

Dr. Bernát Iván ny. orvosezredes, az orvostudományok doktora

## A morfológia fejlődése a haematológiában

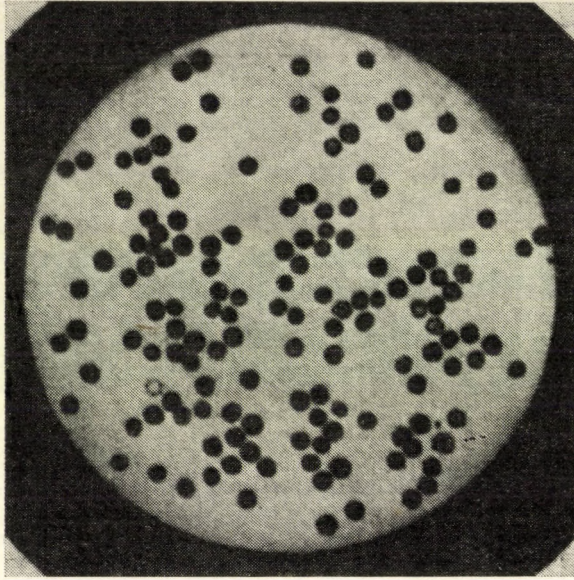
A morfológiai vizsgálóeljárások fejlődése lehetővé tette, hogy a celluláris szintről a subcelluláris, illetőleg molekuláris szintre terjesszük ki a cytologiai kutatást a haematológiában. Új technikai eszközök felhasználása révén felismerhetővé váltak a mitochondriumok, a siderosomák, a különféle membránok egyes szerkezeti elemei, az S-haemoglobin kötegei, a ferritin kristályok vas-micellumai stb. A stereo-elektron-mikroszkópia lehetővé tette a térbeli mikroszkópianyagok „topochemiás” tanulmányozását, az ultraibolya-mikrospektrophotometria pedig az intracelluláris fehérjék, illetőleg nukleinsavak mennyiségi meghatározását. Nem igazolódott az a nézet, hogy a haemato-morfológia válságban van és további fejlődésére már nem lehet számítani.

A technika fejlődése a tudomány haladásának nagy motorja. Egy-egy új találmány jelentősen meggyorsítja a megismerés folyamatát. Érzékelésünk határai egyre tágulnak, ismereteink fokról fokra pontosabbá válnak.

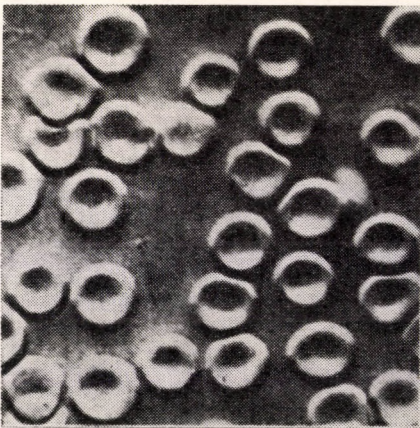
Valamikor, ha vért láttunk, csak annyit tudtunk mondani róla, hogy folyékony és piros. A *mikroszkóp* feltalálása után kiderült, hogy a vérben szilárd alkotórészek, „alakelemek” is vannak. Kezdetben ezeket zsircseppeknek vélték, később azután felismerték, hogy legnagyobb részük színes „golyócska” és a vér tőlük kapja piros színét (1/a ábra). Láttak a vérben különféle szintelen elemeket is. Ezeknek a „fehér”-vérszetteknek első hiteles rajza 1839-ből származik (2/a ábra). A mikroszkóp felfedezése tehát lehetővé tette, hogy a különféle vérszetteket ne csak felismerjük, hanem egymástól meg is különböztessük.

A vegyipar fejlődése során — egyebek között — előállították az *anilin festékeket*. Ehrlich mutatta ki, hogy a sejtek egyes elemei más-más festékkel lépnek kapcsolatba. Így vált lehetővé, hogy a sejt különféle részeit egymástól eltérő színekkel tüntessük fel. Ezáltal nemcsak egyes vérszetteket (pl. a lymphocytákat a monocytáktól) sikerült biztosabban megkülönböztetni, hanem azt is elértük, hogy magukba a sejtekbe is alaposabban beletekinthessünk (2/b ábra). Ehrlich egyébként egy új tudományág, a cytochemia alapjait is megvetette felfedezésével.

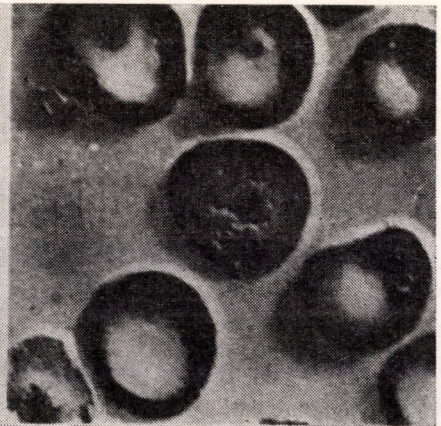
Lehetővé vált, hogy a sejt kémiai összetételét és anyagcseréjét *celluláris szinten* tanulmányozzuk. A cytochemia tulajdonképpen az analitikus



