

AZ ULTRAHANG DIFFÚZIÓNÖVELŐ HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA*

TAMÁS GYULA, RONTÓ GYÖRGYI, TARJÁN IMRE

Orvosi Fizikai Intézet, Budapest

A szerzők rodanát-ionoknak béka sartorius és gastrocnemius extracelluláris terében történő diffúzióját vizsgálták és meghatározták a diffúziós együttható értékét. A kontroll izmokban a diffúziós együttható értéke $D = 3,6 \cdot 10^{-4}$ cm²/perc. Ultrahangkezelés hatására mind az extracelluláris térbe befelé, mind pedig az extracelluláris térből kifelé irányuló diffúzió megnövekedett. A diffúziós együttható értéke befelé áramlaskor a kontrollénak négyszerese, kifelé áramlaskor ennél 150%-kal kisebb. A rodanát-ion az extracelluláris tér telítéséhez szükséges mennyiségen túl is belép az izomba ultrahang besugárzásra. Ennek oka minden valószínűség szerint az, hogy a rodanát-ionok belépnek az izomsejtekbe.

I. Az ultrahang diffúziónövelő hatásával kapcsolatban az irodalomban számos modell —, illetve néhány kvalitatív biológiai kísérletet találunk. Az ezekben közölt eredmények jórésze azonban egymásnak ellentmondó és általában megegyeznek abban, hogy nem tisztázzák az ultrahang hatásmechanizmusát, még kevésbé igyekeznek biológiai objektumokon kvantitatív vizsgálatokat végezni.

Tamás és Tarnóczy [1, 2, 3] ilyen irányú vizsgálataikban megállapították, melyek azok a tényezők, amelyek felelősek ezért a hatásért. Akkori vizsgálataik cellofán hártján keresztül történő diffúzióra vonatkoztak és az egyes hatáskomponensek között olyan összefüggéseket állapítottak meg, amelyeknek segítségével ki tudták számítani azok százalékos részvételi arányát.

Jelen kísérleteinkben az ultrahang diffúzió növelő hatását kvantitatíve vizsgáltuk továbbélő állati szövetekben. Vizsgálataink in vitro történtek, így az ultrahang primer diffúziós hatását elválasztottuk a keringés, az idegrendszer befolyásolása következtében létrejövő szekunder diffúziós hatástól. Kísérleteinkhez békaizmokat használtunk, mivel ezeken a diffúziós folyamatok igen jól vizsgálhatók. Minden ilyen izom egyes rostokból áll, amelyek között laza kötőszövet foglal helyet. A rostok közötti tér az ún. extracelluláris tér. Ez a tér szabad diffúziós összeköttetésben áll a környező folyadékkal. Diffundáló anyagként olyan anyagot igyekeztünk választani, amely egyáltalán nem, vagy

* Elhangzott az 1959. április 7-én Budapesten tartott Ultrahang Kollokviumon.

Érkezett: 1959. április 25.

csak igen kismértékben lép keresztül a sejthártyán, hogy méréseinkben ilyen módon a diffúziós folyamatokat jól szét tudjuk választani a penetrációs folyamatoktól. Erre a célra rodanát (tiocianát, SCN⁻)-ion megfelelőnek látszott. Méréseink alapján meghatároztuk a diffúziós együttható értékét ultrahangozott és nem ultrahangozott izmokban.

Kísérleteinkhez lemez alakú sartorius, ill. megközelítőleg henger alakú gastrocnemius izmokat használtunk. Kipreparálás után kétféle módon jártunk el. Egyrészt a befelé irányuló diffúzió vizsgálatához az izmokat különböző hosszú ideig 800 kHz frekvenciájú, kb. 2,5 watt/cm² intenzitású ultrahangtérbe helyeztük 25 ml 0,1%-os NaSCN-t tartalmazó fiziológias Ringer-oldatban, amelynek a pH-ja 7,0 volt. Besugárzó berendezésünk hűtőköpennyel ellátott üvegedény volt [4]. A hőmérsékletet a hűtőköpenyen átáramoltatott víz segítségével 20°C-on tartottuk $\pm 2^\circ$ pontossággal. A kontroll izmokat azonos időig és azonos körülmények között áztattuk a rodanátos Ringerben. Az ultrahang hatásra, ill. a spontán bediffundált rodanát mennyiségét Barker [5] ferrirodanátos módszerével határoztuk meg.

