

A vér-könnygát vizsgálata

I^{131} -gyel jelzett humán albuminnal és nátriumjodiddal

Bevezetés

A vér-könnygát vizsgálatát eddig intravénásan beadott vitális festékek segítségével végezték. *Balik* 1952-ben káliumrodanid beadásával nézte a könnyben megjelenő rodanid-ionokat és ferriklorid-oldat segítségével mérte azok mennyiségét.

Jelentős adatokat szolgáltatottak a különböző elektrolitek (K, Na, Cl stb.), kismolekulasúlyú szerves anyagok (glukóz és húgysav), valamint fehérjék összehasonlító vizsgálatai a vérben és a könnyben (*Tapasztó*, 1972). Az izotópok alkalmazása új lehetőségeket teremtett ezen a téren, mivel az izotópok segítségével az ezerszeres hígulást jól lehetett mérni és a könnyben megjelenő kis mennyiségű izotóp is értékelhető adatokat szolgáltatott.

Módszereink

I^{131} -gyel jelzett humán albumint és I^{131} -gyel jelzett nátriumjodidot adtunk be önként jelentkező egészségeseknek és betegeknek intravénásan 50 mikrocurie aktivitásban. Utána kétféle időrendi sor szerint vettünk vért és könnyet. Az első sor a következő volt: 10, 20, 40, 80, 160, 320, 640 és 1280 perc. A másik időrendi sor 1 órától 38 óráig terjedt kétóránként. A levett emberi vérből, emberi szérumból és a könnyből 50 mikroliternyi mennyiséget 10 ml-re hígítottuk fiziológiás konyhasóval és egy érzékeny szcintillációs számlálósóval mértük a bennük levő izotópmennyiséget. Ugyanakkor a szérumból és a könnyből összefehérje-meghatározásokat végeztünk és ez mint korrekciós faktor szerepelt.

Az izotópméréseket Gamma-gyártmányú nátriumjodid (TL) 10 ml-es üreges kristállyal, ND 118 60 mm-es szcintillációs mérőfejjel, NZ 117/B 60 mm-es kollimátorral, NK 108 energiaszelektív számlálóval, fotócsúcsra állított differenciál diszkriminálással végeztük. A vizsgált személyek pajzsmirigyt előzetesen Lugol-cseppek (5⁰/₀ jódkáli) adásával blokkoltuk — 2 napon keresztül naponta 5 csepp. A vérben, szérumban és könnyben levő összefehérje mennyiségét Beckman-féle spektrokoloriméter segítségével biuretreakció szerint határoztuk meg. A kapott izotóp-beütési számot a fehérjeeredménnyel mint módosító szorzóval megszoroztuk és az így nyert eredményeket átlag-görbéként ábráztuk. A görbék ordinátáján a beütésszámot, az abszcisszán az időt ábráztuk.

A papírelektroforetikus vizsgálatokat trisz-EDTA-bórsavas (tris-) pH 8,9-es pufferrel végeztük. Az alkalmazott feszültség 110 V volt, a futtatás időtartama 16 óra. A felhelyezett mennyiség 0,1 ml volt, könnyből is és szérumból is. A futtatás után a papírcsíkoknak a felét savanyú fuxinnal festettük meg, a másik felét megszáritottuk és Gamma 1891/II. típusú univerzális ólomtoronnyal értékeltük ki.

A I^{131} -gyel jelzett humán albuminnal a szabad jódizotóp mennyisége 2—3⁰/₀ között váltakozott.

Eredményeink

A kor és betegség szerinti megoszlást az 1. táblázat mutatja. Az 1. táblázatban 20—60 év közötti egyéneket vizsgáltunk, akik közül 35 férfi és 23 nő volt. Egészséges és különböző szembetegségekben szenvedő egyéneket vizsgáltunk, főleg olyan szembetegségekben szenvedőket, akiknél a szem külső részeinek gyulladásai álltak fenn.