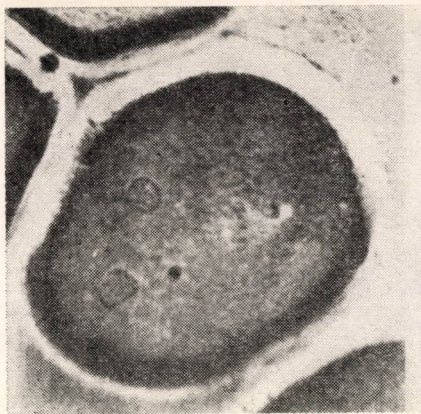
1. ábra: A vörösvérsejtek, ahogyan a múlt században és ahogyan jelenleg látjuk őket — a) A vörösvérsejtekről készült első fénykép a 19. század közepéről. Röviddel *Daguerre* felfedezése után, 1840-ben mutatta be *Donné* ezt a képet a francia Akadémián — b) A vörösvérsejtek felületi kezelése révén a fénymikroszkópban is jól látszik a kezdetben gömböcskének tartott vörösvérsejtek valódi, bikonkáv koronghoz hasonló alakja — c) Kevés vérfestéket tartalmazó, nagyon vékony vörösvérsejtek (anulocyták) vashiányos vérszegénységben. A sejtek szinte „üresnek” látszanak. (Elektromikroszkópos felvétel, ötezszeres nagyítás) — d) Nagyobb nagyítással a vörösvérsejtek felszínén már további részletek is felismerhetők. A sejthártyán vékony sánccal körülvelt „kráterek” láthatók. (Nyolcezerszeres nagyítás) — e) A sejtfelszín egy részletén a kisebb-nagyobb krátereken kívül megfigyelhető a membrán szemcsés szerkezete. (Elektronmikroszkópos felvétel, ötvenezeres nagyítás) — f) és g) A vörösvérsejt membránjának finomabb szerkezete százötvenezeres nagyításban



