

Kísérletes thrombosis: Stasisos alvadás fokozódás vizsgálatok izolált mesenterium érsegmenteken

Írta: **Fiam Béla** dr. orvosalezredes, az orvostudományok kandidátusa

Technikai munkatárs: Gázsó Margit

A thrombosis kialakulásában szerepet játszó tényezők közül az utóbbi években a kontakt rendszer és stasis kapcsolata került a kísérletes vizsgálatok előterébe (1—13). A Wessler-féle izolált juguláris segment technikával (1) végzett vizsgálatainkról már beszámoltunk (14) és megállapítottuk, hogy a stasis önmagában nem jelenti az alvadási folyamat gyors megindulását.

Megerősítettük, hogy a stasisos területen belül alvadást kontakt savóval fokozni lehet. A Wessler-féle módszer azonban nem adott módot a folyamat időbeli lefolyásának tanulmányozására, ezért kísérleteinkben a Henderson (11) által alkalmazott mesenterium segment készítési módszert használtuk fel az alvadásaktiváció létrejöttének tanulmányozására.

Kísérleti módszer, anyagok:

1. Kísérleti állat és műtét: Kísérleti állatként 2—3000 g-os vegyes törzszű és nemű nyulakat használtunk fel. Az állatokat „Intranarcon” altatásban műtöttük. Laparatómiát végezve, a vékonybél egy részletét kiemeltük és 35—37 C° hőmérsékletű fiz. NaCl-al átitatott vászonlapra helyeztük. Műtét közben ill. műtét után a bélrészletet ugyancsak meleg konyhasóval átitatott vászonlappal fedtük. A módszert az 1. sz. ábra mutatja be.

Érlekötéseket végeztünk a vizsgálandó savó v. marginalis auricularisba való beadása előtt (kontroll) és a beadás utáni 30", 1, 2, 5 percben. Az érsegmenteket 10 perc stasis után kiemeltük és üvegfelületen felnyitottuk. Az alvadék nagyságát a látható alvadéktól a koplekt alvadékig + — ++++-el jelöltük.

2. Vizsgálati anyagok:

a) Intakt humán savó: a vért karvénából szilikonbevonatú tüvel szilikonbevonatú centrifugacsőbe vettük, egy óra állás után 3000 fsz.-al 15 percgig centrifugáltuk, a felületűszót szilikonbevonatú pipettával leszívva, szilikonbevonatú üvegedényekben tároltuk.

b) Kontakt humán savó: A vért normál tüvel üvegcsőbe vettük, és az előbbihez hasonlóan centrifugáltuk és üvegedényben tároltuk.

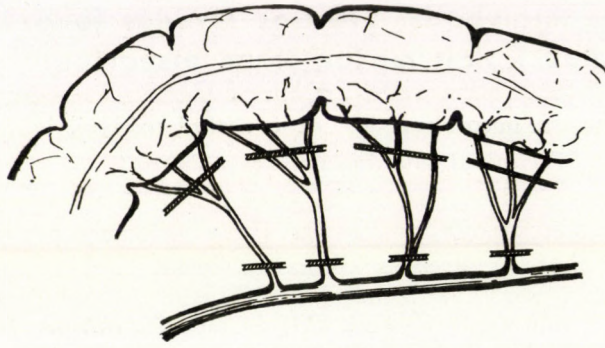
c) Kaolin aktivált kontakt humán savó: A kontakt savóhoz 10 mg/ml kaolinport adtunk, 10 perc motoros keverés után centrifugáltuk és a szupernatanst üvegedényben tároltuk.

A vizsgálati anyagokat 5 ml/állat mennyiségben 15 másodperc alatt juttattuk be a fülvénába. Intakt savó esetében a tű és fecskendő szilika bevonattal volt ellátva.

Kísérleti eredmények

1. Intakt savó hatása a segmenten belüli alvadékképződésre:

Mint a bevezetésben már mondtuk a stasis önmagában — a vizsgálati perióduson belül — nem okoz gyors alvadékképződést. Intakt, szilikázott rendszerben levett és tárolt savó a stasisos területen belül nem váltott ki alvadást.