A mértani és a számtani idősor eredményeit áttekintve azt találtuk, hogy a levett vér (1. ábra) és a levett vérből lecentrifugált szérum (2. ábra) beütés száma fokozatosan csökkent 10 perctől 640 percig és 640 percnél süllyedt az értékelhetőség határa alá a I^{131} -gyel jelzett humán albumin esetében. Ugyanakkor a mértani és számtani idősorban vizsgált könnynél azt

1. táblázat

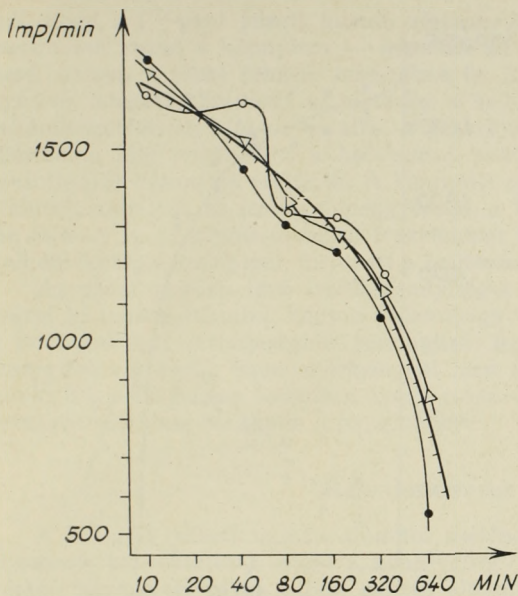
**A vér-könnnygát vizsgálatok kor és nem szerinti megoszlása
egészséges és szembeteg egyéneknél**

Betegségek	E s e t e k s z á m a									
	20—30		30—40		40—50		50—60		összes	
	férfi	női	férfi	női	férfi	női	férfi	női	férfi	női
Egészséges	5	2	3	2	4	2	2	1	14	7
Bacteriális conjunctivitis	3	3	2	2					5	5
Vírusos conjunctivitis	3	3							3	3
Herpes corneae	3	2	2	2		1	1		6	5
Ulcus corneae					2		1	1	3	1
Iridocyclitis acuta	2	1	2	1					4	2
Összesen	16	11	9	7	6	3	4	2	35	23

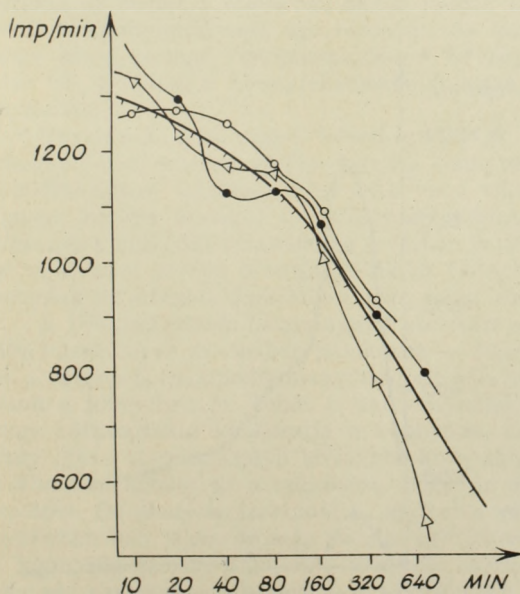
tapasztaltuk, hogy a könny izotóptartalma — a beütésszám alapján — fokozatosan növekedett és 640 percnél érte el az izotópmennyiség a könnyben a maximális szintet, akkor amikor a szérumban már szinte teljesen a háttér szintjére süllyedt le. Tehát a szérumban a legkevesebb, a könnyben a legtöbb volt az izotóp mennyisége a 640 percnél a I^{131} -gyel jelzett humán albumin esetében (3. ábra).

Ha ugyanezt I^{131} -gyel jelzett nátriumjodid esetében nézzük, azt tapasztaljuk, hogy a vérben és a szérumban az izotóp mennyisége 4 és 9 óránál érte el a maximumot és 24 óra alatt süllyedt a háttér szintjére. Ugyanakkor a könnyben 4 és 10 óránál volt egy maximum (4. ábra).