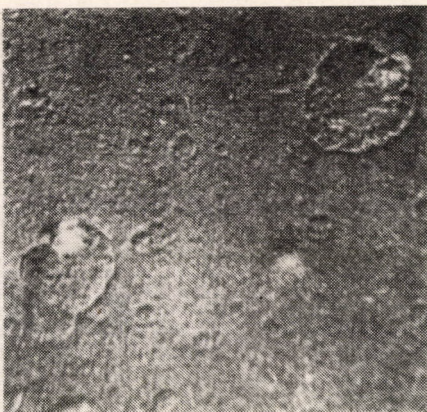
1/b. ábra



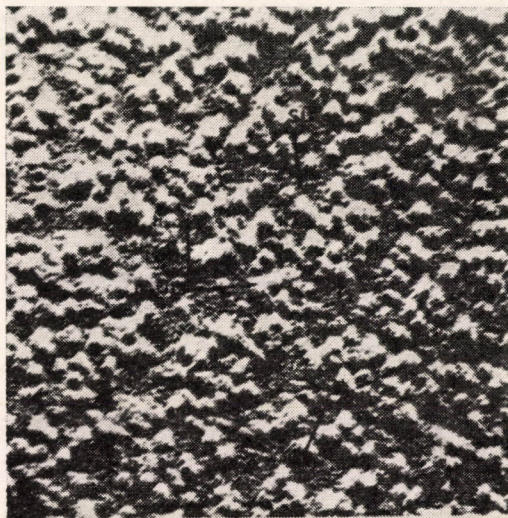
1/c. ábra



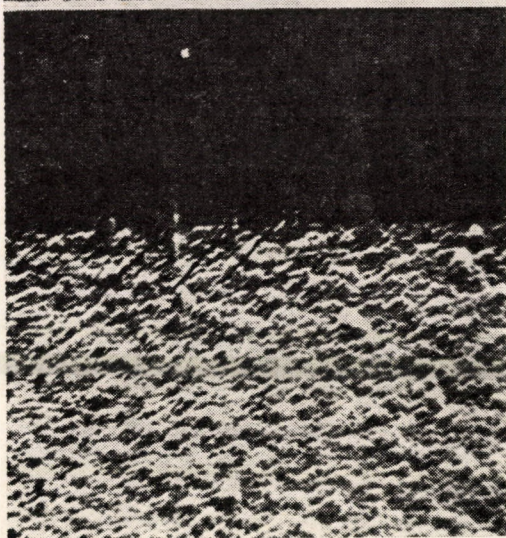
1/d. ábra



1/e. ábra



1/f. ábra



1/g. ábra



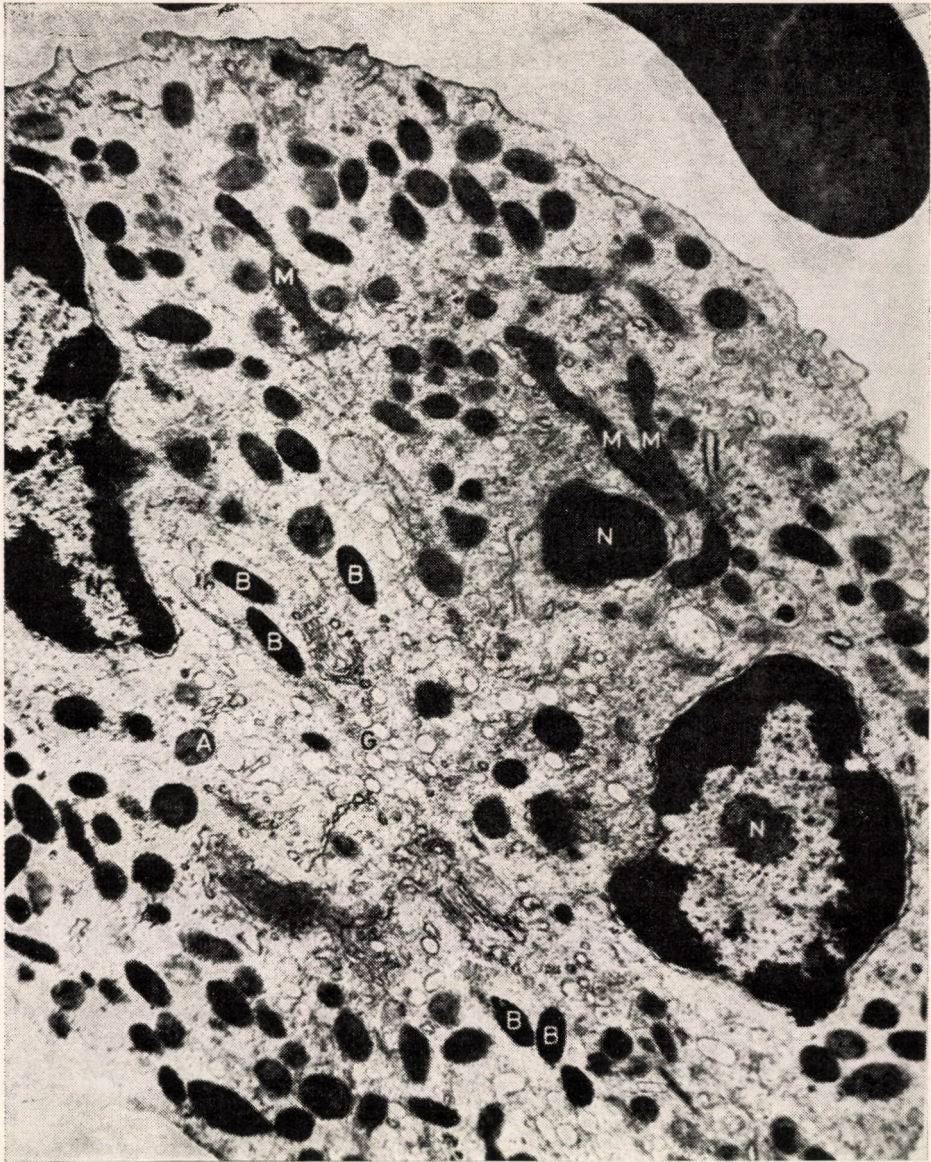
2. ábra: a) A lebenyes magvú fehérvérsejt első ismert ábrázolása. Hermann Nasse rajza 1839-ből. A mag szerkezete és a lebenyeket összekötő hidak akkor még nem voltak láthatók a mikroszkópban — b) A megfestett fehérvérsejt fénymikroszkópos képe — c) A fehérvérsejt egy részletének elektronmikroszkópos felvétele. A cytoplasmában számos szerkezeti elem látható. (Harmincezerszeres nagyítás)



2/b. ábra

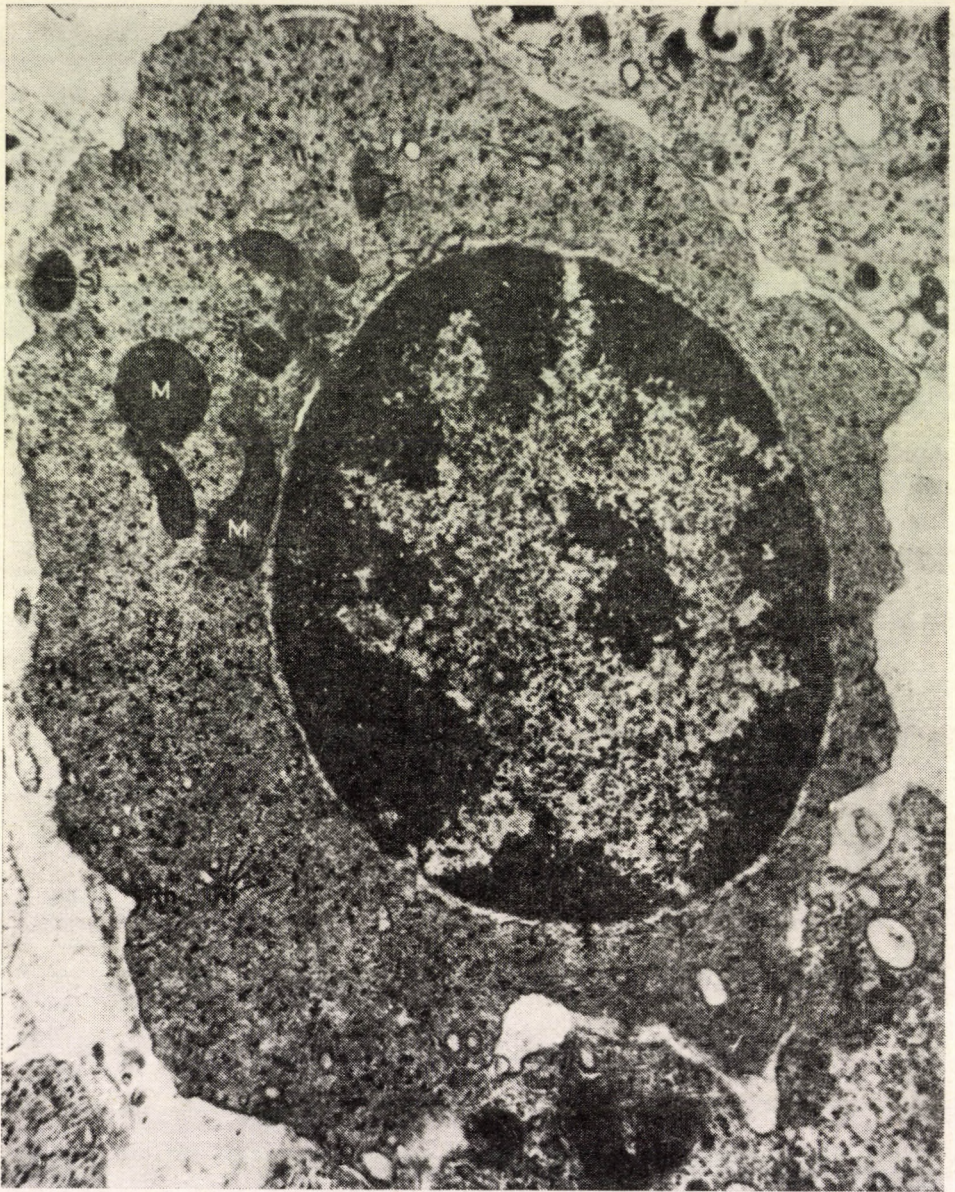
biokémiai és az empirikus színreakciók eredményeit használta fel és lényegében a biokémia és a morfológia összekapcsolása. E tudományág révén mód nyílt a nukleinsavak és fehérjék, az enzyme és polysaccharidák, a lipoidok és szerves anyagok „topochemiás” tanulmányozására (4/b ábra). Az eredményeket a klinikai gyakorlatban egyre szélesebb körben használják fel.