MESENTERIUM SEGMENTÁLÁS (HENDERSON MÓDSZER)

1. sz. táblázat

Intakt humán savó thrombuskeltő hatása

Lekötések		Állatok száma	Az alvadék nagysága				
			Ø	+	++	+++	++++
Kontroll			5				
5 ml intakt humán savó	30''	5	5				
	1'		5				
	2'		5				
	5'		5				

2. Kontakt humán savó hatása a segmenten belüli alvadékképződésre:

Üvegfelülettel érintkező, ún. kontakt savó intravénás adása után a stasisos területen belül alvadékképzés indul meg. A thrombus-képző hatás a 30 sec.-ban a legerősebb és a beadás utáni 2—5 perc között szűnik meg.

3. Kaolinnal aktivált kontakt humán savó hatása a segmenten belüli alvadékképzésre:

Waler (15) az intrinsic alvadásról írt közleményében leírja, hogy ha a vért (plazma) reaktíve nagy felület hatásának teszi ki, az alvadékképzés erősen fokozódik. Henderson és Rapaport (11) aktivációs felületként in vitro testelésben kaolinport használt. Kísérleteinkben 10 mg/ml savó kaolinport alkalmaztunk aktivációs felületként. A kaolinaktiváció hatására a stasisos területen az alvadékképződés időben tartósabb és erősségében fokozódik.

2. sz. táblázat

Kontakt human savó thrombuskeltő hatása

Lekötések		Állatok száma	A thrombus nagysága				
			Ø	+	++	+++	++++
Kontroll			12				
5 ml kontakt human savó	30''	12	1			2	9
	1'		4	3	2	1	2
	2'		9			1	2
	5'		12				

3. sz. táblázat

Kaolin aktivált kontakt human savó thrombuskeltő hatása

Lekötések		Állatok száma	Az alvadék nagysága				
			Ø	+	++	+++	++++
Kontroll			6				
5ml kaolin aktivált kontakt human savó	30''	6					6
	1'						6
	2'				1		5
	5'		6				

Az eredmények megtárgyalása

Kísérleti eredményeinket a Henderson (11) féle módszerrel nyertük. A mesenteriumon történő segmentálási módszer az in vivo sorozatvizsgálatok számára alkalmasabb, mint a Wessler-féle (11) jugularis segmentatio. Hátránya az utóbbival szemben az, hogy a segmentekből csak kis mennyiségű vér, ill. savó nyerhető és ez in vitro alvadásvizsgálatokat nem tesz lehetővé. A sorozatvizsgálat viszont módot nyújt a önkontroll (stasis) és az alvadékképződés egy állaton belüli időbeli lefolyásának tanulmányozására. Maga a műtét az ér szempontjából kevesebb traumával jár, mint a jugularis felpreparálása.

A módszerben részben eltérünk a Henderson által leírt eljárástól, a különbségek a következők:

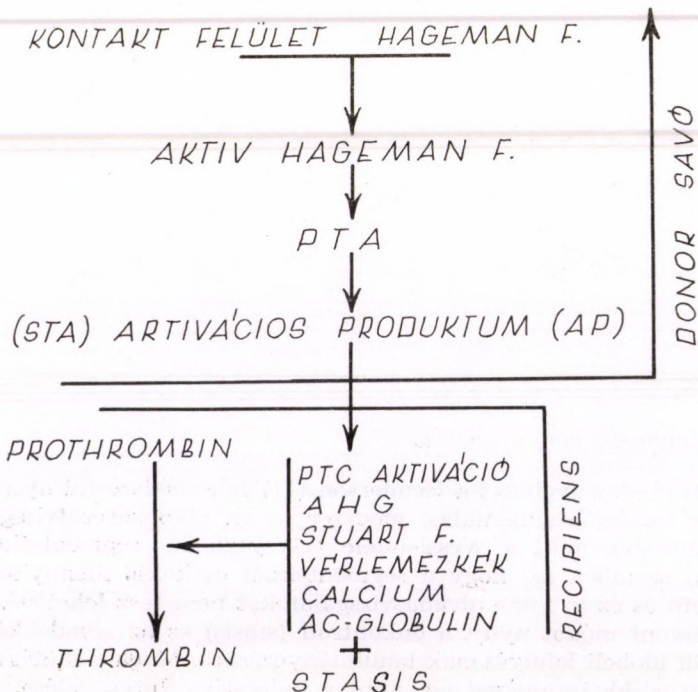
1. Egy kísérleti állaton nem egy, hanem minimálisan öt segmentációt végeztünk.
2. A vizsgálati anyag beadása előtt kontrollkészítést iktattunk be.
3. 3 ml/kg vizsgálandó savó helyett 1,6—2,5 ml/kg ill. 5 ml/állat savót használtunk, tehát megmaradtunk a Wessler által leírt mennyiség mellett.
4. A segmentációt a beadás után nem a 70 másodpercben, hanem már 30 másodperc után, ill. 1,2 és 5 percben is elvégeztük.

