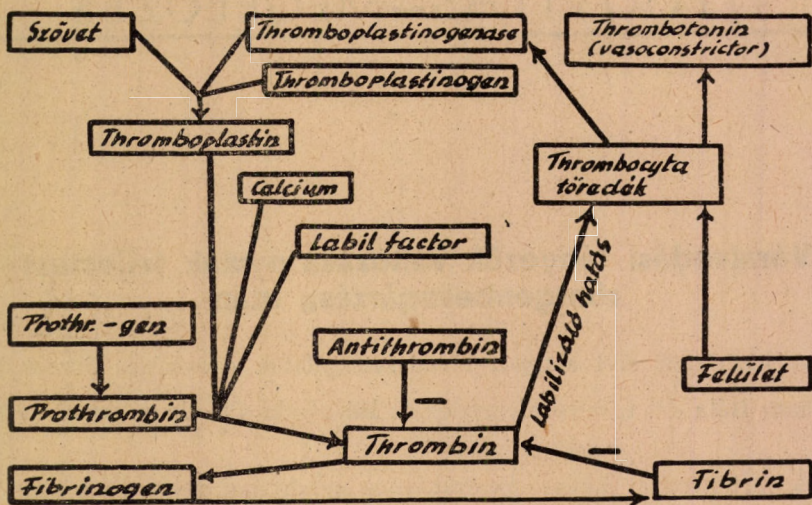
1. A véralvadás tényezői:

Az elmúlt 50 év alatt (1905), mióta *Morawitz* (2) az ún. kétfázisos alvadási rendszerét ismertette, (a thrombocytar eredetű thrombokinase Ca-só jelenlétében aktiválódik, majd a prothrombint thrombinná alakítja át) a véralvadás tényezőinek kérdése jelentős fejlődést ért el mind az alvadás, mind az alvadásgátlás tényezőinek ismeretében. Nem akarjuk az egyes kutatók által felállított alvadási elméleteket és az ezekben szereplő alvadási tényezők szerepét külön-külön ismertetni, ezek helyett inkább mellékeljük a fontosabb modern alvadási teóriák vázlatát (3, 4., 90.) (l. 1.—6. ábra)

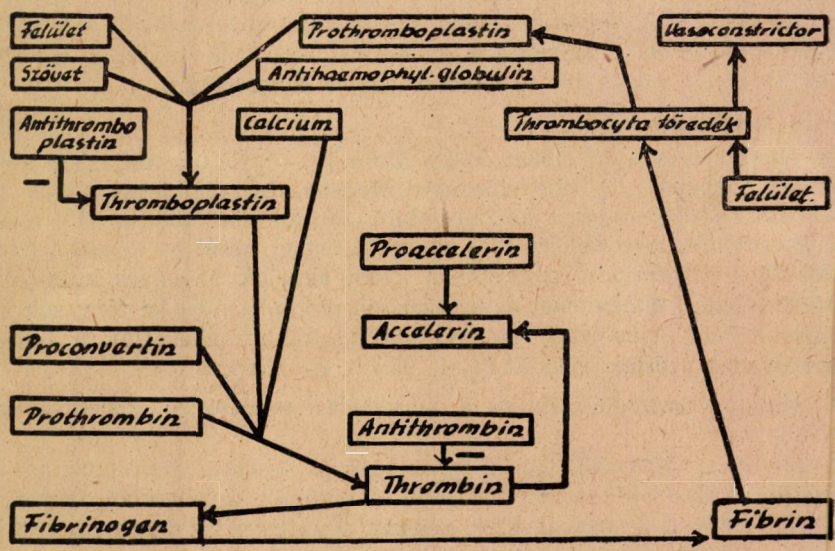
A sémák összefoglalásaként a véralvadás menetét a következőképpen állíthatjuk össze:

A *Morawitz—Schmidt* teória thrombocytar eredetű thrombokinaseja kiegészítődik a plasmakinaseval, valamint a roncsolt szövetekből felszabaduló úgynevezett szöveti kinaseval, ezek képezik együttesen az úgynevezett thromboplastint, mely a prothrombint thrombinná alakítja. A prothrombin-thrombin átalakulást gyorsítja az úgynevezett accelerátorglobulin, vagy Ac-globulin (prothrombin accelerátor, plazma-cofaktor, proaccelerin, V. faktor, vagy Owenfaktor, labil faktor, plazma prothrombin conversion factor). A plazma Ac-globulin és savó Ac-globulin között különbség nincs (serum prothrombin conversion accelerator, co-thromboplastin, stabile prothrombin conversion factor, proconvertin, V. cofactor), mint ahogy nem eldöntött a különbség az Ac-globulin és VII. faktor között sem (5).

A thrombin két fázisban hat a fibrinogénre, peptid-kötéseket szabadít fel és polimerizálja a fibrint (6., 7., 8., 9., 10., 12., 13., 14.), e polimerizáció teszi



1. ábra.



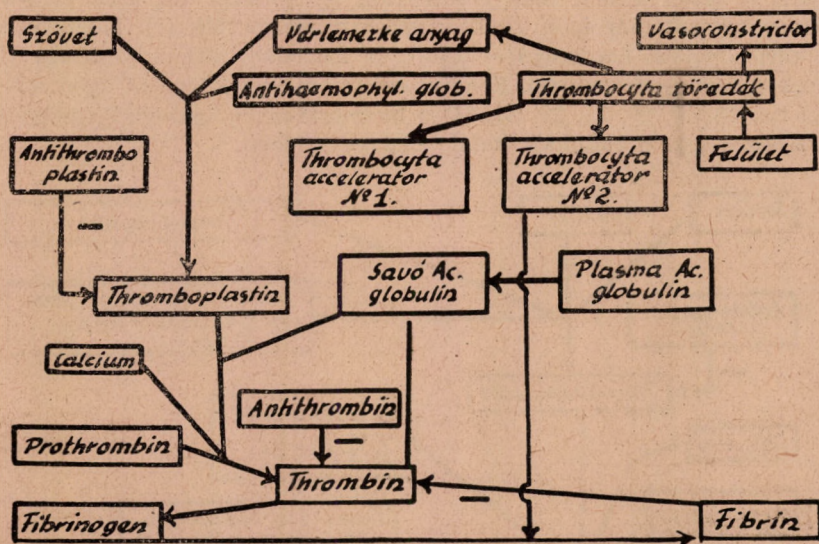
2. ábra.

lehetővé a fibrinmolekulák összekapcsolódását, az úgynevezett fibrinháló kialakulását. Az ionizált Ca jelenléte nemcsak a thrombin, hanem a fibrinképződéshez is szükséges, Ca hiányában ugyanis a fibrin (modellkísérletek szerint) oldott állapotban marad (15).

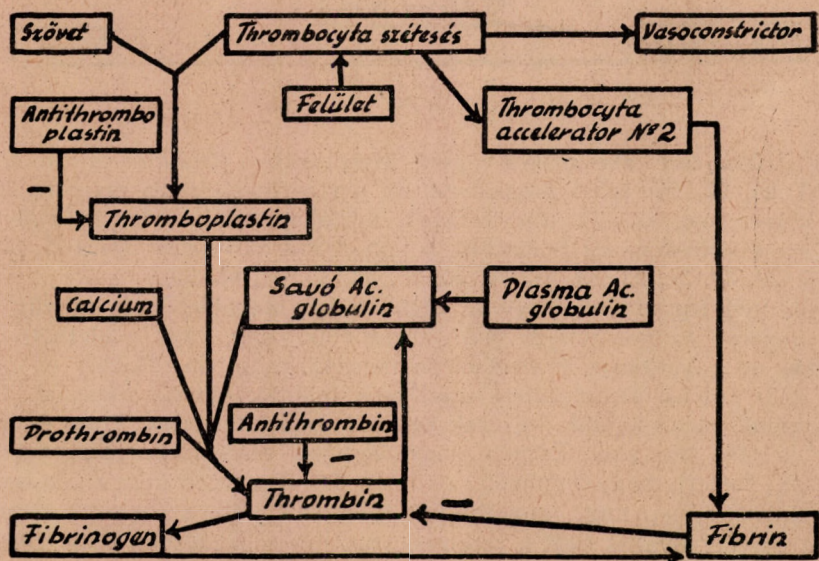
Az alvadással kapcsolatos másik probléma az, hogy miért nem alvad meg a vér. A választ a fiziológias határokon belül három tényezőcsoport foglalja magában:

- a) A thromboplasztin-ellenes anyagok (antithromboplasztinok),
- b) a mucopolysaccharidák csoportjába tartozó thrombinantagonisták (heparin, heparinoidok),
- c) a gelozus fibrin antithrombin hatása.