Kísérleteink másik csoportjában a rodanát-ionnak az izomból kifelé történő diffúzióját vizsgáltuk. Az izmokat ebben a kísérletsorozatban 60 percig 25 ml rodanátos Ringer-oldatban tartottuk, ezután 25 ml rodanátmentes Ringerbe helyeztük. A koncentrációgradiens biztosítására megfelelő időközökben az izmokat új Ringerbe tettük át és ezen áztató oldatok meghatározott mennyiségét használtuk fel a kiáramló rodanát mennyiségének meghatározásához. Az ultrahanggal végzett kísérletekben hasonlóképpen jártunk el, csak itt a rodanátmentes Ringerben való áztatásnál az izmokat ultrahang térbe helyeztük.

A diffúziós együttható meghatározására Fick II. egyenletének egyik megoldását használtuk henger-, ill. lemez alakú testek esetében [6]. Fick II. egyenlete:

$$\frac{dc}{dt} = D \frac{d^2c}{dx^2} \quad (1)$$

ahol c a beddiffundált anyag pillanatnyi koncentrációja az izomban, D a diffúziós állandó. Az egyenlet megoldása r sugarú hengeres testre (gastrocnemiusra)

$$c = c_0, \quad x = 0, \quad x = 2r \text{ helyeken, ha } t > 0$$

$$c = 0, \quad 0 < x < 2r \text{ helyeken, ha } t = 0$$

határfeltételek esetében:

$$f = \frac{\bar{c}}{c_0} = 1 - 4 \left[e^{-\frac{Dj_{01}^2 t}{r^2}} \frac{Dj_{01}^2 t}{j_{01}^2} + e^{-\frac{Dj_{02}^2 t}{r^2}} \frac{Dj_{02}^2 t}{j_{02}^2} + \dots \right] \quad (2)$$

ahol $j_{01}, j_{02} \dots$ a Bessel-függvény zérus helyei.

Viszont

$$c = c_0, \quad x = 0, \quad x = h \quad \text{helyeken, ha } t > 0$$

és

$$c = 0, \quad 0 < x < h, \quad \text{helyeken, ha } t = 0$$

határfeltételek esetén h vastagságú lemez alakú testre (sartorius) az egyenlet megoldása:

$$f = \frac{\bar{c}}{c_0} = 1 - \frac{8}{\pi^2} \left[e^{-\frac{D\pi^2 t}{h^2}} + \frac{1}{9} e^{-\frac{9D\pi^2 t}{h^2}} + \dots \right] \quad (3)$$

Megfelelő hosszú idő esetén elegendő a zárójelben levő összeg első tagját számításba venni. Így befelé áramláskor gastrocnemiusra:

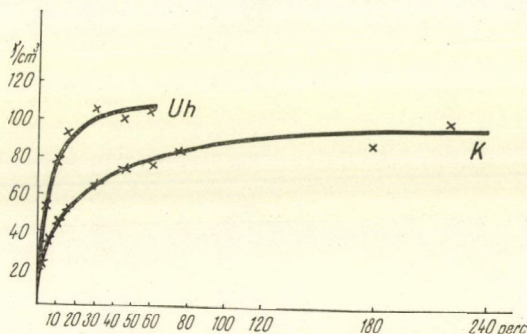
$$f = \frac{\bar{c}}{c_0} \sim 1 - 4 \frac{e^{-\frac{5,78Dt}{r^2}}}{5,78} \quad (4)$$

sartoriusra:

$$f = \frac{\bar{c}}{c_0} \sim 1 - \frac{8}{\pi^2} e^{-\frac{D\pi^2 t}{h^2}} \quad (5)$$

Kifelé áramláskor a megfelelő egyenletek $f' = 1 - f$ alakúak. Az egyenletekben \bar{c} a t perc után az izomban található rodanát mennyisége $\mu\text{g/ml}$ -ben, c_0 a befelé áramláskor az áztató folyadék koncentrációja, kifelé áramláskor pedig a rodanát kezdeti koncentrációja az izom extracelluláris terében $\mu\text{g/ml}$ -ben. $\frac{\bar{c}}{c_0}$ a rodanát telítési mértéke az izom extracelluláris terében.

