

Adatok a sugár-anaemia kialakulásához*

Írta: Sztanyik László dr. orvosórnagy és Mándi Erika.

Már régen általánosan elfogadott vélemény, hogy a magasabbrendű szervezetek sugárkárosodása leghamarabb a vérkép elváltozásaiban tükröződik. Hosszú ideig azonban csak a lymphoid és myeloid elemeket tartották érzékenyeknek. Az erythroid sor tagjait — az erythroblast kivételével — a sugárresistens, ill. a relative sugárresistens sejtek közé sorolták.¹ Ez mindenekelőtt azzal magyarázható, hogy kísérleti állatoknál a leukocyták gyors quantitativ és qualitativ változásaival szemben, az anaemia csak a sugársérülés 2—3. hetében manifesztálódik.²⁻⁵ Ugyancsak kb. ebben az időben fejlődött ki az anaemia a hirosimai és nagasaki atombombázás sérültjeinél is.⁶⁻⁷

A sugár-anaemia pathogenesisének kérdésében még nem alakult ki egységes vélemény. Mint ismeretes, a peripheriás vérben található vörösvérsejtek mennyiségét a fiatal erythrocyták keringésbejutásának és a kiöregedettek elpusztulásának üteme határozza meg.

Általánosan elfogadják, hogy az acut sugárbetegség kritikus periódusában, az *erythropoiesis laesioja* következtében erősen lecsökken az erythrocyta-képzés, és a fiatal vörösvérsejtek bekerülése a keringésbe. A perifériás vérből hamar eltűnnek a reticulocyták, a csontvelőből pedig az egyéb erythrocyta-precursorok. Ilyen módon az utánpótlás csökkenése, ill. teljes megszűnése, még a vvs-ek normális mérvű pusztulása mellett is, egyre fokozódó deficitet eredményez a perifériás vérben.⁸⁻¹²

Különösen sokat foglalkoztak az erythropoesisnek a besugárzás hatására létrejövő gátlásával a legutóbbi években. Radioaktív Fe⁵⁹, valamint C¹⁴-el jelzett glycin, ecetsav stb. beépülési adatai alapján az erythropoesist igen radiosensibilis folyamatnak kell tekintenünk.¹²⁻¹⁶

A sugár-anaemia kifejlődésében fontos szerepet játszó másik faktor az *érfalak fokozott permeabilitása és fragilitása*. Ennek következtében a vörösvérsejtek tömegesen lépnek ki az érpályából. A kikerült erythrocyták egy része a nyirokerekben át visszajuthat a keringésbe, nagyobb részük azonban a szövetek között szétesik, ami a bilirubin-kiválasztás jelentős fokozódásához vezet.¹⁷⁻¹⁸ Nagy méreteket ölthet a gastrointestinalis tractus kifeléelyesedése miatt létrejövő vérvesztés.

Egyáltalán nincs tisztázva az a kérdés, hogy a perifériás vérben keringő, *érett erythrocyták* szenvednek-e valamilyen sugárkárosodást, és hogy ez a sugárkárosodás hozzájárul-e a sugáranaemia kifejlődéséhez. A kutatók egy része azon az állásponton van, hogy az ionizáló sugárzás az érett vörösvérsejteket közvetlenül nem károsítja. Radioaktív Fe⁵⁹-el jelzett vvs-ek azonos sebességgel hagyják el a vérkeringést akár normál, akár besugárzott donorokból származnak.¹⁹

Más szerzők viszont olyan adatokat közölnek, amelyek a keringésben levő erythrocyták sugárérzékenysége, ill. sugárbehatásra létrejövő fokozott szétesése

* Részlet Sztanyik László—Gesztí Olga—Mándi Erika és Árký István: A haemoglobin változásai besugárzás hatására c., a M. N. Központi Kórháza tudományos konferenciáján, 1960. jan. 11-én elhangzott előadásból.