A fluorescentiás mikroszkópos cytochemia egyrészt bizonyos anyagok (pl. porphyrinek, riboflavin, lipofuscin stb.) elsődleges fluorescentiáját,

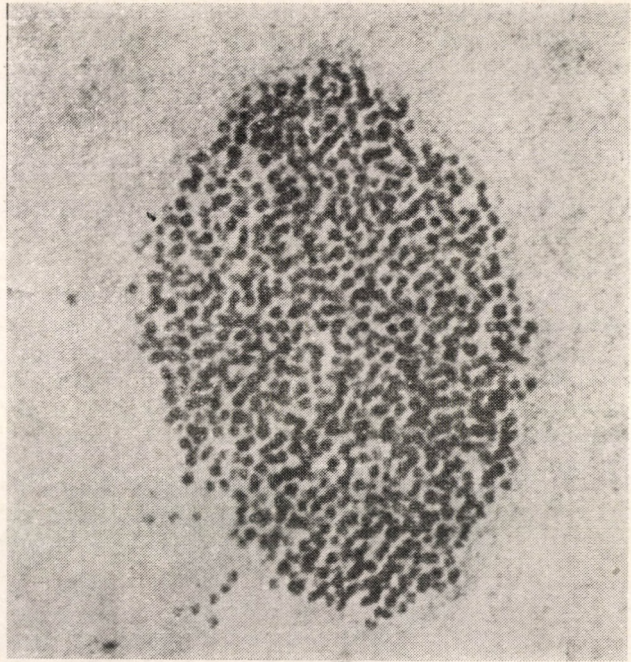


2/c. ábra

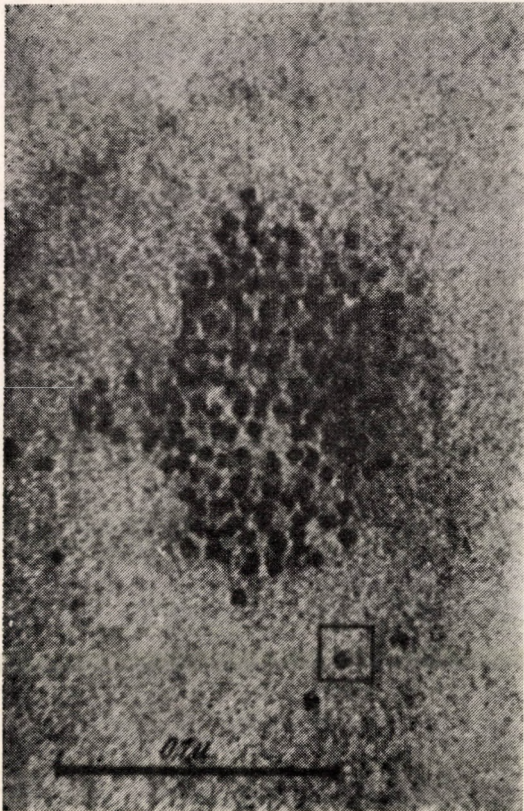
másrészt a „fluorochromozást” használja fel. Az elsődleges fluorescentia egyes anyagoknak az a sajátossága, hogy ultraibolya fényben minden kezelés nélkül sugároznak, a másodlagos fluorescentia viszont úgy jön létre, hogy egyes anyagok, bizonyos festékek (ún. fluorochromok, pl. acridinorange) hatására válnak fluoreszkálóvá. Az eljárás sokkal érzékenyebb a közösleges cytochémiánál. Míg festékoldatok kb. egymilliószoros hígításban képesek arra, hogy színérzetet keltsenek, a fluoreszkáló anyagok még százmilliószoros hígításban is felismerhetők.