Ha a levett vért, szérumot és könnyet papírelektroforézissel vizsgáltuk és a megszáritott papírcsíkokat érzékeny, elektroforetikus papírcsíkok kiértékelésére alkalmas szcintillációs számlálócsővel vizsgáltuk, azt tapasztal-

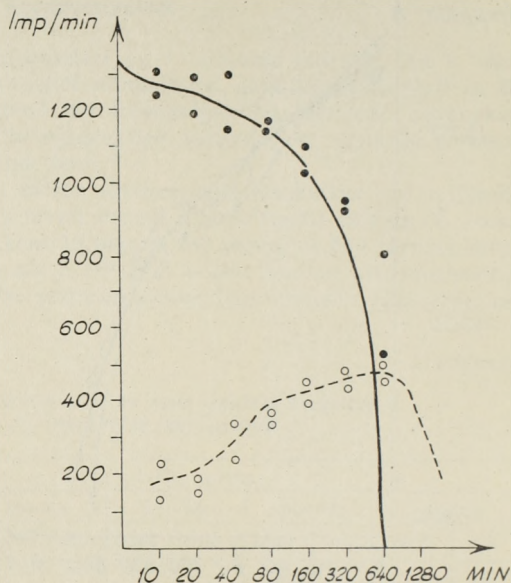


1. ábra: Azonos korú, különböző nemű egyének vérében levő jódizotóp mennyiségét mutató görbéi. A vastagon kihúzott vonal az átlaggörbét jelzi. Az ordinátán a percenkénti beütésszámot, az abszcisszán a percben kifejezett időt ábrázoltuk. A kísérleteket intravénásan beadott I^{131} -gyel jelzett humán albuminnal végeztük

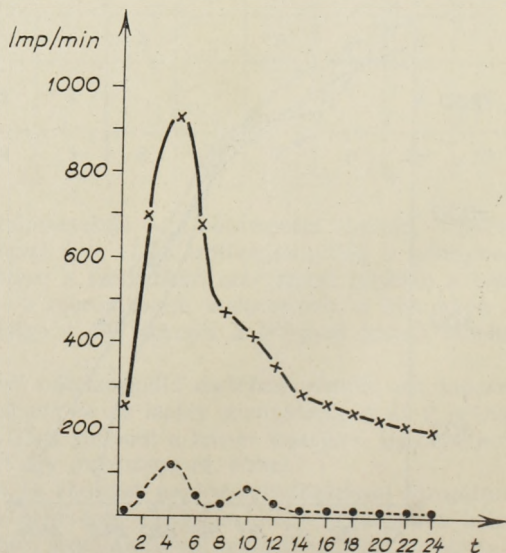


2. ábra: Azonos korú, különböző nemű egyének véréből lecentrifugált szérumának jódizotóp mennyiségét mutató görbéi. A vastagon kihúzott vonal az átlaggörbét jelzi. Az ordinátán a percenkénti beütésszámot, az abszcisszán a percben kifejezett időt ábrázoltuk. A kísérleteket intravénásan beadott I^{131} -gyel jelzett humán albuminnal végeztük

3. ábra: Azonos korú, különböző nemű egyének véreből lecentrifugált szérumban és könnyben levő jódizotóp mennyiségét mutató görbe. A folyamatos vonal a szérumban, a szaggatott vonal a könny jódizotóp tartalmát mutatja. Az ordinátán a percnkénti beütésszámot, az abszcisszán a percben kifejezett időt ábrázoltuk. A kísérleteket intravenásan beadott I^{131} -gyel jelzett humán albuminnal végeztük



4. ábra: 20 éves férfi beteg véreből lecentrifugált szérumban és könnyben levő jódizotóp mennyiségét mutató görbe. A folyamatos vonal a szérumban, a szaggatott a könnyet jelzi. Az ordinátán a percnkénti beütésszámot, az abszcisszán a kétóránkénti levétel időpontjait ábrázoltuk. A kísérleteket I^{131} -gyel jelzett nátriumjodiddal végeztük



tuk, hogy a I^{131} -gyel jelzett humán albumin esetében az izotóp — mind a szérumban, mind a könnyben — nemcsak az albumin területén volt található, hanem a többi fehérje frakcióban is. Az izotópot a szérumnál meggyőzően lehetett kimutatni az albumin, a béta- és a gamma-frakciókban és feltételezhetően az alfa—1 és alfa—2 frakciókban is. Ezen két frakció beütésszáma alig emelkedett a háttérszint beütésszáma fölé, ezért ezt nem tekinthetjük bizonyító erejűnek. A könnynél az albumin és a béta-globulin-frakciók mutatták az izotópot meggyőzően, a lizozim pedig feltételezhetően. Az alfa—2 és a gamma-globulin frakciókban nem tudunk kimutatni értékelhető izotópmennyiséget, mivel itt a beütésszám a háttérszint alatt maradt.