mellett tanúskodnak. Pl. besugárzott állatok vörösvérsejtjeinek thermicus ellenállását,²⁰⁻²¹ fotohaemolyticus resistenciáját²² és saponinokkal szembeni ellenálló képességét²³ csökkentek találták a normál vörösvérsejtekhez viszonyítva. Differenciál-agglutinációs kimutatták, hogy a besugárzott nyúlból származó vörösvérsejtek egészeséges nyúlba transfundálva sokkal gyorsabban pusztulnak el, mint a normálisak.²⁴

Előző közleményünkben²⁵ és a MÉT 1959. évi vándorgyűlésén beszámoltunk arról, hogy fluorescens methodikával nekünk is sikerült olyan korai elváltozást kimutatni letalis és subletalis dózissal besugárzott állatok vérében, amely feltehetően az érett vörösvérsejtek laesiójával függ össze. További vizsgálatainkban ezt a feltevésünket igyekeztünk megerősíteni. Jelen közleményünkben azokat az eredményeket ismertetjük, melyeket a haemoglobinsavas ún. „könnyen lehasadó” frakciójában kaptunk besugárzott állatoknál.

Methodika

Kísérleteinkhez 60 db 350—500 g súlyú, him és nőtény tengerimalacot használtunk. Besugárzás előtt és 611 r dózisu rtg. besugárzás után 24, 48 és 72 óra múlva meghatároztuk a teljes vér-vas (TVV) és a könnyen lehasadó vas (KVL) koncentrációját. A vérvétel minden esetben szívpunkcióval történt.

A besugárzást Siemens Tuto-Stabilivolt, mélytherápiás röntgenkészülékkel végeztük a következő feltételek mellett: 180 KVP, 15 mA, 0,5 mm Cu-filter, 50 cm távolságból teljes testre, 47 r/min. dózisteljesítménnyel, 13 percre.

A vér teljes vas-koncentrációját Wong methodikája szerint határoztuk meg: a vas cc. kénsavval és K-persulfáttal történő felszabadítása után, Na-wolframáttal fehérjementesítettünk, majd a szűrletben található vasat, K-rhodaniddal adott színreakciója alapján FEK-M típusú, kétfényeles fotométerben kolorimetráltuk.

A könnyen lehasadó vas meghatározásához Barkan eredeti eljárását²⁶ módosítottuk. Heparinnal alvadásmentesített vért (2 ml) 4-szeres mennyiségű dest. vízben haemolysáltunk, majd 5 ml 1,2 százalékos sósavat adtunk hozzá. Így a HCl végső koncentrációja 0,4 százalék volt. Thermostabban 37 fok C-on 24 óráig inkubáltuk. Ezután a fehérjét trichloreccetsavval kicsaptuk, centrifugáltuk, majd a supernatansból vasmeghatározást végeztünk a fentebb ismertetett eljárás szerint.

Eredmények:

Minthogy az irodalomban elég kevés adatot lehet találni a tengerimalacok normál értékeire vonatkozóan, kísérleteink első részében meghatároztuk azok normál TVV koncentrációját. Azt találtuk, hogy 12 állatnál 40,5 és 49,5 mg % között mozog. Középtértékben tehát $44,6 \pm 1,68$ mg %. Ez a TVV koncentráció haemoglobinra átszámítva (a Hb 0,034% vasat tartalmaz) 12—14,6 g %-nak felel meg, azaz közepesen 13 g % haemoglobint jelent. Valamivel alatta van az irodalomban megadott 14—17 g %-os Hb. koncentrációnak.

Ugyanazon állatoknál a TVV-al egyidejűleg meghatároztuk a könnyen lehasadó frakciót is. A kapott értékek 1,92 és 3,02 mg % között ingadoztak. Középtértékük $2,52 \pm 0,119$ mg %. Ezek alapján tengerimalacoknál a KLV a TVV 4,3—6,7%-át, közepesen 5,65%-át teszi ki. Barkan csak emberekre és kutyákra vonatkozóan ad meg KLV koncentrációt, mégpedig első közleményeiben úgy, hogy az össz-vas 1/18—1/20 része (ami 5—5,5%), később 5—10%-a.²⁷