3. ábra: a) Magvas vörösvérsejt elektronmikroszkópos képe. A cytoplasmában látható két, egymű fekete folt (Si) tulajdonképpen ferritin-kristályok halmaza — b) Ferritin-kristályok. (A ferritin képezi a sejt vastartalékát.) A vasatomokból álló micellumok egy oktaéder hat csúcsában helyezkednek el, fehérje burookban — c) Igen nagy nagyításban már a ferritin-kristályban levő vasmicellumok is felismerhetők, fekete pontok alakjában. A négyzettel keretezett területen — a felvétel síkjában — csak nagy vasmicellum látható



3/b. ábra

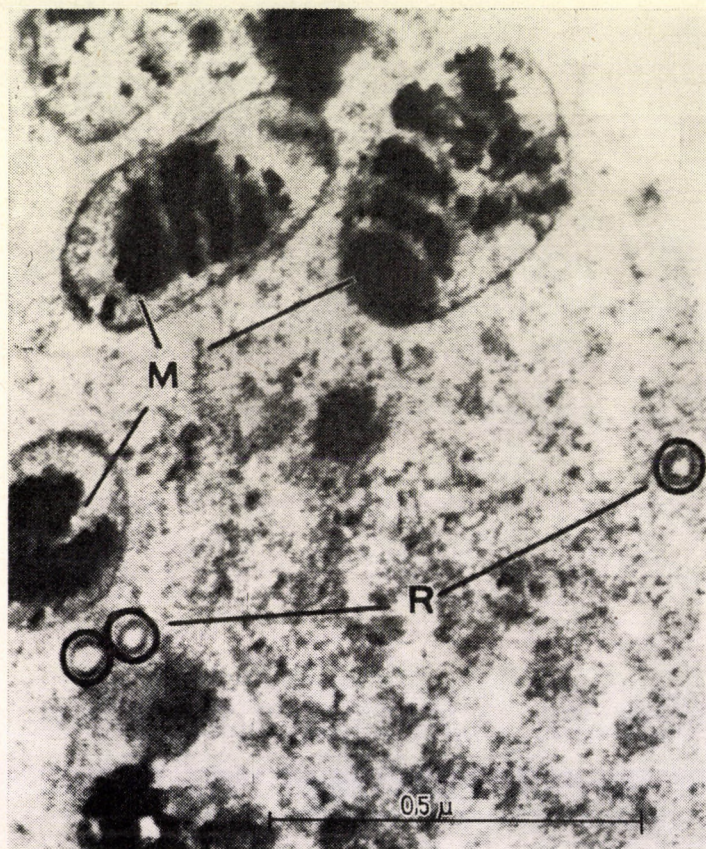


3/c. ábra

Az *ultraibolya-mikrospektrophotometria* révén lehetővé vált, hogy vér-sejtekben, azok előalakjaiban (a csontvelőben) és más sejtekben a nukleinsavak és fehérjék mennyiségét is meghatározzuk. Más korszerű eljárások (interferencia mikroszkópia, röntgen-histospektroszkópia stb.) kifejlődése tovább növelte lehetőségeinket, de azok ismertetése már meghaladja e közlemény kereteit.

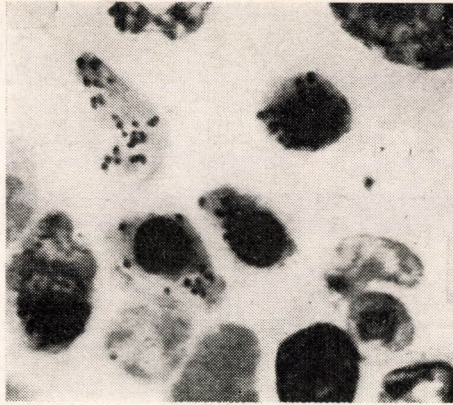
A cytológia egy technikai újításával — sejtek felületi kezelésével — sikerült a korábban csak síkban látható sejteket térben érzékelteni (1/b ábra). Ez az első lépést jelentette a tényleges térbeli mikroszkópikus látás kifejlesztésének útján.

Az *elektronmikroszkóp* hallatlan mértékben — több százszorosára — növelte az optikai feloldóképességet. Az ezer—ezerkétszázszoros nagyítás helyett most már ötven- vagy százezerszeres, sőt még ennél is nagyobb nagyításokat sikerült elérni. Felismerhetővé váltak a sejt-organellumok és a membránok egyes szerkezeti elemei (1/f és g ábra), sőt megközelítettük a molekulák szintjét (3/c és 5. ábra).

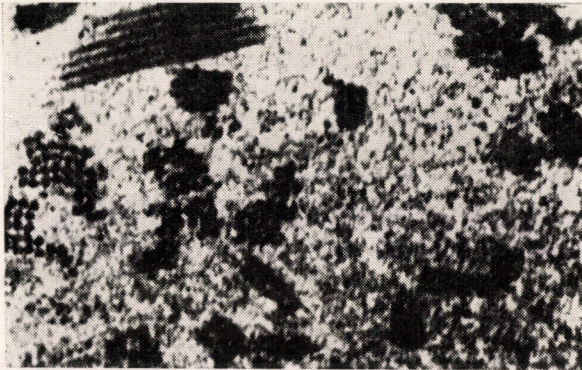


4. ábra: Kóros vasfelhalmozódás a sejtekben — a) Elektronmikroszkópikus felvételen jól látható, hogy a vas durva rögök alakjában a mitochondriumokban (M) helyezkedik el — b) Egyszerű fénymikroszkópban cytochemiai eljárással végzett vizsgálattal egy-egy vassal telt mitochondrium kis (kék) pontnak látszik