Pathológiás viszonyok között természetesen a fenti tényezőcsoportok fokozott szerepén kívül domináló szerepet tölthet be a fentebb ismertetett alvadási tényezők bármelyikének hiánya.



3. ábra.

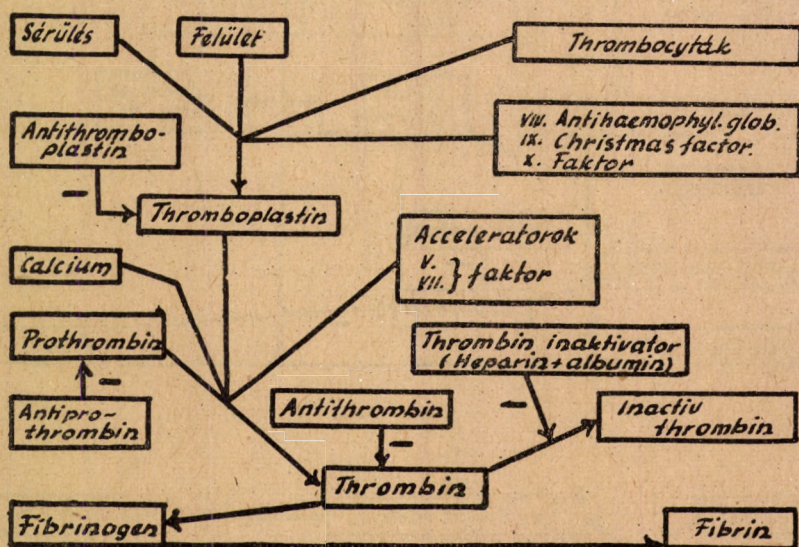


4. ábra.

Mint a fentebbi rövid áttekintésből is láthatjuk, a folyékony állapot és a megalvadás tényezőcsoportok bonyolult egymáshatása. A következőkben ismertetni kívánjuk azokat az irodalmi adatokat, melyek a sugárzás véralvadásra — illetőleg az egyes alvadási tényezőkre — gyakorolt hatásával foglalkoznak.

2. A postradiációs haemorrhagiás syndroma véralvadásra vonatkozó irodalmának áttekintése.

Mint a bevezetésben már mondtuk, az ionizáló sugárzás vérzékenységet okozó hatását már igen korán, 1913-ban felismerték (1). Megerősítették a korai megfigyelést *Lacassagne—Lattes* és *Lavedan*, valamint *Kolta* (16, 17) embereken nyert eredményei. E korai eredményeket követően igen sok szerző számol be (18, 19, 20, 21, 22, 23, 81) a haemorrhagiás kórképről, melynek igen nagy szerepe van a radiációs halál bekövetkeztében.

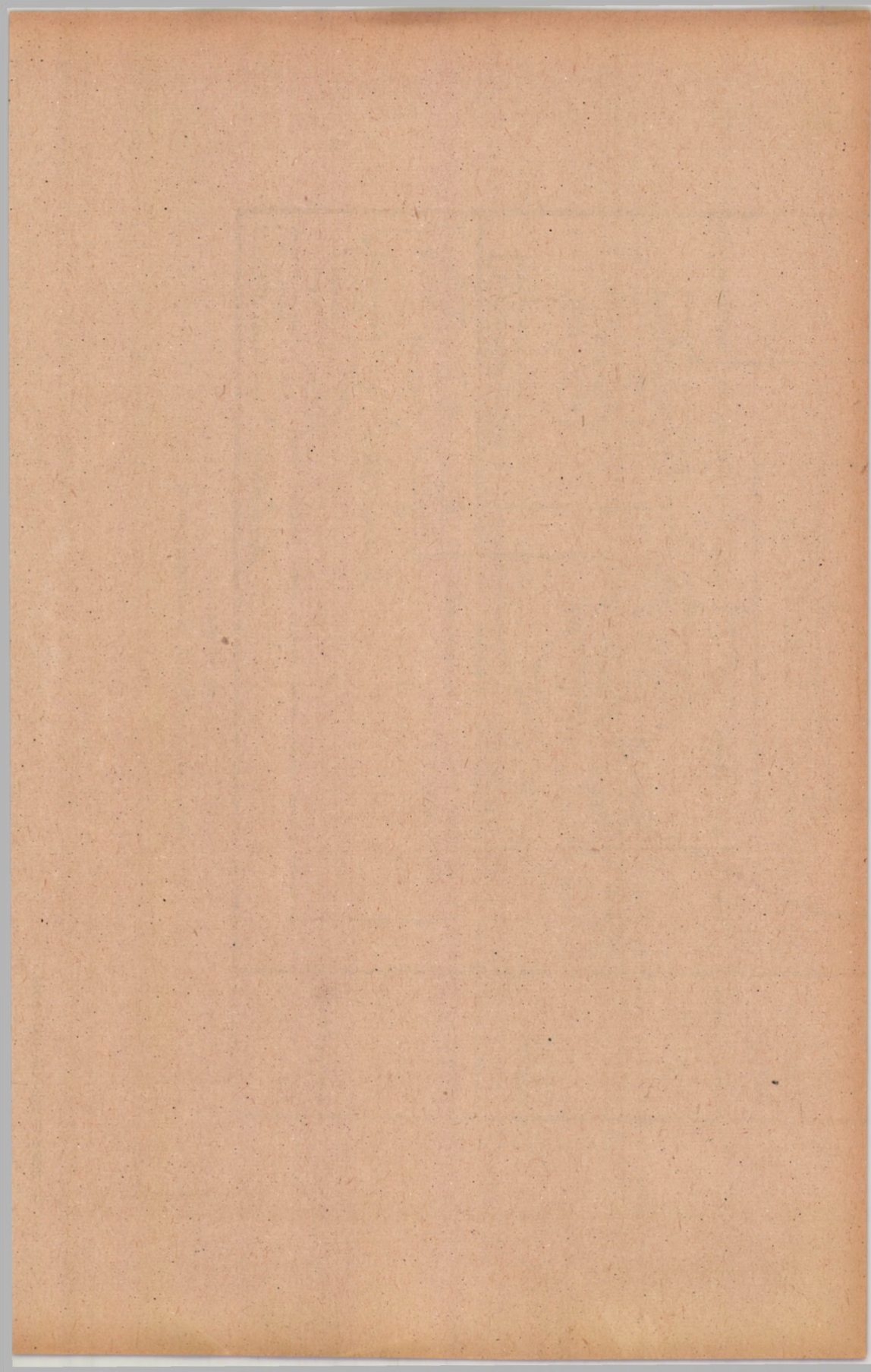


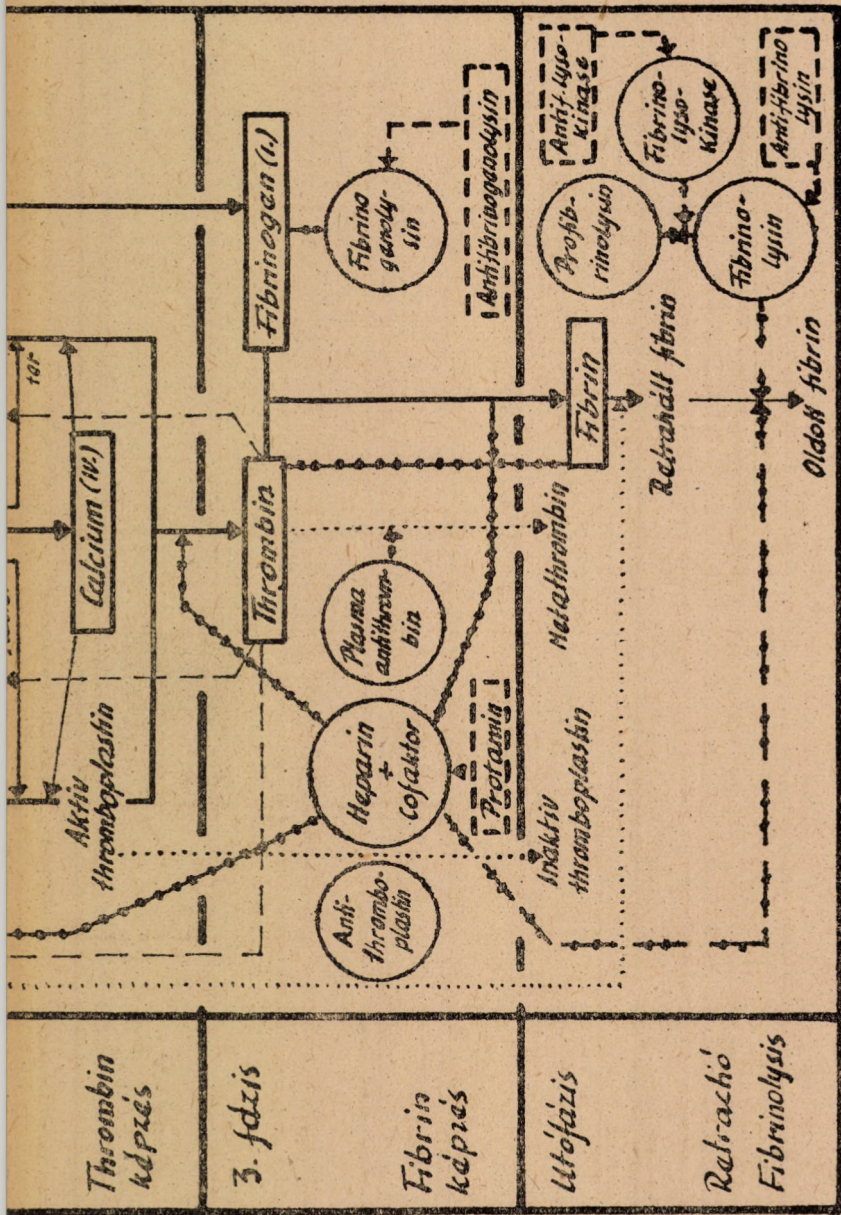
5. ábra.