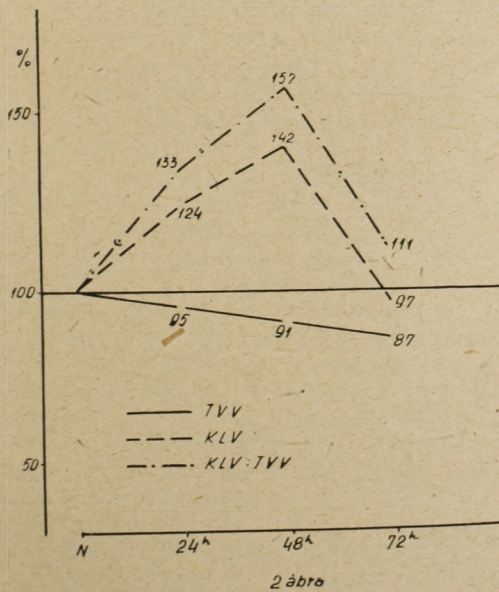
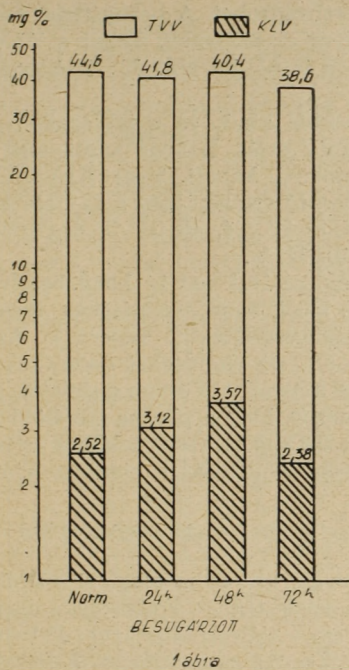
Statisztikai analysis alapján a methodika megbízhatónak látszott és az eredmények reprodukálhatóknak bizonyultak. Ezek után rátértünk a besugárzott állatok vizsgálatára. Mind a normál, mind a besugárzott állatokra vonatkozó adatokat egy táblázatba foglaltuk össze.

A táblázatban közölt adatokból mindenekelőtt az látható, hogy a besugárzott állatok TVV-koncentrációja kifejezetten csökkenő tendenciát mutat. Né-

	Normál		Besugárzott					
			24 ^h		48 ^h		72 ^h	
	TVV	KLV	TVV	KLV	TVV	KLV	TVV	KLV
	47,5	2,36	45,0	4,30	34,5	3,40	39,0	2,16
	40,5	2,00	41,8	3,02	41,0	3,95	43,1	2,73
	44,5	1,92	39,1	3,20	45,6	4,45	35,5	2,43
	49,5	2,18	43,2	2,85	45,0	3,54	38,2	2,33
	44,5	2,86	41,0	3,40	43,5	3,75	34,5	2,14
	43,0	2,68	44,5	2,96	43,2	3,65	41,8	2,53
	43,5	2,57	38,3	3,33	40,0	3,54	—	—
	45,5	2,78	42,6	2,80	43,1	3,06	—	—
	42,0	3,52	41,7	3,51	36,0	3,27	—	—
	45,5	2,89	39,5	2,76	37,2	3,50	—	—
	45,5	2,46	43,0	2,73	34,6	2,63	—	—
	44,5	2,50	44,5	3,20	39,0	4,00	—	—
	—	—	40,9	3,66	42,7	3,34	—	—
	—	—	44,5	2,66	39,5	4,50	—	—
	—	—	37,7	2,53	44,5	3,27	—	—
	—	—	—	—	37,2	3,40	—	—
	—	—	—	—	—	—	—	—
n	62	12	15	15	16	16	6	6
\bar{x}	44,6	2,52	41,8	3,12	40,4	3,57	38,6	2,38
$s_{\bar{x}}$	±1,68	±0,119	±0,62	±0,098	±0,93	±0,118	±0,98	±0,077
%	100	100	94,35	124,3	91,19	142,2	87,13	96,8
$\frac{KLV}{TVV}$ %		6,65		7,50		8,85		6,25
%		100		133		157		111

hány nap alatt a be nem sugárzott tengerimalacok 44,6 mg %-os középértékéről 38,6 mg %-ra esik. (lásd az 1. sz. ábrát is!) Ha a normál állapot TVV-koncentrációját 100%-nak vesszük, akkor az 1 napos besugárzottaké 94,35% —, a 2 napos besugárzottaké 91,19% —, a 3 naposaké pedig 87,13%. Ez az egyes napokon 5,65—3,47 ill. 4,66 %, közepesen 4,6%-os csökkenésnek felel meg (lásd a 2. sz. ábrát).