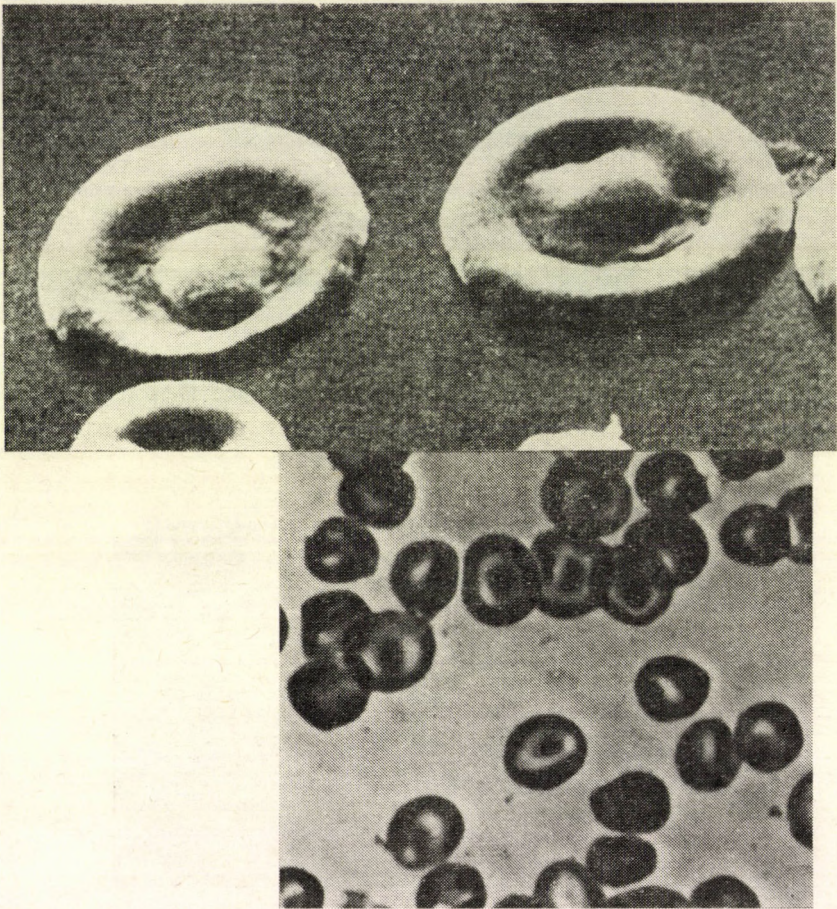


4/b. ábra



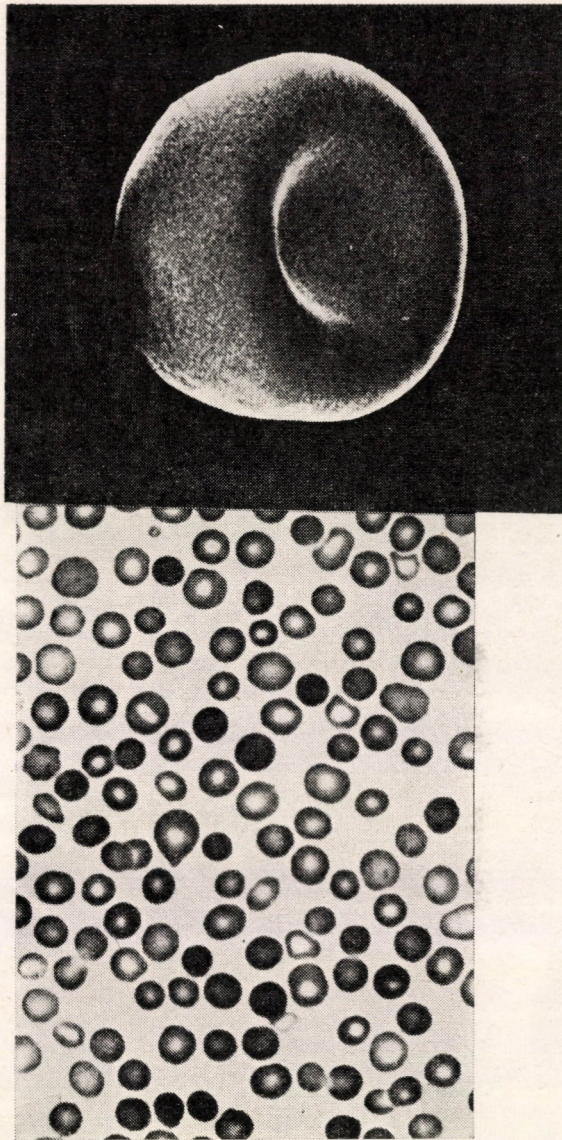
5. ábra: A normális vérfesték molekulái gömbhöz hasonló alakúak. A kóros „S”-haemoglobin molekulái hosszú kötegekbe rendeződnek. A felvételen ezek a kötegek *hosszanti és harántmetszetben* láthatók.

A struktúra és a funkció szoros összefüggésének is példájául szolgálhat az a kimagasló tudományos eredmény, amely a sarlósejtes vérszegénység pathogenesisének tisztázása során született. A sarlósejteket egy vérszegény beteg vérében már 1910-ben felismerték. E sejtek kialakulásának okát azonban nem tudták. Csak 1949-ben bizonyították be, hogy a sarlósdás és a következményes betegség a *haemoglobin molekula* kóros változásának az eredménye. A biochemiai defektust *Ingram tisztázta* 1957-ben. Kiderült, hogy a globin négy polypeptid láncát alkotó 569 aminosav egyike, a beta-lánc hatodik pozícióban levő glutaminsav, valinra cserélődött ki. Ez a jelentéktelennek tűnő különbség lényeges strukturális változással jár, aminek súlyos funkciózavar a következménye. A felfedezés mérföldkövet jelentett a genetika történetében, minthogy igazolódott, hogy mutatio következtében *egyetlen* aminosav cseréje olyan lényeges működési zavart idézhet elő, mely súlyos betegséghez vezet. Megszületett a *molekuláris betegség* fogalma.