A „Bikini-test” alkalmából végzett kísérletekben *Cronkite* és munkatársai (24, 25, 26, 27, 28) újból megerősítették a megfigyeléseket, majd az ezt követő időben nagyarányú kísérletekben megállapították, hogy a sugárhatást követően a vérzékenység fokozódik, a véralvadás károsodást szenved, elnyúlik (27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 40, 41, 62, 63).

Meg kell jegyeznünk, hogy az alvadási idő elnyúlása nem mindig jellegzetes. *Jegorov* és *Bocskarijev* (42) szerint csak nagy, vagy sublethális dóziséű sugárzás okoz változást a véralvadás mechanizmusában. *Holden* és munkatársai (43) kutyák sugárkitétele után nem találtak elnyúlt alvadási időt. Ugyancsak hasonló képet kaptak öszvérek ismételt sugárkitételekor *Trum* és munkatársai is (44, 45) akik leírják, hogy kísérleti állataik haemorrhagiát nem mutattak. Ismert, hogy nyulakon sem lép fel haemorrhagiás elváltozás (38).

A kutatók igen nagy, mondhatjuk túlnyomó része a fokozott vérzékenység, az elnyúlt alvadás okát a thrombocytaszám-csökkenésben látja (20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 38, 39, 40, 46, 47, 48, 49, 50, 51;





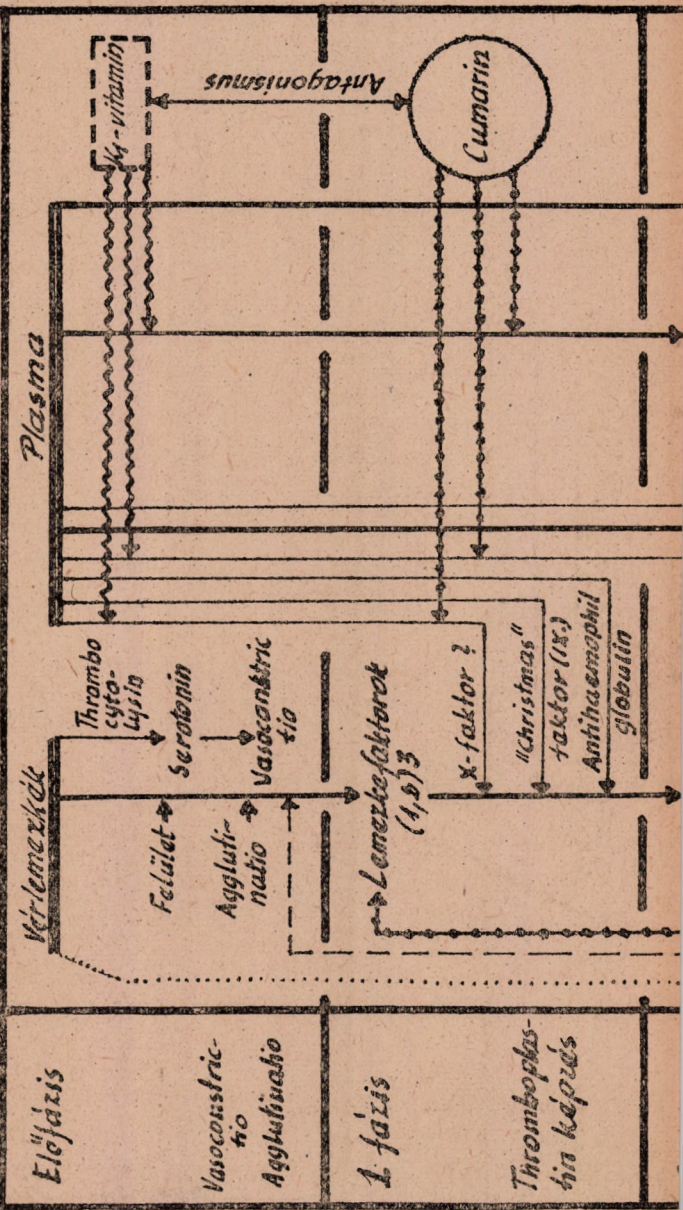
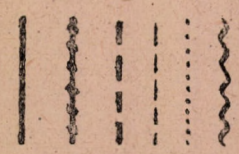
6. sz. táblázat.

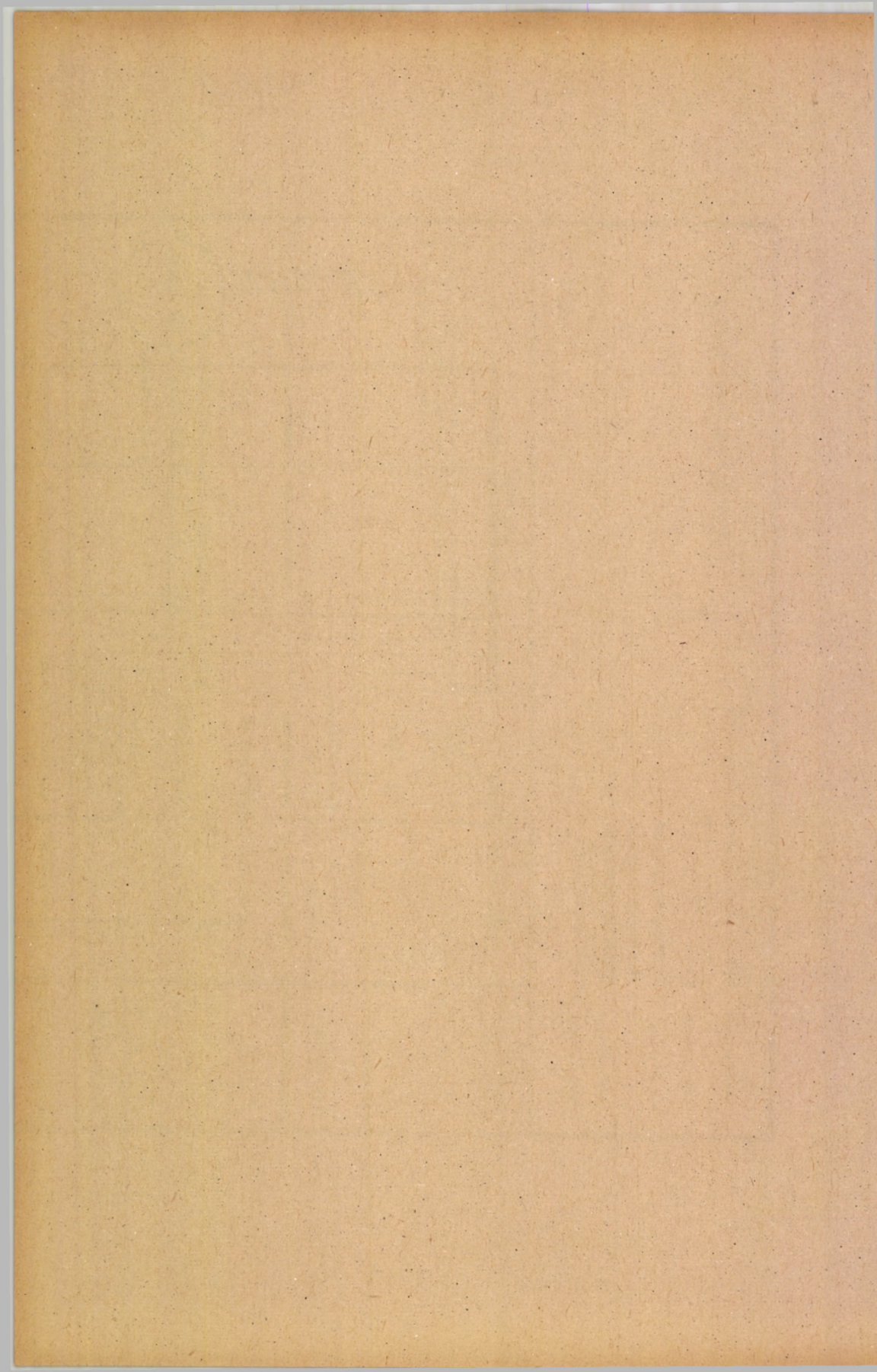
Marbet—Winterstein f. véralvadási séma.