A TVV koncentrációjának csökkenésével szemben a KLV-koncentráció a besugárzott állatoknál a normál átlaghoz viszonyítva jelentősen emelkedik. Az emelkedés azonban nem végig egyenletes. Maximális koncentrációt a besugárzás után 48 óra múlva ér el, amikor a normál 2,52 mg % helyett közepesen 3,57 mg %-ot kapunk. A normál értéket ismét csak 100%-nak véve, 24 óra múlva 124,3%-ot, 48 óra múlva pedig 142,2%-ot észlelünk. Ezután a KLV koncentrációja kezd visszatérni a normál érték felé. A besugárzás utáni 72. órában a KLV. abs. mennyisége már valamivel kevesebb is, mint a normál állatoké. Itt azonban figyelembe kell vennünk, hogy a KLV koncentrációjának mg %-ban való kifejezése (ill. a saját normál értékéhez való %-os viszonyítása)



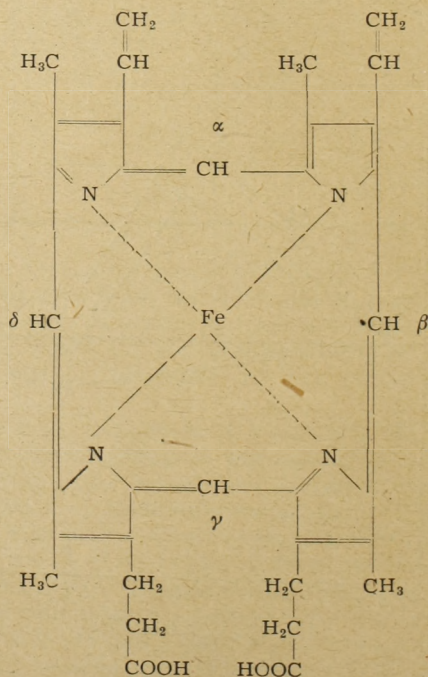
nem tükrözi a valóságos változásokat. A besugárzást követő napokban ugyanis a TVV koncentrációja egyre alacsonyabb. Tehát a KLV viszonylagos mennyisége még abban az esetben is nő, ha abszolút értékben emelkedést nem észlelünk.

A fenti megfontolásokból indulva a táblázatban és a 2. sz. ábrán a KLV-at a hozzá tartozó TVV érték %-ában adtuk meg és ezt az arányt viszonyítottuk a normál állapotknál kapott %-os KLV:TVV arányhoz, mint 100 %-hoz. Amint látjuk, ebben az esetben még a 72 órás érték is valamelyest magasabb, mint a normál állapotké. 24, 48 ill. 72 óra múlva a KLV:TVV arány %-os változása 133, 157. ill. 111 %.

Végül 11 állaton megvizsgáltuk azt is, hogy befolyásolja-e a kapott eredményeket, ha a TVV és KLV koncentrációjának meghatározását nem teljes vérből, hanem mosott vörösvérsejtekből végezzük. Az eredményekben csak egészen jelentéktelen (1—5 %-os) eltéréseket észleltünk, ami meg is felelt várakozásunknak, minthogy a plasma Fe-koncentrációja normális körülmények között 0,1 mg % körül mozog. Még a plasma vas-kötő kapacitásának teljes telítése esetén is mindössze 0,3 mg % vasat találunk a vérplasmában. Ennél pedig minden esetben nagyobb volt a KLV koncentrációjának emelkedése.

Az eredmények megbeszélése.