6. ábra: Kóros vörösvérsejtek stereoscan felvételei — fénymikroszkópos képekkel összehasonlítva — a) Festékszegény vörösvérsejtek egyik változata. Vértesték csak a sejtek széli és középső részein található. A sejtek céltáblához vagy 6/a) „mexikói kalaphoz” hasonlítanak — b) A normálisnál vastagabb, rövidebb élettartamú vörösvérsejtek (sphaerocyták). Fénymikroszkópos felvételen a többinél kisebb, sötétebben festődő korongoknak látszanak — c) Ellipszis alakú vörösvérsejtek. (A tevéfélék vérében ilyenek a *normális* erythrocyták.) Emberben az elliptikus vörösvérsejtek öröklődő rendellenesség következményei

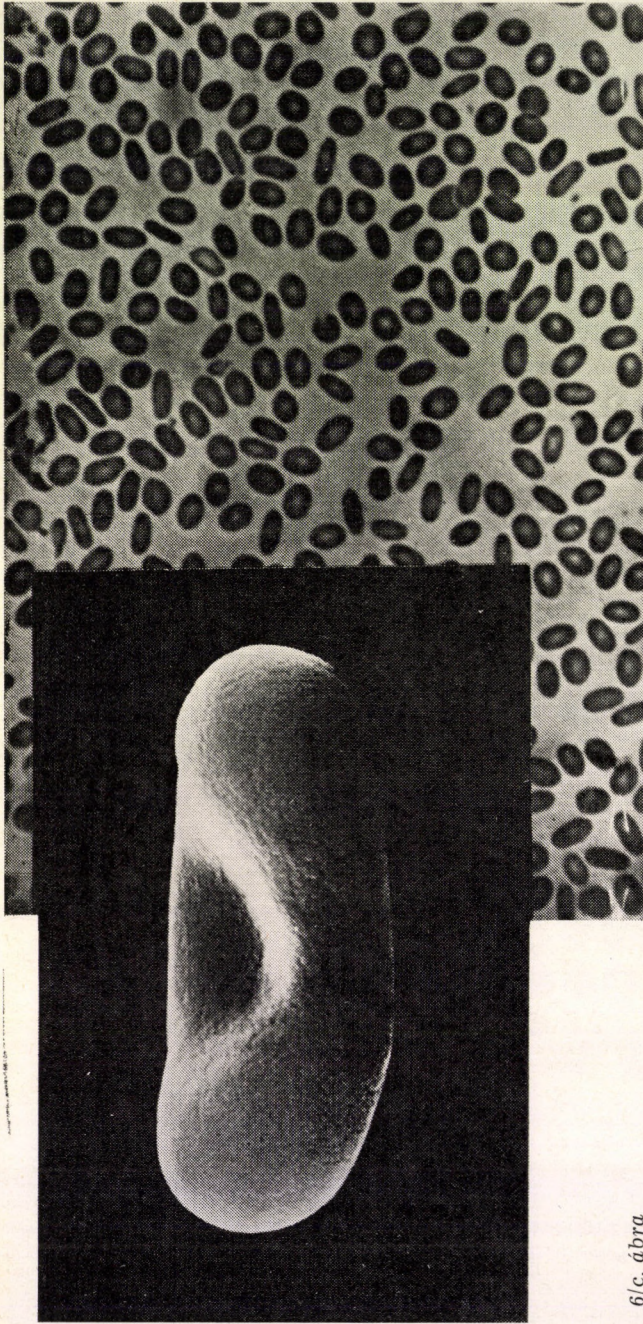
De hogyan is jön létre a „sarlósodás”? A történések fontos eleme, hogy az axyaemoglobin konformációja eltér a desoxyhaemoglobintól. Mikor a vértesték leadja oxigénjét, a beta-láncok 7 Å-nyival elmozdulnak, eltávolodnak egymástól (a haemoglobin molekula „lélegzik”). A hydrophil glutaminsav kicserélődése hydrophob valinra azzal a következménnyel jár, hogy az első és a hatodik pozícióban levő valin között hydrophob gyűrű alakul ki, amely kapcsolószerű struktúrát alkot a vértesték beta-láncának felszínén és a desoxygenált haemoglobin molekulát egy hasonló molekulával összeköti. Így hosszú vértesték-fonalak alakulnak ki, melyek kötegekbe rendeződnek. Ezek a rugalmatlan „kábelek” deformálják a vörösvérsejteket,



6/b. ábra

sarló- vagy félhold alakúvá változtatva őket. Elektronmikroszkópos felvételen az S-haemoglobinból álló kötegek ma már *láthatóvá* váltak (5. ábra).