Maret - Winterstein

1954

- Klassikus teoria tényezői
- Gátló tényezők
- Antagonizmus
- Autokatalysis
- Méltéreakció
- Faktor képzés





52, 53, 54, 55), miután kísérleteikben minden esetben masszív thrombocytaszám-csökkenést észleltek. Thrombocytopenia következik be izolált lépbesugárzáskor is (61). *Trum* (45) adatai szerint öszvérek ismételt teljestest besugárzása után a thrombocytopenia nem jelentős, munkatársának *Rust*-nak későbbi vizsgálatai szerint (84) 200 r/nap besugárzásnál thrombocytopeniát csak a 9. napon (1800 r után) észleltek. *Copley* (51) heparin beadása után a vérben thrombocytopeniát és thrombocytá agglutinátumokat — úgynevezett „fehér thrombusokat” észlelt —, amelyeket megtalált sugárzásnak kitett állatoknál is. Megfigyelését megerősítették *Gesztli—Kovács* és *Noll* (52), akik szerint a thrombocytopenia két fázisban, egy gyors heparinhatásra jelentkező és későbbi, csontvelőkárosodás eredetű formában zajlik le. *Cronkite* és társai (89) kutyákon végzett legújabb vizsgálatai szerint a thrombocytaszám csökkenésének maximumát a tizedik napon észlelték a sugárdózistól függetlenül. A normalizálódás a 35—40. napon következett be. A thrombocytaszám csökkenéssel kapcsolatban a sejtekben degeneratív jelenségek is észlelhetők voltak.

Megtalálható a thrombocytaszám csökkenés röntgenológusok krónikus sugárártalmában is, mint ezt *Kauffmann* és *Peirce* (81) igen alapos feldolgozása ismertette. *Davis* és társai (88) patkányokon égés és sugárzás kombinációjával mind 100, mind 500 r esetében észlelte a thrombocytopeniát, míg a csak égetett állatoknál inkább kismértékű thrombocytaszám emelkedés volt észlelhető.

Egységes típusú változást, elnyúlást mutat a thrombocytaműködéssel kapcsolatos retrakciós idő viselkedése is (38, 39, 54, 55, 81).

Amíg a thrombocytaszám csökkenés megállapításánál az eredmények megerősítik egymást, az egyéb alvadási tényezők vizsgálatánál kapott kép már korántsem ilyen egységes. *Cronkite* és munkatársai a bikini kísérlet kapcsán sertésen, kecskén, kutyán, patkányon, tengerimalacon, egéren és ökrön vizsgálva (25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33) az alvadási idő elnyúlását észlelték. Megnyúlt alvadási idővel találkozott nyúlkísérletében *Rosenthal* és *Benedek* (38), valamint *Stender* és *Elbert* (41), kutyákon *Allen* (36, 37, 56), *Wervilghen* és *Peremans* (39), valamint *Wervilghen* (40). Az alvadási időre vonatkozóan már találkozunk oly irodalmi adatokkal is (42, 43), melyekben a szerzők nem számolnak be alvadási idő megnyúlásáról, vagy a változást lényegtelennek tartják (19, 20, 21, 22, 23). A már idézett *Jegorov* és *Bocskarijev* (42) szerint az egyszeri behatás csak a szubletalist megközelítő dózisok esetében tükröződik vissza a véralvadás indexeiben, s ha mégis fellépnének eltérések, ezek csak átmeneti jellegűek. Szerintük éppen ebben leli magyarázatát a közölt nagyszámú kísérleti adat ellentmondása. *Yajima* nyúlkísérleteiben (80) 24—72 órán belül alvadási idő rövidülést, majd ezt követően elnyúlást tapasztalt, mely változások 10 napon belül normalizálódtak. *Davis* és társai (88) égés és sugárzás együttes hatásakor patkányokon az alvadási időt a 3—11 nap között elnyúlnak észlelték, mely heparinbevitellel méginkább fokozható volt és 30 napon belül normalizálódott. *Copley* és *Stefko* (87) nyúlón, patkányon és hörcsögön sem sugárzás előtt, sem sugárzás után végzett sympathectomiánál, vagy mellékveseirtásnál, illetőleg ezek után a vérzési időben változásokat nem észleltek.

Allen (56) az alvadási idő elnyúlásának okára a következő lehetőségeket adja meg:

- a) thrombocytopenia,
- b) elnyúlt prothrombin-thrombin átalakulás,

c) antikoaguláns felszaporodás,

d) az alvadásban szerepet játszó fehérjék radiodenaturációja.

Verstraete (57) irodalmi összefoglalójában leszögezi azt a tényt, hogy bár nem találtak minden besugárzott állatnál megnyúlt alvadást, az alvadási idő elnyúlását jellegzetesnek lehet venni.

Jackson és munkatársai (33, 46) egész testet ért besugárzás után a fibrinogén, Ca és prothrombin szintet változatlanak találták, *Kovács, Geszti* és *Előd* (53) ezzel szemben fibrinogénszint csökkenést írtak le. *Kovácsék* megállapították, hogy a csökkenő fibrinogénszint mellett nagy mennyiségben jelenik meg a keringésben labilis fibrinogén, mely önmagában képes thrombocytá agglutinátumok képzésére. Az ő megfigyelésüket erősíti meg *Cronkite* beszámolója is (32) a sugárzás utáni szakban észlelt fokozott agglutinabilitásról, bár ő ebben sem a heparinnak, sem a fibrinogén-B-nek (ez utóbbi viselkedését nem tanulmányozta) jelentőséget nem tulajdonít. A fibrinogén viselkedésével kapcsolatban in vitro kísérletekben megállapították (58, 59), hogy a fibrinogén igen sugárrezisztens, a rtg-sugár az alvadék kialakulásához szükséges gyököket nem károsítja.

Jacobs és *Cronkite* (48, 50) sem az Ac-globulinban, sem a prothrombin-és prothrombin conversion accelerator szintben nem találtak változást, viszont kimutatták, hogy csökken a prothrombin felhasználás mértéke (25, 32, 48, 50) és ez a csökkenés paralell a thrombocytaszám csökkenésével. Mint a vér-alvadás tényezőinek ismertetésénél már mondtuk, az irodalomban közölt szerzők szerint más és más elnevezésű „accelerátor” globulinok azonosak (5), így az előbbieken említett Ac-globulin- és prothrombin conversion accelerator (SPCA) változatlansága lényegében a prothrombin acceleratorok sugárresistentiája mellett szólnak. *Verwilghen* és *Peremans* már idézett közleményükben (39) az előbbi szerzőkkel ellentétben prothrombin idő megnyúlást és Ac-globulin szint csökkenést észleltek, eredményeik megegyeztek a prothrombin felhasználás viselkedésével kapcsolatban. Míg *Cronkite*-ék paralellitást találtak a prothrombin felhasználás és thrombocytaszám között, *Verwilghen* és *Peremans* hasonló paralellitást észlelt a recalcifikálás, thrombocytaszám és prothrombinfelhasználás között. *Cronkite* és munkatársai (39) a prothrombinfelhasználás és thrombocytaszám viselkedésének paralellitását nem találta meg a normalizációs folyamatokban, ahol a prothrombin felhasználás gyorsabban tér vissza a normál szintre. Véleményük szerint a különbséget az antikoaguláns titer emelkedése hozza létre, mely csökkenti a thrombocytá aktivitást. Emberi krónikus röntgenártalomban *Kaufmann* és *Peirce* (81) a prothrombin idejének elnyúlását észlelték és a prothrombin-idő viselkedését, mint egyik legérzékenyebb haematológiai indikátort, nevezik meg.

Égés és sugárzás kombinációjánál (88) a prothrombin-idő viselkedésében lényeges változásokat nem észleltek.