Rosenthal (16) 1953-ban számolt be először a plazma thromboplastin antecedent-ről (PTA, XI. faktor), majd 1955-ben Ratnoff—Colopy (17) a Hageman-faktor (XII. faktor) felfedezéséről. Ekkor számol be Wessler (3) is először a kontakt savóval kiváltható, ép intimán belül jelentkező stasisos alvadékképződésről, ill. a savóban található „serum thrombotic accelerator”-ról (STA), amelyet előbb a konvertinnel (VII. faktor) azonosított, majd 1960-ban Reimerrel (5) együtt megállapítják, hogy PTC, PTA és Hageman faktor hiányos savókban az STA hatás csökken, és hogy a kontakt felületnek szerepe van az STA hatás kialakulásában.

Henderson és Rapaport (10—11.) kimutatták, hogy az aktivált PTA (activation product, AP) hasonló hatással bír mint a STA.

Ha kísérleteinket az elmondottak alapján értékeljük, a közölt adatok igazolják, mind az STA, mind AP hatást:

- a) Intakt humán savó thrombuskeltő hatással nem rendelkezik.
- b) Kontakt humán savó a recipiens állatban ép intima mellett a stasisos területen belül alvadékképződést vált ki.



- c) Kaolin aktivációval a thrombusképzés erőssége fokozható.
d) Kis mennyiségű (1,6—2,5 ml/kg) kontakt vagy aktivált savó az alvadékképződést fokozza.

Megelőzően már kimutattuk (14), hogy a kontakt humán savó BaSO_4 , $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ és $\text{Mg}(\text{OH})_2$ kezelése utáni felülúszó thrombuskeltő hatását változatlanul megtartja. White—Aggeler és Glendening (18) szerint a savó PTC-t tartalmaz AHG-t azonban nem. A BaSO_4 és $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ a PTC VII. faktort és Stuart—Prower faktort adszorbeálja, tehát a thrombus keletkeztetésében az hogy a beadásra kerülő savó PTC-t, AHG-t, konvertint és Stuart—Prower faktort nem tartalmaz, nem játszhatik szerepet. A kaolinnal Loránd és Laki (19) lipoid komponenst tudtak adszorbeálni. Thomas—Wessler—Reimer (7) és saját előkísérleteink szerint is nincs különbség a lemezke dús és lemezke szegény plazma thrombogenetikus hatásában, tehát valószínűleg a 3. számú thrombocyta (lipoid) faktor sem szükséges a recipiens állaton belül meginduló thrombusképződéshez. Ugyancsak előző beszámolónkban (14) kimutattuk, hogy „Syncumar” kezelt betegek savója a thrombuskeltő hatást megtarthatja, mint ahogy megtarthatja a prothrombin adszorbensekkel kezelt savó felülúszója is. Ezzel a prothrombin ill. a residualis prothrombin aktivációja is kizárható. Hasonlóan kizárható az Ac-globulin (V. faktor) szerepe is. Az Ac-globulin 50°C 30 perces hőkezeléssel teljesen inaktíválódik, míg az AP Waaler (15) szerint (14) 50°C 30 ces hőkezelés után kezdi elveszíteni hatását. Kísérleteink szerint (14) 50°C 30 perces hőkezelés után a kontakt savó thrombogenetikus hatása változatlan.

Irodalmi adatok és saját kísérleteink szerint mind az extrinsic, mind az intrinsic thrombusképzés összes komponensét kizártuk a PTA és Hageman faktor kivételével. Ezek alapján kimondhatjuk, hogy a Wessler által leírt STA hatás és a Henderson által észlelt AP hatás ugyanaz. Az AP hatását a recipiens állaton belül az intrinsic rendszer aktiválásával fejt ki (2. sz. ábra), ehhez az aktivációhoz szükséges a stasis kialakítása. További kérdés, hogy az aktiváció stasis nélkül képes-e in vivo alvadékképződés létrehozására.

Összefoglalás

1. Intakt humán savó thrombuskeltő hatással nem rendelkezik.
2. Kontakt humán savó recipiens állaton belül stasis esetében alvadékképződést tud létrehozni.
3. Kaolin aktivációval az alvadékképző hatás fokozható és időben elnyújtható.
4. Kísérleteink eredményeiből azt a következtetést vontuk le, hogy a Wessler által leírt STA és a Henderson által közölt AP hatás azonos. A kontakt savó a recipiens állaton belül aktiválja az intrinsic alvadási rendszert és ez stasis esetében alvadékképződést eredményez.