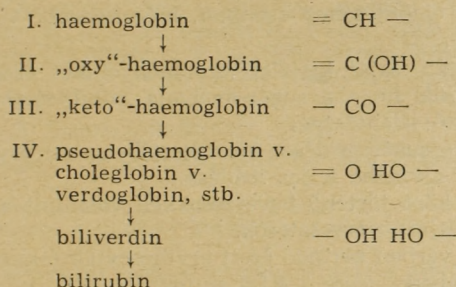
Jelenlegi ismereteink szerint a haemoglobin lebomlása bilirubinná több lépésben megy végbe. A vérfesték — epefesték átalakulási folyamat minden lépése azonban még ma sincs teljesen tisztázva. Feltételezik, hogy első lépésként a haemoglobin prostheticus csoportjában, a haemben



oxidálódik az alfa-helyzetű methén-csoport (I.) és ún. „oxy”-haemoglobin képződik (ez nem azonos az O₂-Hb-nal, melyben az oxigénmolekula a Fe-atomhoz kapcsolódik!), (II.). Második lépésben, további oxidáció során „keto”-haemoglobin (III.) keletkezik, s végül az alfa-methén-híd felszakad, de a porphyrin-gyűrű még megtartja eredeti alakját (IV.).

Mindezekben a molekulákban a prostheticus csoport változatlanul globinhoz kötött és középen Fe-atomot tartalmaz. A megnyílt gyűrűjú bomlástermékeket a különféle szerzők különbözőképpen nevezik: pseudohaemoglobinnak, choleglobinnak, verdoglobinnak stb. Feltételezik azt is, hogy az eddigi lebomlás még az erythrocytán belül, vagy legalábbis részben azon belül megy végbe.²⁸

Az alábbiakban ezen feltételezett haemoglobin-bilirubin átalakulás egyes lépéseit láthatjuk:



Barkan, aki a IV. közti terméket pseudohaemoglobinnak nevezi, biztosra veszi, hogy a haemoglobin lebomlása normális körülmények között is ezen az úton megy végbe. A pseudohaemoglobin lényeges sajátosságának tartja, hogy a gyűrű felszakadása következtében a protoporphyrin centrumában elhelyezkedő Fe-atom kötése labilisabbá válik és már 0,4%-os sósav hatására kiszakítható. Ez az ún. „könnyen lehasítható vas”. Feltételezi, hogy KLV elsősorban a kiöregedő, életciklusának vége felé közeledő erythrocytákban van, melyekben már megindult a Hb. leépülési folyamata.

Számos kutató tagadja, hogy a KLV ebből a pseudohaemoglobinból származik, ill., hogy utóbbi a Hb. leépülés egyik láncszeme lenne.²⁷⁻³⁰ A 0,4%-os sósavval lehasítható vas szerintük nem valami preformált haemoglobin-derivátumból származik, hanem egyszerűen artefact. Ezen kutatók is meg-egyeznek azonban abban, hogy nem zárható ki egészen, hogy az 5—10%-nak megadott KLV egy része intraerythrocyter verdoglobinnal származik. Minden-esetre érdemes megemlíteni, hogy *Miller* és *Hahn* acetylphenylhydrazin adása után a KLV frakcióban tekintélyes mérvű emelkedést kaptak.³¹ Márpedig az acetylphenylhydrazin a verdoglobinnal képző vérmérgek csoportjába tartozik.

Bárhogyan áll is a helyzet a KLV-al, akár preformált pseudohaemoglobinból (ill. verdoglobinnal) származik, akár a Hb. azon részéből, amely valami-képpen labilisabb, mint a többi hányad és már híg sav hatására elveszti Fe-atomját, ez a frakció besugárzás hatására nő.

Ismeretes, hogy a verdoglobinnal nemcsak klif. vérmérgek, hanem erőlyes oxidáló-, ill. redukálószerek (pl. H₂S, HCN, H₂O₂ stb.) hatására is keletkezik a haemoglobinból. A KLV mennyiségének emelkedése mindenestre arra enged következtetni, hogy hasonló elváltozásokat az ionizáló sugárzás is képes kiváltani.