Az egész testben levő izotópmennyiséget mérő szcintillációs számlálócsővel ki tudtuk mutatni, hogy a pajzsmirigy után a könnymirigy köti meg a grammsúlynyi mennyiséghez viszonyított legtöbb izotópot az emberi test összes szervei közül. Ezen eredménynél nem szabad figyelmen kívül hagyunk, hogy két napon keresztül Lugol-cseppet (5⁰/₀ jódkáli) adtunk, amely bizonyos mértékig blokkolta a pajzsmirigyet.

Következtetések

A I^{131} -gyel jelzett humán albumin esetében kapott eredményeink arra engednek következtetni, hogy a könnymirigy aktív működő mirigyként a vérben keringő I^{131} -gyel jelzett humán albumint kiszűri a vérből, vagy az egész albumint leköti, felbontja, elraktározza, beépíti vagy csak az albuminnak a jódizotópot tartalmazó bizonyos szerkezetét vagy magát a jódizotópot. Valószínű, hogy a könnymirigy az albuminnak egy bizonyos szerkezeti részével együtt köti meg az izotópot, elraktározza, majd beépíti a könnyfehérjékbe. Erre enged következtetni az, hogy amikor a vérből már teljesen eltűnik az izotóp, a könnyben akkor jelenik meg maximális mennyiségben, tehát a könnymirigynek egy bizonyos idő (átlag 10 óra) szükséges ahhoz, hogy ezt a keringő izotópmennyiséget felvegye a vérből, elraktározza, átalakítsa, beépítse a könnyfehérjékbe és utána a könnyfehérjékkel együtt kiválassza.

Ugyancsak erre enged következtetni az is, hogy az elektroforetikus vizsgálatoknál mind a vérben, mind a könnyben az izotóp nemcsak az albumin-frakcióban található meg, tehát nem változatlanul fut át a könnymirigyen, hanem átalakul és különböző könnyfehérje-frakciókba épül be. Ugyanez a működés valószínűleg a vérben is végbemegy más szervek segítségével, mert a vérben is megtaláltuk az izotópot más fehérje-frakciókban is, nemcsak az albumin-frakcióban, igaz, hogy kisebb mennyiségben.

A I^{131} -gyel jelzett nátriumjodid esetében egy kissé módosul ez a működés, mivel ebben az esetben hamarabb — 4 óra múlva, amikor a szérumban és a vérben is maximális mennyiségben van jelen az izotóp — van a maximum a könnyben is. Tehát a nátriumjodidot valószínűleg a könnymirigy vagy változatlanul kiválasztja a könnyben, bizonyos raktározási idő után, vagy olyan molekulásúlyú anyaghoz köti, ahol nem vesz sok időt igénybe a könnymirigynek az a működése, hogy az illető anyagba beépítse a jódizotópot. De ennél az izotópnál is, amikor a vérben már csökkentebb mennyiségben van jelen, de még mindig egy bizonyos csúcsot kapunk, találunk a könnyben is egy kifejezett második csúcsot. Tehát itt is fennáll az a jelenség, hogy a könnymirigy a jódizotópot, mégha ilyen felhasználható

állapotban van is, elraktározza és beépíti egyes könnyfehérje-frakciókba, amint ezt az elektroforetikus vizsgálatok is mutatták.