IRODALOM

1. Wessler, S.: J. Clin. Invest. 31: 1011, 1952.
2. Wessler, S.: J. Clin. Invest. 32: 650, 1953.
3. Wessler, S.: J. Clin. Invest. 34: 647., 1955.
4. Wessler, S.—Reimer, S. M.—Sheps M. C.: J. appl. Phys. 14: 943, 1959.
5. Wessler, S.—Reimer, S. M.: J. Clin. Invest. 39: 262, 1960.
6. Wessler, S.: Am. J. Med. 33: 648, 1962.
7. Thomas, D. P.—Wessler, S.—Reimer, S. M.: Thromb. Diath. Haemorrh. 9: 90, 1963.
8. Reimer, S. M.—Wessler, S.—Deykin, D.: Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.) 105: 438, 1960.
9. Wessler, S.—Freiman, D. G.—Suyemoto, J.—Reimer, S. M.: Trans. Ass. Amer. Phys. 74: 111, 1961.
10. Henderson, E. S.—Rapaport, S. I.: Clin. Res. 9: 160, 1961.
11. Henderson, E. S.—

Rapaport, S. I.: J. Clin. Invest. 41: 235, 1962. 12. Didisheim, P.—Vandervoort, R. L. E.—Ryttnig, J. E.: Clin. Res. 10: 77, 1962. 13. Wessler, S.—Reimer, L.—Freiman, D. G.—Reimer, S. M.—Lertzman, M.: Circulation, 20: 864, 1959. 14. Fiam B.—Magyari J.: Előadás a IV. Haemat. Kongr. (Haemat. Hung, megjelenés alatt). 15. Waaler, B. A.: Scand. J. Clin. Lab. Invest. 9: suppl. 37, 1, 1959. 16. Rosenthal, R. L.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 82: 171, 1953. 17. Ratnoff, O. D.—Colopy, J. E.: J. Clin. Invest. 34: 602, 1955. 18. White, S. G.—Aggeler, P. M.—Glendening, M. B.: Blood, 8: 101, 1953. 19. Loránd L.—Laki K.: Biochim. biophys. Acta (Amst.) 13: 448, 1954.

Д-р Фиа́м Б., Га́жо М.:

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЙ ТРОМБОЗ: ИССЛЕДОВАНИЕ УСИЛЕНИЯ СВЕРТЫВАНИЯ СТАЗОМ НА ИЗОЛИРОВАННЫХ КУСКАХ СОСУДОВ БРЫЖЕЙКИ

1. Естественная человеческая сыворотка не обладает тромбообразовательными свойствами.
2. В случае стаза у животного получавшего контактную человеческую сыворотку образуется тромб.
3. При помощи активации каолином тромбообразовательное действие можно усилить и растягивать во времени.
4. На основе своих экспериментальных данных мы сделали вывод, что действие описанное Весслером (СТА) и Гендерсоном (АП) одинаковые. Контактная сыворотка у реципиента-животного активизирует систему свертывания «intransic» и в случае стаза вызывает тромбообразование.

Dr. B. Fiam, Oberstl. d. Med. D., Kandidat d. Med. Wissensch., Frau M. Gazsó:

EXPERIMENTELLE THROMBOSE: UNTERSUCHUNGEN AN ISOLIERTEN SEGMENTEN DER MESENTERIALGEFÄSSE IM ZUSAMMENHANG MIT DEM GERINNUNGSSTIMULIEREN DURCH STASIS

Ein intaktes Humanplasma besitzt keine thrombosestimulierende Eigenschaft. Dagegen kann das menschliche Kontaktplasma in einem Rezipientstier und bei Stasis eine Thrombusbildung hervorrufen. Man erzielt durch Kaolinaktivierung eine Erhöhung und Verlängerung der thromboseerregende Fähigkeit. Auf Grund ihrer eigenen experimentellen Ergebnisse ziehen Verfasser die Schlussfolgerung, dass die Wirkungen des STA von Wessler, sowie des AP von Henderson identisch sind. In einem Rezipientstier aktiviert das Kontaktplasma das inwärtige Blutgerinnungssystem, wodurch bei einer Stasis eine Thrombusbildung erzielt wird.