II. Vizsgálatainkhoz 160 kecskebékát használtunk fel. Először az izomba befelé történő diffúziót vizsgáltuk. A nyert eredményeket gastrocnemiusra az 1. ábra mutatja. Az izomba bediffundált rodanát mennyiségét az idő függvényében ábrázoltuk. Az ábrán látható pontok 7–8 mérés átlagának értékeit ábrázolják. Hasonló ábrát kaptunk sartorius esetében is. A telítési értéket, vagyis azt az értéket, amikor az extracelluláris tér rodanát koncentrációja megegyezett a külső folyadékéval, a gastrocnemius 80 perc múlva, a sartorius 30 perc múlva érte el. Ezen időn túl folytatva



1. ábra. Kontroll, ill. ultrahangozott gastrocnemius rodanát-felvételének időbeli lefolyása

az áztatást, az 1 ml térfogatú izom által felvett rodanát mennyiség nem változott, ill. ha igen hosszú ideig, 3—4 órán keresztül áztattuk, akkor az izom rodanát tartalma kissé még növekedett. Ez mindkét görbén enyhe emelkedést okoz.

Ha a telítési értékre nyert összefüggések mindkét oldalát logaritmáljuk, akkor befelé áramlaskor gastrocnemiusra:

$$\log(1-f) = \log 0,691 - \frac{5,78 \cdot D \cdot t}{r^2} \cdot \log e \quad (6)$$

sartoriusra:

$$\log(1-f) = \log 0,81 - \frac{\pi^2 \cdot D \cdot t}{h^2} \cdot \log e \quad (7)$$

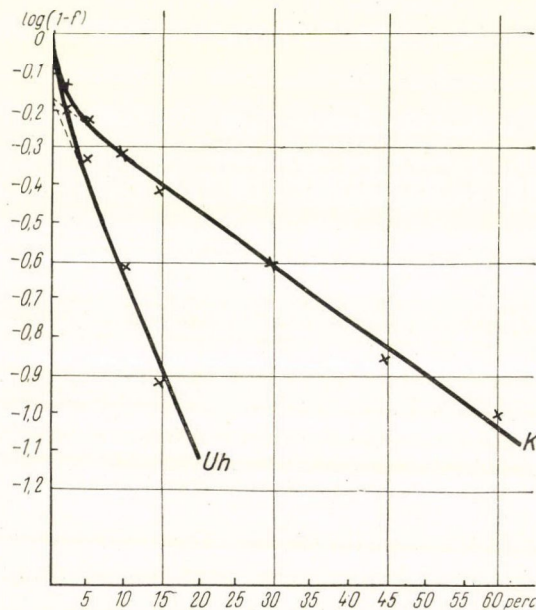
Kifelé áramlaskor gastrocnemiusra:

$$\log f = \log 0,691 - \frac{5,78 \cdot D \cdot t}{r^2} \cdot \log e \quad (8)$$

sartoriusra:

$$\log f = \log 0,81 - \frac{\pi^2 \cdot D \cdot t}{h^2} \cdot \log e \quad (9)$$

Az így nyert összefüggésekből látható, hogy $\log(1-f)$, ill. $\log f$ és az idő között lineáris összefüggést kapunk.