A thrombocytopenia mellett csökkent retrakciós képességről, megnyúlt alvadási-, prothrombin-, és recalcifikálási időről számol be *Rosenthal* és *Benedek* (38, 60), recalcifikálási idő elnyúlást észleltek *Stender* és *Elbert* (41) is. Mint már említettük, a retrakciós idő mind egyszeri, mind ismételt sugárzászt követően elnyúlik (38, 39, 54, 55, 81).

Cronkite (32) megerősítette *Holden* és munkatársainak eredeti megállapítását (43) a sugárzás hypothromboplastinaemiát okozó hatására, szerinte még további vizsgálatok szükségesek a plazmakinázé sugárzás utáni viselkedésének pontos tisztázására. Az antihaemophyl-globulin viselkedésében változásokat nem észleltek (47).

A thrombocytár eredetű vasoconstrictorok szintjének és hatásának változására kísérletek nem történtek, ismeretes azonban, hogy adásuk a túlélési időt növeli (64, 65).

A thrombinos alvasztási idő változását és ennek toluidinkékkal, vagy protaminsulfáttal való befolyásolását nézték, *Kovács* és munkatársai, valamint *Stender* és *Elbert* (41, 52) megállapítva, hogy a thrombin-idő elnyúlik, ez az elnyúlás azonban fenti két anyag hozzáadásával lerövidíthető.

● A sugárzást követő haemorrhagiás syndroma egyik legvitatottabb kérdése a heparinaemia. *Allen*, *Jacobson* és *Haley* (36, 37, 66, 67, 68, 69) kutyákon és nyúlón végzett kísérletekben a megnyúlt alvadási időt heparinantagonistákkal (toluidinkék, protaminsulfát) in vitro normalizálni, in vivo jelentősen csökkenteni tudták, ennek alapján azt a tézist vetették fel, hogy a postradiációs haemorrhagiás syndroma egyik oka a hyperheparinaemia. *Allen* szerint fennáll annak lehetősége is, hogy a heparinon kívül más antikoaguláns anyag is szerepet játszik az alvadászavarban (37), a heparinaemia fellépésében a sugárhatásra jelentkező túlérzékenységi választ lát (56), nem közvetlen sugárhatásnak tulajdonítja a heparin megjelenését. *Monkhouse* (70) szerint az anaphylaxia okozta heparinszintet az irradiatio nem tudta befolyásolni. *Allen* (37, 56) megállapította, hogy az alvadászavar előbb fejlődik ki, mielőtt a thrombocytopenia oly fokot érne el, hogy ezt megmagyarázhatná. Igazolja ezt az is, hogy az alvadási idő elnyúlása előbb jelentkezik, mint a vérzési idő (megfelel ez annak az ismeretnek, hogy a thrombocytopenia a vérzési időt elnyújtja, az alvadási időt nem befolyásolja), valamint, hogy az alvadási idő előbb normalizálódik, mint a thrombocytaszám. Az alvadási idő elnyúlását tehát valamely antikoagulánsnak kell okoznia, melyet a transfúzió sem tud befolyásolni, sőt kísérleteik szerint a transfúzió egy újabb antikoaguláns hatást eredményez, mely nem azonos az elsődleges, radiatio után jelentkező antikoagulánssal.

Cronkite (48) a Bikini test alkalmából ökrökön heparinaemiára utaló jeleket talált, későbbi vizsgálataiban azonban megállapította, hogy az alvadászavar csak akkor lép fel, midőn a thrombocytaszám eléri a 25 000-et. Megerősítette viszont *Allen* eredeti megállapítását a toluidinkék és protaminsulfát alvadási időt normalizáló hatásáról. Vizsgálatai során azonban keringő antikoaguláns felszaporodást nem tudott kimutatni.

Az *Allen* által felvetett „heparin“ teória mellett szól *Copley* (51) és *Kovács* (52) heparinindukált thrombocytáagglutinációs megfigyelése. *Geszt*, *Kovács* és *Noll* (52) toluidinkékkal a thrombinos alvadási időt rövidíteni tudták, megfigyelésük szerint nem tiszta heparinaemiáról van szó, mert kimutatható a vérben antiheparinikumokkal nem megköthető antikoaguláns anyag is (53). Ugyancsak a keringő antikoaguláns részbeni szerepe mellett foglalt állást *Stender* és *Elbert* (41), akik mind az alvadási, mind a thrombinidőt toluidinkékkal és protaminsulfáttal rövidíteni tudták, kísérleteik szerint a harmadik napon biztos antithrombin felszaporodást lehetett észlelni. *Kovácsék*hoz hasonlóan a késői szakaszban az antiheparinikumok hatása gyengül, e tényből azonban nem vonnak le további következtetést. A keringő antikoaguláns szerepe mellett foglal állást *Verstraete* (57) is.

A heparin-elmélet mellett szól *Sylden* és *Campani* (71, 72) megfigyelése a postradiációs szakban bekövetkező mastocytá-szétetéséről és szemcsetartalmuk kiürüléséről, valamint az ezt követő antikoaguláns hatásról. Mindezek ellenére kísérleti állataikból nem tudtak heparint izolálni. *Kelsall* és *Crabb* (73) hörcsögthymusban post radiationem mastocytá felszaporodást észleltek, *Smith* és

Lewis (74) hörcsög és majom mesentériumban sugárzás után, hasonlóan *Sylden* és *Campani* megfigyeléseihez, mastocytá szétesést észleltek. Mindezek alátámasztják a heparinliberáció lehetőségét.

Ugyancsak *Smith* és *Lewis* leírják (85), hogy 600 r-el besugárzott hörcsögök-nél már a besugárzás után 3 nappal jelentősen növekszik a kóros, vacuolisált, felbomlott granulációjú sejtek száma, ami a tizedik napra éri el maximumát, csökken az össz-mastocytaszám is. A normalizálódás 33 napon túl nyúlik. Ugyanilyen jelenségeket észleltek a 600 r-el besugárzott patkányok bőr alatti kötőszövetének és mesentériumának mastocytáinál is. A mustárnitrogén a mastocytaszám és mastocytadegeneráció szempontjából is radiomimetikus hatásúnak bizonyult (86).

Az eddigiekben azokat az irodalmi adatokat ismertettük, melyek a „heparin“, illetve „keringő antithrombin“ teória mellett foglaltak állást. A következőkben azokat az adatokat tekintjük át, amelyek e teóriát cáfolni igyekeznek.

Allen és *Jacobson* megfigyeléseit (36, 66, 67) laboratóriumi viszonyok között több szerző nem tudta megerősíteni, így *Holden* és munkatársai (43), *Rosenthal* és *Benedek* (38, 60) és *Cronkite* (32). Meg kell azonban jegyezni, hogy *Cronkite* véleménye szerint, ellentétben saját laboratóriumi kísérleteivel is, a bikini kísérletek *Allen* és *Jacobson* elképzelését látszanak alátámasztani.

Rosenthal és *Benedek* a sokak által idézett nyúlkísérletekben (38), majd később tengeri malacon (60) plazma rekalcifikálási testtel dolgozva, különböző toluidinkék koncentrációk mellett nem tudták alvadási idő rövidülést kapni, sőt heparinantagonista hatás helyett, hasonlóan a kontrollkísérletekben adott heparinhoz, a toluidinkékes rekalcifikálás alvadási ideje elnyúlt, tehát heparinhatásúnak bizonyult.

Hasonló heparinaemia-ellenes álláspontot foglalt el kutyakísérletek alapján *Verwilghen* és *Peremans* (39), *Holden* (43) és *Verwilghen* (40), patkánykísérletek alapján pedig *Cohn* (75), végül öszvéreken végzett kísérletek alapján *Trum* és munkatársai (44).

Cronkite a „Macy Foundation“ ötödik konferenciáján tartott beszámolójában (32) kutyakísérletei alapján kimutatta, hogy nem észlelhető erős, a véralvadás második fázisára ható antikoaguláns, sem az aspecifikus antikoagulánst kimutató *Conley* test (76), sem a *Le Roy* (77) és *Allen* (68) féle heparinspecifikus protamintitrációs testtel vizsgálva. Ugyanakkor kijelenti, hogy mind a toluidinkékkel, mind protaminszulfáttal az in vitro alvadási időt rövidíteni lehet. In vivo beadás után ugyancsak rövidülést kaphat az alvadási időben, a prothrombin-felhasználásban azonban nem. Az antiheparinikumok adása a túlélési időt nem befolyásolja. (48) Álláspontját abban lehet összefoglalni, hogy a vérzékenység főoka a koagulációs tényezőkön belül a thrombocytopenia, mely hypothromboplastinaemiát, elnyúlt, retractiót, csökkent prothrombin-felhasználást eredményez, s amelyet lemezke-transzfúzióval korrigálni lehet. A vérzés pathogenezisében szerepet tulajdonít a heparinaemiának is, de nem mint vezérmotívumnak (48). Legutóbb megjelent közleményében *Cronkite* (89) a thrombocytár aktivitás csökkenésének okát a keringő antikoaguláns felszaporodásában látja.