A Hb. molekula, vagy a vörösvérsejtek laesiója, véleményünk szerint nem direkt sugárhatás, hanem bonyolult fiziko-kémiai, ill. biokémiai reakciók eredménye. Erre mutat többek között az is, hogy a KLV maximális koncentrációját nem közvetlenül a sugárbehatás után, hanem később, 48 óra múlva észleltük. Lehet, hogy a reakció megindításában szerepük van azoknak az erélyes oxidatív tulajdonságú szabad gyököknek (OH, HO₂) és H₂O₂ molekuláknak, melyek a besugárzott víz radiolysise során keletkeznek.

Végül fel szeretnénk hívni a figyelmet arra a jelentős mérvű csökkenésre, melyet a besugárzást követő első 3 napon a TVV koncentrációjában észleltünk. A napi 4,6%-os csökkenés alapján a besugárzott tengerimalacok vörösvérsejtjeinek átlagos élettartama nem igen lehet több, mint 20—25 nap, még akkor sem, ha feltételezzük, hogy 611 r hatására az erythropoesis teljesen leállt. Ez a rövid élettartam arra enged következtetni, hogy a vvs-ek nemcsak nem pótlódnak, hanem nagyobb ütemben is pusztulnak, mint egészséges állatokban. A kérdés végleges eldöntéséhez azonban, még további vizsgálatok szükségesek.

Mindezek alapján, saját kísérleti eredményeinket összevetve az irodalmi adatokkal, úgy véljük, hogy a sugár-anaemia kifejlődésében legalább három faktornak van döntő jelentősége:

a) A csontvelő sugársérülése következtében az erythropoesis jelentős mérvű csökkenése, sőt néha teljes leállása.

b) A szövetek közé történő bevezésekkel, valamint a gyomorbél traktus ulcerációjával együttjáró vérvesztések.

c) A perifériás vérben keringő érett erythrocyták fokozott pusztulása. Hogy az utóbbi intravasalisán, vagy a RES sejtekben, ill. mindkettőben megy-e vége, az még további vizsgálatokra szorul.

Összefoglalás:

1. Tengerimalacok 611 r dózisu rtg. besugárzásának hatására a besugárzást követő 1 naptól kezdve fokozatosan csökken a vér össz-vas koncentrációja.

2. Az össz-vas koncentráció csökkenésével ellentétben a könnyen lehasadó vas frakcióban emelkedés észlelhető, amely a besugárzás után 48. órával éri el maximumát.

3. A teljes-vér-vas csökkenése és a könnyen lehasadó vas koncentrációjának fokozódása az érett, keringésben levő erythrocyták sugár-laesiójára enged következtetni, s így megerősíti a korábban fluorescens methodikával kapott eredményeket.

IRODALOM:

1. Cronkite E. P.: The Hematology of Ionizing Radiation. Atomic Medicine. Ed. by Ch. F. Behrens. The Williams a. Wilkins Co., Baltimore — 1953. 119—147. o.
2. Eldred E., Eldred B.: Blood, 8:262—269, 1953. — 3. Jacobson L. O.: The Hematologic Effects of Ionizing Radiation. Radiation Biology. Ed. by A. Hølaender. McGraw-Hill Book Co., New York — 1954. I/1029—1090. — 4. Gorizontov P. D.: Biologicseszkoje gyejsztvije izlucsenij i klinyika lucsevoj boleznyi. Medgiz. Moszkva — 1954. 104—gyiacija. Medgiz. Moszkva — 1954. — 6. Colin F., Bruegge V.: Ann. Intern. Med., 135. o. — 5. Jegorov A. P., Bocskarjov V. V.: Krovotvorenijye i ionyizirujuscaja ra-36:1444—1458, 1952. — 7. Kusano N.: Atombombenschäden. Veb. Verlag Volk und Gesundheit. eBrlin — 1954. — 8. Hempelmann L. H., Lisco H., Hoffmann J. G.: Ann. Internat. Med., 36:279—510, 1952. — 9. Jegorov A. P.: Biologicseszkoje gyejsztvije izlucsenij i klinyika lucsevoj boleznyi. Medgiz. Moszkva — 1954. 154—169. — 10.