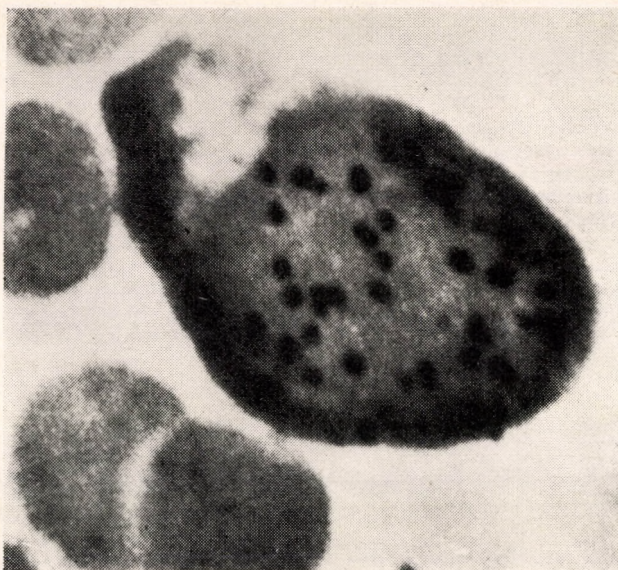
Az elektronmikroszkópos képeknek *stereo-változata* is létezik. Az ilyen „stereoscan” felvételeken a sejtek térbeli kiterjedése jól látható. A 6. ábrán összehasonlíthatók egyes kóros erythrocyták fénymikroszkópikus és stereoelektronmikroszkópikus képei. Az információs érték lényeges növekedése nyilvánvaló.



6/c. ábra



7. ábra: A sejtmag kilöködése egy magas vörösvérsejtből. Fáziskontraszt-mikroszkópos filmfelvételek élő vörösvérsejtéről



8. ábra: A fekete foltok a sejtmagban képződött DNS-t „jelzik” az autodiographiás felvételen

A mozgóképek megörökítik a sejt életének egyes folyamatait. A 7. ábrán megfigyelhető egy erythroblast magjának kilökődése a sejtől. A cytoplasma alakváltozása a sejtmozgás következménye a mag-kilökődés folyamán.

Autoradiográfiával egyes elemeknek és vegyületeknek a sejten belüli útja és sorsa is követhetővé vált. Ha például timidint (a DNS-molekula egyik építőkövét) valamely elem sugárzó izotópjával (pl. tríciummal) megjelölünk, a jelzett vegyület — miközben beépül a DNS-be — „értesít” saját sorsáról azáltal, hogy sugárzása nyomot hagy a készítményt befedő sugárérzékeny rétegen, jelezve azt is, hogy hol és mennyi DNS képződött (8. ábra).

A röntgen-diffrakciós eljárás azon alapul, hogy a röntgensugár nyalábja miközben valamely „rendezett” nagy molekulán áthatol, a vegyületet alkotó kisebb egységeken, mint valami rácson szétszóródik. Az eltérített sugarak találkozásakor interferencia-kép keletkezik és az fényérzékeny lemezen rögzíthető. A röntgen-diffrakciós képből a vizsgált vegyület szerkezete (a részecskék méretei és egymástól való távolságuk) kiszámítható, de magán a felvételen is szinte már látható a vegyület felépítése.

A szabad szemmel való látástól tehát eljutottunk odáig, hogy nemcsak a sejtek, sejt-organellumok, hanem egyes bonyolult vegyületek szerkezete, sőt bizonyos elemek atomjainak csoportjai is láthatóvá váltak. Nem igazolódtott az a harmincas évekből származó pesszimista jóslat, hogy a morphologia napjai meg vannak számlálva, mert további fejlődésére már nem lehet számítani.

*Бернат И.*, отст. полковник м/с:

## ДОСТИЖЕНИЯ МОРФОЛОГИИ В ГЕМАТОЛОГИИ

Совершенствование приемов морфологических исследований позволило расширять цитологические исследования, применяемые в гематологии, от клеточного уровня до субклеточных и молекулярных уровней. Применением новой техники стало возможным распознавание митохондрий, сидеросом, отдельных структурных элементов разных мембранов, железомицелл кристаллов ферритина и т. д. Стереозлектроинно микроскопия дала возможность для пространственного микроскопического зрения, цитохимия — для «топохимического» изучения макромолекул неорганических веществ, а ультрафиолетовая микроспектрофотометрия и — для количественного определения внутриклеточных белков и нуклеиновых кислот. Не оправдывалось мнение, что гематоморфология находится в кризисе и дальнейшего развития больше не ожидается.

Prof. Dr. *I. Bernát*, Oberst des Med. Dienstes i. d. R., Doktor der Med. Wissenschaften:

## ENTWICKLUNG DER MORPHOLOGIE IN DER HAEMATOLOGIE

Die Entwicklung der morphologischen Untersuchungsmethoden ermöglichte die Erweiterung der zytologischen Forschung in der Hämatologie von einer zellularen Ebene auf ein subzelluläres, bzw. molekulares Niveau. Durch Verwendung neuer technischer Mittel wurden die Mitochondrien, Siderosomen, die einzelnen Strukturelemente verschiedener Membranen, die Bündel des S-Hämoglobins, die Eisen-Myzellen von Ferritin-Kristallen usw. erkennbar. Mit Hilfe der Stereo-Elektronmikroskopie wurde das räumliche mikroskopische Sehen, der Zytochemie jedoch das „topochemische Studium“ von Makromolekullen und anorganischen Stoffen, ferner durch Ultravioletten-Mikrospektrometrie die quantitative Bestimmung intrazellulärer Eiweiße, bzw. Nukleinsäuren ermöglicht. Es läßt sich die Anschauung nicht bestätigen, daß sich die Hämatomorphologie in einer Krise befindet und auf ihre weitere Entwicklung nicht mehr zu rechnen sei.