Patt (78) szerint a keringő antikoaguláns relative kis szerepet játszik a vérzékenység kifejlődésében, a fontos szerepet a *Jackson* és munkatársai által leírt (33) thrombocytopenia és prothrombin felhasználási defektus képezi. Hasonló megfigyelésekről számol be *Monkhouse* (0) ismételt gamma-radiatio és *Ferguson* (79) Au¹⁹⁸ mérgezés kapcsán.

Tocatis (49) szintén a thrombocytopeniát tartja fontosabbnak, emellett szerepet játszik az antihromboplastin felszaporodás, mely önmagában nem okoz

nagymértékű alvadászavart. Ez utóbbira vonatkoztatva kísérletei alátámasztják Allen túlérzékenységi teóriáját (56).

A heparinaemia-ellenes álláspont egyik alapelgondolása az, hogy nem sikerült kémiai úton a heparinszint emelkedését kimutatni. Meg kell azonban említenünk, hogy a heparinaemiával szembeni álláspontot elfoglaló szerzők — bár a heparinaemia lehetőségét, vagy jelentőségét tagadják — felvesznek kísérleteik alapján egy olyan áthidaló lehetőséget, hogy ha heparinaemia nincs is, de „keringő antikoaguláns“ anyag felszaporodás van.

Az elmondottakban kívántuk összefoglalni a postradiatios haemorrhagiás syndromán belül jelentkező alvadászavarral kapcsolatos irodalmi adatokat. A továbbiakban rátérünk saját kísérleteinkre, melyeknek alapfeladatául azt a célt tűztük ki, hogy ugyanazon állatfajon belül rendszeresen végigvizsgáljuk különböző sugárdózisok után létrejövő alvadásváltozásokat.

Metódika

Kísérleti állatként hybrid albino nyulakat használtunk fel. Az állatok súlya 2100—3300 gr. között váltakozott 2750 gr. átlagsúlyban. Egy-egy kísérletsorozatban általában 10 állat szerepelt.

A besugárzást Siemens gyártmányú „Stabilivolt“ mélyterápiás röntgenkészülékkel végeztük, padra kikötött állatokon, dorsoventrális irányban. A besugárzás adatai: 180 kV feszültség, 15 mA áram, 0,5 mm Cu-szűrő, 50 cm fókusztávolság, 45—43 r/perc teljesítmény.

A vérvétel szívpunkcióval történt, a besugárzás előtti napon és a besugárzás után minden esetben a meghatározott napokon, (1, 2, 3, 4, 6, 10, 14, 21, 28 nappal a besugárzás után) 4 ccm vért vettünk savómintának és 4 ccm vért 3,8%-os Na-citráttal plasmaminta céljára. Testplasma céljára minden esetben citrátos normál nyúlplasmát használtunk fel. A vérvétel kevés kivételtől eltekintve a bal szívfélből történt. A vérmintákat kb. 20 percnyi állás után 3000 fordulatszámmal 15 percg centrifugáltuk.

Az alvadás vizsgálatára az Országos Vértranszfúziós Szolgálat Központi Kutató Intézete által standardizált koagulogrammot végeztük (90) néhány módosítással. A 12 tényezőös koagulogrammal végzett kezdeti vizsgálatok ugyanis azt mutatták, hogy egyes testeket az adott metódus nagy szórása, illetve kísérleti állataink adottságai miatt nem tudunk, vagy nem érdemes elvégezni, ugyanis a túlzott anaemizálás elkerülése miatt csak kis mennyiségű vért vehettünk és így a nagyobb mennyiségeket igénylő módszereket el kellett hagynunk. Nem látszott érdemesnek továbbá olyan testekkel foglalkozni, melyekre vonatkozóan az irodalomban már számos szerző által megerősített egyöntetű eredményeket találtunk.

Valamennyi vizsgálatnál az első fibrinszál megjelenéséig eltelt időt mértük sec-ben. A felhasznált metódusok a következők voltak:

a) Rekalcifikálási idő: 0,1 ml vizsgálandó citrátplasma + 0,1 ml 0,27%-os CaCl_2 .

b) Prothrombin időt: Quick szerint (97) határoztuk meg: a prothrombint főlös mennyiségű tüdőkinaseval [Fiam és Makó (91)], Ca-pótlás mellett aktiváljuk: 0,1 ml vizsgálandó plasma + 0,1 ml 0,27%-os CaCl_2 + 0,1 ml tüdőkinase. A vizsgálatokat 40—42 C°-on vízfürdőben végezzük. Az eredményeket abszolút időben adtuk meg.

c) A savó alvadásgyorsító hatása: Horn — Kovács és Altmann (92) módszere szerint az Ac-globulin hatását határoztuk meg: A-kontrollkeverék: 0,1 ml test plasma + 0,1 ml fiziológiás NaCl + 0,1 ml 0,27%-os CaCl_2 + 0,1 ml tüdő-

kinase. B-vizsgáló keverék: 0,1 ml testplasma + 0,1 ml vizsgáló savó + 0,1 ml 0,27%-os CaCl_2 + 0,1 ml tüdőkinase. Ezt a vizsgálatot is 40—42 C°-os vízfürdőn végezzük.

d) Thrombinos alvasztási idő: A vizsgálatokat frissen készített 25 mp alatt alvasztó thrombinoldattal végezzük: 0,1 ml vizsgáló plasma + 0,1 ml desztillált víz + 0,1 ml 25 mp-es thrombinoldat.

e) Thrombinos alvasztás toluidinkék jelenlétében: a vizsgálatokat teljesen az előző módszer szerint végezzük, de a keverékbe a deszt. víz helyett 0,1 ml 0,1%-os toluidinkék oldatot adunk.

f) Thrombin inaktiválás sebességének meghatározása: a vizsgálatokat *Gerendás* (93) módszere szerint végezzük. A vizsgáló keverék 0,3 ml vizsgáló savó + 0,1 ml deszt. víz + 0,3 ml 10 mp-es thrombinoldat. Ezt az elegyet a thrombin hozzáadása után inkubáljuk és 1, 2, 3, 4, 5 perccel a thrombin hozzáadása után 0,1 ml-t kiemelünk és a testelegyhez adjuk, amely 0,1 ml testplasma és 0,1 ml deszt. víz keveréke. A reakciósebességet (K-érték) grafikus úton, logaritmuspapíron határozzuk meg.

g) Thrombin inaktiválás sebessége toluidinkék jelenlétében: az előzőhöz hasonlóan végezzük, de az inkubációs elegyben a deszt. vizet 0,1 ml 0,1%-os toluidinkék oldattal helyettesítjük. *Gerendás, Csefko és Udvardy* (94) kimutatták, hogy a thrombin inaktiválását a heparin végzi, amit *Jaques* (5) egyik legérzékenyebb heparinkimutatási testnek tart. Ezért szükségesnek láttuk vizsgálni azt, hogy a toluidinkék milyen mértékben tudja csökkenteni a thrombineltűnés sebességét. A kísérletek leírásánál az inaktiválás reakciósebességét K_1 -el, a toluidinkés inaktiválás reakciósebességét K_2 -vel jelöljük.

h) Labilis fibrinogén (Fibrinogen—B) kimutatása: A *Lyons* (95, 96) által leírt labilis fibrinogén 4%-os β -naphtolos kicsapással határoztuk meg, oly módon, hogy 1,0 ml vizsgáló plasmához 5 csepp β -naphtol oldatot adunk, összekeverjük majd 10 perc inkubálás után leolvassuk a zavarodás mértékét. A reakció pozitívitasát keresztekkel jelöljük.

Ismételt vérvétel hatása normál állatok véralvadásának egyes tényezőire

Tekintettel arra, hogy a metodikai részben ismertetett és minden esetben időmérésen alapuló metódusokra állatstandardok nincsenek megállapítva, a besugárzásos kísérletek megkezdése előtt meg kellett állapítanunk a kísérletekhez felhasznált nyulak vizsgálati értékeinek átlagos normáltényezőit. A későbbiekben ismertetendő besugárzásos kísérletek, mint már említettük, ismételt vérvétel követelnek meg, felmerül tehát annak a lehetősége, hogy az ismételt vérvételek önmagukban is változást okozhatnak egyes alvadási tényezőkben, ami a besugárzásos kísérletek értékelését zavarhatná. Szükségesnek látjuk ezért a fő-kísérletek tervezett vérvételi időpontjainak megfelelő időközökben normál állatoktól vérmintát venni és azt az egyes alvadási tényezők viselkedése szempontjából megvizsgálni.