De Plaen P., Lion G., R. van Male de Chorán R.: J. Belge. Radiol., 37:41—57, 1954. — 11. Guszkoва A. K., Bajszogolov G. D.: Gyejsztviye izlucsenyija na organyizm. Izd. AN SzSzSzR. Moszkva — 1955. — 12. Hennesy T. J., Huff R. L.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 73:436, 1950. — 13. Knowlton N. P., Widner W. R.: Cancer Res., 10:59, 1950. — 14. Belcher E. H., Gilbert I. G. F., Lamerton L. F.: Brit. J. Rrad., 27:387, 1954. — 15. Fedorov N. A.: Rogress in Radiobiology. Ed. by Mitchell a. Holmes. Oliver a. Boyd. London — 1956. 310. o. — 16. Lamerton L. F., Belcher E. H.: Advances in Radiobiology. Ed. by deHevesy, Forssberg a. Abbat. Oliver and Boyd. London — 1957. 321. o. 17. Davis R. W., Dole N., Izzo M. J., Young L. E.: J. Lab. Clin. Med. 35:528—537, 1950. — 18. Ross M. H., Furth J., Bigedow R. R.: Blood, 7:417—428, 1952. — 19. Kahn J. B., Furth J.: Blood, 7:404—416, 1952. — 20. Goldschmidt L., Rosenthal R. L. Bond V. P., Fishler M. C.: Am. J. Physiol., 164:202—206, 1951. — 21. Lartigue O., Duplan J.: C. R. Soc. Bil., 149:285—286, 1955. — 22. Mocsalina A. Sz.: Bjull. rad. med., 1:38—45, 1954. — 23. Bjelouszov A. P.: Med. Rad., 2/2:46, 1957. — 24. Wright C. S., Dodd M. C., Bouroncle B. A., oMrton J. L.: J. Lab. Clin. Med., 40:962, 1952. — 25. Geszti O., Sztanyik L., Lengyel I., Martos K.: OH., 100:974—975, 1959. — 26. Barkan G.: Ztschr. Phys. Chem., 148:124—154, 1925. — 27. Barkan G., Schales O.: Ztschr. Physiol. Chem., 248:96—116, 1937. — 28. Brugsch J.: Hämoglobin der rote Blutfarbstoff. Veb. George Thieme. Leipzig — 1955. 237. o. — 29. Venndt H.: Ztschr. physiol. Chem., 263:162—174, 1940. — 30. Grinstein M., Moore C. V.: J. Clin. Invest., 28:505—515, 1949. — 31. Miller L. L., Hahn P. F.: J. Biol. Chem., 134:585—590, 1940.

Майор мед. службы д-р Л. Станик и Э. Манди:

ДАнные О РАЗВИТИИ АНЕМИИ, ВЫЗВАННОЙ ОБЛУЧЕНИЕМ

- 1) Под влиянием рентгеновского облучения в дозе 611 р морских свинок, с первых суток после облучения постепенно уменьшается общее железное содержание в крови.
- 2) В отличие от уменьшения содержания общего железа отмечается увеличение в фракции легко отщепляемого железа, что достигает максимума через 48 часов после облучения.
- 3) Из уменьшения железа в полной крови и увеличения содержания легко отщепляемого железа можно сделать вывод, что здесь имеет место лучевое поражение эритроцитов и таким образом подтверждаются результаты, полученные ранее флюоресцентным методом.

Dr. L. Sztanyik, Major d. San., E. Mándi:

BEITRÄGE ZUR AUSBILDUNG DER STRAHLENANÄMIE

1. Die Gesamteisenkonzentration des Blutes bei Meerschweinchen vermindert sich allmählich vom 1. Tage angefangen nach der Röntgenbestrahlung mit 611 r. 2. Im Gegensatz zur Abnahme der Gesamteisenkonzentration, ist Erhöhung der leicht abspaltbaren Eisenfraktion zu beobachten, mit einem Maximum in der 48. Stunde nach Bestrahlung. 3. Abnahme der Gesamteisenkonzentration, sowie Anstieg leicht abspaltbarer Eisenfraktion sprechen für die Strahlenschädigung der Erythrozyten und bestätigen somit die früheren, durch Fluoreszenzmethodik erreichten Ergebnisse.