Ezen izotópos vizsgálatok erősen alátámasztják azt, hogy a könnymirigy aktív szekréciós mirigy, amely bizonyos alapanyagok felhasználásával, jelen esetben bizonyos szérumfehérjék felhasználásával, a sajátmaga által termelt fehérjéket kialakítja oly módon, hogy a szérumból fölveszi a fehérjét, vagy a fehérje-szerkezeti részt, lebontja, annak egy bizonyos szerkezeti részét felhasználja, beépíti a saját könnyfehérjébe és nemcsak egy fehérjébe, hanem több fehérjébe is be tudja építeni azt a megfelelő szerkezeti részt.

Ionok esetében, ha a nátriumjodid izotópot tekintjük, hasonló mechanizmussal találkozunk, bár itt a 4 óránál levő maximum a könnymirigy elektrolit-működésére és forgalmára utal és felmerül annak a lehetősége, hogy az elektrolit felvétele, beépítése és kiválasztása általában 4 órát vesz igénybe.

ÖSSZEFOGLALÁS

A I^{131} -gyel jelzett humán albumint és a I^{131} -gyel jelzett nátriumjodidot 50 mikrocurie aktivitásban intravénásan adtuk be önként jelentkező egészségeseknek és betegeknek. 10, 20, 40, 80, 160, 320, 640 és 1280 percben, valamint 1 órától 38 óráig terjedő idő alatt kétóránként vettünk vért és könnyet. A levett teljes vért, a lecentrifugált szérumot és a könnyet megfelelő érzékenységu mérőfejjel vizsgáltuk. Azt tapasztaltuk, hogy a vérben és a szérumban a beadott jódizotóp aktivitása a humán albumin esetében 640 perc alatt süllyed a készülék háttérszintjére, tehát gyakorlatilag nullára. Ugyanakkor a könnyben 600—640 perc között éri el az izotópszint a maximumot. A nátriumjodid izotópos vizsgálatoknál a vérben az izotóp 4 óra múlva éri el a maximális szintet és 24 óra alatt süllyed a háttérszintre. Ugyanakkor a könnyben egy kétszcúsú görbét kapunk, ahol az egyik maximum 4 óránál van, a másik maximum pedig 10 óránál, tehát a humán albuminnak megfelelő 600 percnél, azaz 10 óránál. Ebből azt a következtetést vonhatjuk le, hogy a könnymirigy kiszűri a keringő vérből az izotópot tartalmazó vegyületet vagy annak egy részét, esetleg csak magát az izotópot, azt elraktározza és beépíti a könnyfehérjébe és azokkal választódik ki könnytermeléskor. Az izotópra vonatkozólag nátriumjodid esetében először már 4 óra múlva kapunk egy kiválasztási maximumot, másodsor 10 óra múlva. A humán albumin esetében 10 óra múlva kapunk ugyanilyen maximumot.

Megfelelő érzékenységu szcintillációs számlálócsövel ki lehet mutatni, hogy a pajzsmirigy után a könnymirigy köti meg a grammsúlynyi mennyiséghez viszonyított legtöbb izotópot az emberi test összes szervei közül.

Papírelektroforézissel szétválasztott szérum- és könnyfehérjék közül nemcsak az albumin tartalmazza a I^{131} -gyel jelzett humán albumint, hanem a könnyben a béta-globulin frakció is, a szérumban a béta- és a gamma-globulin is. Tehát az izotópos humán albumin már részben a vérben is, de a könnymirigyben is lebomlik és a humán albumin izotópot tartalmazó része vagy maga az izotóp beépül más fehérjébe is.

IRODALOM

Antoni, F.: Biochemical studies of the lacrimal and Harderian glands. (A IV. Európai Szemész Kongresszus keretében megtartott II. Nemzetközi Könnrendszer Szimpóziumon elhangzott előadás. Budapest, 1972.). — Balik, J.: *Obraz krizky slzné sekrecé u keratokonjunktivitis sicca.* (Curves of tear secretion in keratoconjunctivitis sicca.) Cs. Oftal. 8: 172—179 (1952); cit. Excerpta med., Sect. XII 6: 522 (1952). — Tapasztó, I.: Tear pathophysiology; in Holly, F. J. and Lemp, M. A.: The precocular tear film; pp. 141—175 (Little, Brown and Co., Boston, 1973.).