Az ismételt vérvételre vonatkozó vizsgálatokat 13 db átlagosan 2500 g súlyú albino nőstény nyúlra végeztük. A nyulak alvadási értékeinek standardjait az összes kísérletek első napi (önkontroll) értékeiből 60 állaton határoztuk meg.

1. Nyulak normál alvadási értékei.

Az általunk használt alvadási metódusokkal a fentebb említett 60 állat önkontroll értékeiből meghatározott véralvadási középértékeket tekintettük a következőkben normálértékeknek. Ezeket az értékeket az 1. táblázat tünteti fel.

1. táblázat.

Nyulak normál alvadási értékei

Thrombin inaktiválás K ₁ /K ₂ értékben	Thrombin idő	Tol. kék idő	Prothr. idő	Savó-hatás	Rekal-cinálás	Fibri-nogen B poz.
K ₁ = 0,50 ± 0,07	23	16	16	16	185	Ø
K ₂ = 0,20 ± 0,04	±4	±4	±5	±6	±35	

2. Ismételt vérvételek hatása.

Az említett 13 db állaton az első (önkontroll) vérvételt követő 1, 2, 3, 4, 6, 10, 14, 21, és 28 nappal vettünk vért és határoztuk meg az alvadási faktorokat. A kapott eredményeket a 13 állat átlagértékében a 2. táblázat tünteti fel. Ezeknek a vizsgálatoknak eredményeit az egyes alvadási tényezőkre a következőkben külön-külön értékeljük.

2. táblázat.

Normál nyulak alvadási tényezőinek változása ismételt vérvételnél

Vizsgálati napok	Thrombin inaktiválás K ₁ /K ₂	Thrombin idő	Tol. kék idő	Prothr. idő	Savó-hatás	Rekal-cinálás	Fibri-nogen B poz.
Norm.	0,59/0,24	23	15	20	20	252	Ø
1	0,51/0,18	22	16	19	16	213	+
2	0,50/0,13	23	16	15	11	226	+
3	0,48/0,09	21	17	19	14	180	Ø
4	—	—	—	—	—	—	—
6	0,84/0,33	29	23	23	18	—	Ø
10	0,99/0,36	22	14	19	13	—	Ø
14	0,79/0,34	23	15	20	14	—	Ø
21	0,81/0,18	22	18	29	21	—	Ø
28	0,83/0,41	25	23	28	15	—	Ø

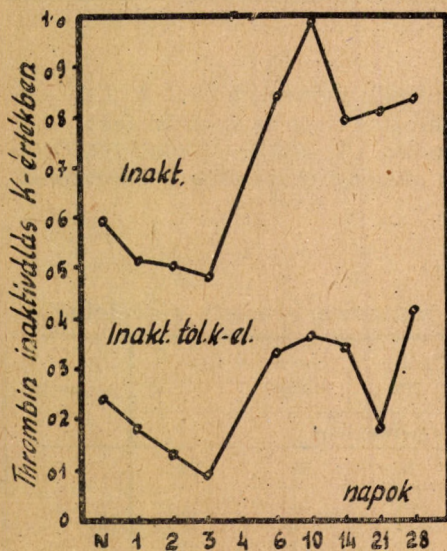
Megjegyzés: A 14., 21., 28. napi értékek 2 állat eredményei.

a) Thrombin inaktiválás.

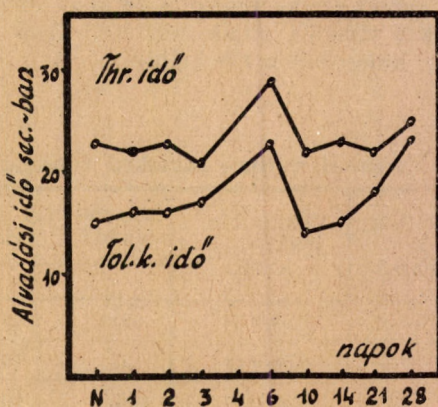
A vizsgálat 28 napja alatt a thrombineltűnés reakciósebessége változik (7. ábra). Az első négy napban a reakciósebesség kissé csökken, de ez a csökkenés a normál értékek szélső határain belül van. Ugyancsak kismértékű, a hibahatáron belül mozgó csökkenést mutat a toluidinkék jelenlétében végzett inaktiválás vizsgálata is a fenti időhatárokon belül. *Hetényi* és *Varga* (98) kutyakísérletek kapcsán fájdalominger hatására inaktiváláscsökkenésről számoltak be, mely az inger bekövetkeztétől számított 30–40 percen át tart. Néhány állaton a kísérletet 1 hét múlva megismételve a nyugtalanul viselkedő állatok kezdeti thrombin-

inaktiválási értéke inger nélkül is alacsonyabb volt. Ennek alapján feltételezhető, hogy az általunk az első napokban észlelt minimális inaktiváláscsökkenést a szívunctióval járó fájdalominger okozhatta.

A hatodik naptól kezdődően a thrombineltűnés sebessége fokozódik, maximumát a tizedik napon éri el, de továbbra is a normálisnál magasabb szinten marad a kísérlet végéig. Tekintettel arra, hogy a 14—28 napok közötti vizsgálatok már csak két állaton folytak, az itt kapott eredményeket nem tekintjük véglegesnek.



7. ábra.



8. ábra.

Figyelemreméltónak tartjuk, a toluidinkékes inaktiválás hatodik napon túli viselkedését. Gerendás és munkatársai kimutatták, hogy a thrombin inaktiválódása ferment folyamat, melynél a ferment protein részének a vér albuminfractiójának egy része, a prostheticus csoportnak a heparin felel meg (93, 94, 99, 100, 101). Fiam és Makó vizsgálatai szerint az albuminfractió azonos a kompletment C₂ frakciójával (102) Jorpes (103) a heparin-toluidinkék kötést specifikusnak tartja. A thrombin inaktiválási testtel kapcsolatban Gerendás, Horn és munkatársaik (93, 94, 100, 104, 105, 106) megállapították, hogy a thrombin eltűnésének sebességét toluidinkékkel, ennek koncentrációjától függően lassítani lehet.

Kísérleteinkben a hatodik naptól kezdődően a toluidinkékes inaktiválások ideje jelentősen megnőtt. Ez arra enged következtetni, hogy az ismételt vérvétel okozta inaktiválás fokozódás nem tisztán heparin eredetű, mert a rendszerhez adott 0,1 ml 0,1%-os toluidinkék oldat az inaktiválásban jelentkező heparinszaporulatot blokkírozni tudja.

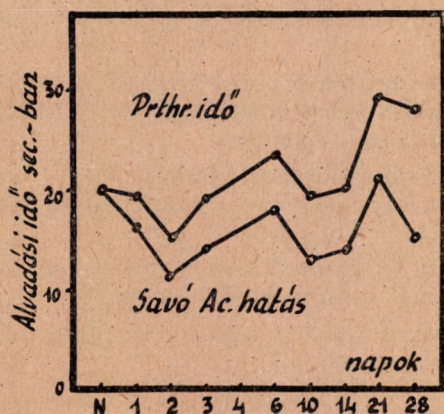
b) Thrombin és toluidinkék idő.

Az ismételt vérvétel a thrombinos alvasztás idejét nem változtatja meg lényegesen (8. ábra). A hatodik napon kisebb elnyúlás tapasztalható, de ez is a hibahatárokon belül mozog. A hatodik nap kivételével ugyancsak változatlanok kell tekinteni a toluidinkék időt is, de ki kell emelnünk, hogy a toluidinkék

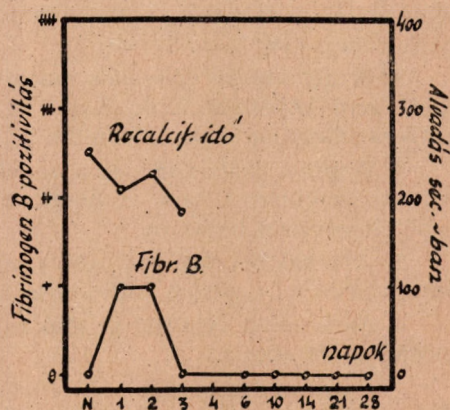
idő majdnem párhuzamosan mozog a thrombinidővel, tehát ugyanúgy viselkedik, mint az inaktiválási testben, a thrombinidő kifestő megnyúlását sem tudja blokkolni. Tekintettel arra, hogy sem a thrombineltűnés, sem a thrombinidő toluidinkéssel nem volt teljes mértékben csökkenthető, arra kell következtetnünk, hogy az ismételt vérvétel toluidinkéssel alig, vagy egyáltalán nem közbősíthető antikoaguláns anyag kisebbfokú felszaporodásával jár. Ebben az irányban még további vizsgálatok szükségesek.

c) Prothrombin idő és savóhatás.

A prothrombin felhasználási idő és a savó alvadást gyorsító hatásának ideje a vizsgálat 28 napja alatt egymással párhuzamosan mozog és a kísérlet vége felé kifestőben elnyúlik (9. ábra). Bár a 14. naptól csak 2 állaton folytak



9. ábra.



10. ábra.

a vizsgálatok, megállapíthatjuk, hogy az ismételt vérvétel sem a prothrombin szintet, sem az Ac-globulin szintet nem változtatja meg lényegesen.

d) Rekalcifikálási idő.

Kísérleteink során a legkevésbé használható vizsgálati módszernek a rekalcifikálási időt találtuk, mivel csak igen nagy szélső határok között lehet értékelni. Embernél a normál értékeket 180—250 sec.-ban adják meg. Ez kb. megfelel a nyúlón található szélső értékeknek. Tekintve a nagyfokú ingadozásokat, a rekalcifikálás vizsgálatát csak az első 4 napban végeztük el. Ezeknek a vizsgálatoknak eredményei szerint a rekalcifikálási idő átlagértéke a határértéken belül fokozatosan csökken (10. ábra). Számszerűen azonban az esetek egyenlően oszlanak meg a változatlan és csökkenő értéket mutató esetek között. Hasonló rekalcifikációs idő-változásokat észlelt nyúlkísérletben Rosenthal és Benedek (38) is.

e) Labilis fibrinogen (fibrinogen—B).

A Lyons által leírt (95) labilis fibrinogen (profibrin) normál viszonyok között nem fordul elő a keringésben, megjelenik azonban keringési zavarok, májártalmak, shock, sugárártalom stb. következtében (52, 107, 108). Vizsgálatainkban tehát azt kívántuk tisztázni, hogy az ismételt vérvétel kiváltja-e a labilis

fibrinogen megjelenését. Azt találtuk, hogy a kezdeti vérvételek (az első három napon) kismértékű átmeneti pozitívítást eredményeznek (10. ábra), feltételezhetően a szívpunkció okozta inger következményeként. A labilis fibrinogen megjelenésének kérdésére a későbbiekben még vissza fogunk térni.

Összefoglalás

Normál nyulakon megállapítottuk több véralvadási tényező alapértékeit. Vizsgáltuk ezenkívül 28 napon át végzett ismételt vérvétel hatását a véralvadási tényezők változására. Ezek során a következő eredményekre jutottunk:

1. A thrombin eltűnésének sebessége a hatodik naptól kezdődően fokozódik, ez a fokozódás toluidinkékkel nem ellensúlyozható teljes mértékben.

2. A thrombin-alvasztási és a toluidinkékes thrombin-alvasztási idő nem változik számottevően. A thrombinidő kismértékű elnyúlását a toluidinkék idő párhuzamos elnyúlása követi.

3. A két előbbi vizsgálati metódus toluidinkékes paralelljének viselkedéséből arra következtetünk, hogy az ismételt vérvételnél jelentkező kismértékű antikoaguláns hatás nem tekinthető tisztán heparinhatásnak.

4. A prothrombin idő és a savóhatás viselkedése azt mutatja, hogy sem a prothrombinszint, sem az Ac-globulin mennyisége nem változik lényegesen ismételt vérvétel hatására.

5. A rekalcifikálási idő labilis, nehezen értékelhető eredményeket ad. Ismételt vérvétel hatására ingadozása a normál határok között marad.

6. Az ismételt vérvétel az első napokban kis mennyiségű labilis fibrinogen megjelenését okozza.

Подполк. мед. службы д-р Б. Фиам, подполк. м/сл. д-р П. Решофски:

ИЗМЕНЕНИЯ СВЕРТЫВАЕМОСТИ КРОВИ ПОСЛЕ ПОЛНОГО ОБЛУЧЕНИЯ КРОЛИКОВ РЕНТГЕНОВСКИМИ ЛУЧАМИ

1.

Принципиальные основы опытов: исследование свертываемости крови у здоровых животных.

Авторами устанавливались основные показатели некоторых факторов свертываемости крови у нормальных кроликов. Далее обследовалось влияние повторных кровоспусков в течение 28 дней на изменения факторов свертываемости крови. Полученные результаты следующие:

1. Скорость исчезновения тромбина увеличивается начиная с 6-го дня и это увеличение полностью не компенсируется толудиновой синькой.
2. Время свертываемости тромбина и время свертываемости тромбина с толудиновой синькой не изменяется значительным образом. За незначительного удлинения времени тромбина параллельно злеует удлинение времени толудиновой синьки.
3. Из вышеуказанных двух методов исследования следует, что небольшое антикоагулирующее влияние нельзя считать чистым влиянием гепарина.
4. На основании исследования времени протромбина и влияния сыворотки устанавливалось, что уровень протромбина и количество Ас-глобулина значительно не изменяются после повторных кровоспусков.
5. Время рекальцификации является любильным и результаты исследования оцениваются с трудом. Колебания этих показателей после повторных кровоспусков остаются в пределах нормальных границ.
6. В первые дни после повторных кровоспусков обнаруживается лабильный фибриноген в небольшом количестве.

ÜBER DIE VERÄNDERUNGEN DER BLUTGERINNUNGSFAKTOREN INFOLGE
GANZKÖRPERBESTRAHLUNG BEI KANINCHEN

I. Die prinzipiellen Grundlagen der Versuche: Blutgerinnungsuntersuchungen
an gesunden Versuchstieren

Zusammenfassung: Verff. stellten an gesunden Kaninchen die Normalwerte mehrerer Gerinnungsfaktoren fest. Ausserdem untersuchten sie die Wirkung während 28 Tage wiederholter Blutentnahmen auf die Gerinnungsverhältnisse. Sie stellten fest:

1. Vom sechsten Tage beginnend steigt die Reaktionsgeschwindigkeit der Prothrombinaktivierung, eine Erscheinung, die durch Toluidinblau nicht vollkommen aufgehoben werden kann.

2. Die Thrombingerinnungs- und Toluidinblau-, sowie die Thrombingerinnungszeit wird nicht wesentlich geändert. Die geringgradige Verlängerung der Thrombinzeit wird durch die gleichzeitige Verlängerung der Toluidinblauzeit gefolgt.

3. Aus dem Verhalten der Toluidinblauparallele beider Verfahren kann der Rückschluss gezogen werden, dass die nach wiederholten Blutentnahmen auftretende geringgradige Antikoagulationswirkung nicht einfach für Heparinwirkung gehalten werden kann.

4. Aus dem Verhalten der Prothrombinzeit und der Serumwirkung kann gefolgert werden, dass nach wiederholten Blutentnahmen weder der Prothrombinspiegel, noch die Ac-Globulinmenge wesentlich ansteigt.

5. Die Rekalzifikationszeit ergibt labile, schwer verwertbare Resultate. Nach wiederholten Blutentnahmen schwankt sie im Normalbereich.

6. Die wiederholten Blutentnahmen ziehen während der ersten Tage das Auftreten kleiner Mengen von labilem Fibrinogen nach sich.

Véralvadási tényezők változása nyulak teljestest röntgen-besugárzása után

II. Vizsgálatok 1700 r besugárzást szenvedett állatokon

Írta: Fiam Béla dr. és Resofszki Pál dr.

Közleményünk első részében részletesen ismertettük a postirradiations haemorrhagiás syndroma alatt jelentkező alvadászavarral foglalkozó irodalmat. Megállapítottuk, hogy a szerzők túlnyomó többsége különböző állatfajokon *vérzéseket, vérzési és alvadási idő* megnyúlást észlelt (1, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 62, 63, 80, 81, 82, 83, 88). Az előbbiekhöz hasonlóan azonosak az észlelések a *thrombocytaszám* csökkenéssel (20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 38, 39, 40, 46, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 61, 81, 84, 88, 89), valamint a thrombocytaműködésével kapcsolatos *retractio*s idő elnyúlással kapcsolatban is (38, 39, 54, 55, 60, 81).

A *fibrinogen* szint változatlan, maga a fibrinogen molekula erősen sugárrezisztens, erős sugárkítétel után a keringésben labilis fibrinogen jelenik meg (33, 46, 52, 58, 59).

A *prothrombin* viselkedésével kapcsolatban már nem egységesek az eredmények. A kutatók egy része a prothrombin időt változatlannak (33, 38),