2. ábra. $\log(1-f)$ időbeli változása gastrocnemius esetében

Ha befelé áramlaskor a függőleges tengelyre a $\log(1-f)$ -et a vízszintes tengelyre pedig az időt mérjük fel percekben, a 2., ill. 3. ábrát nyerjük. Az ábrákon a görbék egyenes szakaszán meghatározott telítési értékhez tartozó időt leolvassuk és a fenti egyenletekből kiszámítjuk a diffúziós együttható értékét. A diffúziós állandó sartoriusra és gastrocnemiusra megegyezik, értéke:

$$D = 3,6 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^2/\text{perc.}$$

Az így nyert diffúziós állandót a diffúziós ellenállással korrigáltuk. Az ionok ugyanis nem mozgathatnak teljesen szabadon az extracelluláris térben, hanem meg

kell kerülniök az útjukban álló rostokat. Ezzel az ionok által megtett út meghosszabbodik. Így a diffúziós ellenállás (λ) számbelileg megmondja, hogy az ion által ténylegesen megtett út hányszorosa annak az útnak, amelyet az ion szabadon megtehetne. [7]. Számításaink szerint a diffúziós ellenállás gastrocnemiusnál 1,24, sartoriusnál pedig 1,5.

Az ultrahanggal besugárzott izmokban vizsgálva a rodanát mennyiségét, azt találtuk, hogy sokkal rövidebb idő alatt elértük a telítési értéket. (1. ábra).

A gastrocnemius kb. 15, a sartorius 5 perc alatt telítődött. A telítési idő csökkenése az ultrahanggal kezelt izomban azt jelenti, hogy a diffúzió sebessége megnövekedett. A diffúziós együttható értéke:

$$D = 14,4 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^2/\text{perc.}$$

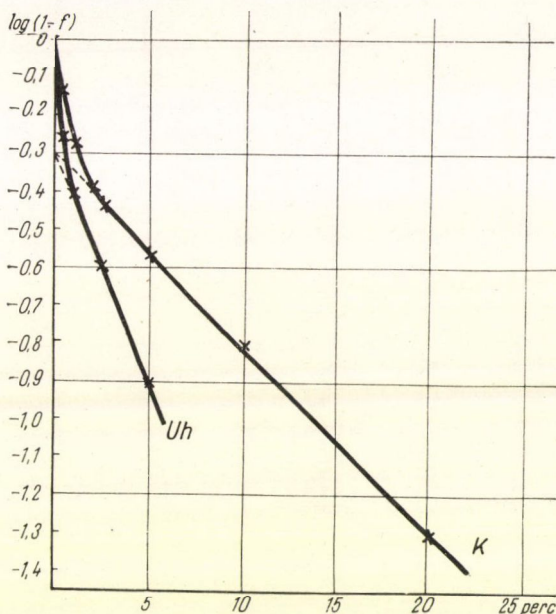
A növekedés négyszeres.

Ha az izmokat hosszabb ideig sugároztuk be, azt találtuk, hogy a telítési értéken túl is lépett rodanát az izomba. A gastrocnemiusnál 30—60 perces kezelés után már elértük a 100 $\mu\text{g/ml}$ szintet, amelyet a kontroll izomban csak hosszas, 4 órás áztatás után. Az emelkedés oka az, hogy a rodanát az ultrahang hatására a sejtfalon keresztül bejut az izomsejtbe. Gastrocnemius esetében 60 percnél hosszabb, sartorius esetében 5 percnél hosszabb besugárzást nem végeztünk, mivel ezen túl sugározva az izmokat, azok elpusztultak. Az izmok épségéről minden esetben ingerléssel győződöttünk meg.

Kísérleteink második részében a rodanát kifelé történő diffúzióját vizsgáltuk. Eredményeinket a befelé áramláshoz hasonlóan ábráztuk (4. ábra, egy-egy görbe felvételéhez kb. 10 izmot használtunk fel), és azt találtuk, hogy a rodanát kifelé történő diffúziójának üteme hasonló a befelé irányuló diffúzió üteméhez. Ha a görbe segítségével a diffúziós együtthatót kiszámoltuk, mind a két izomra a befelé történő diffúzió állandójával megegyező értéket kapunk.

$D = 3,57 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^2/\text{perc.}$

Az izmokkal a fenti kísérleteket ultrahangterben is elvégeztük. A nyert

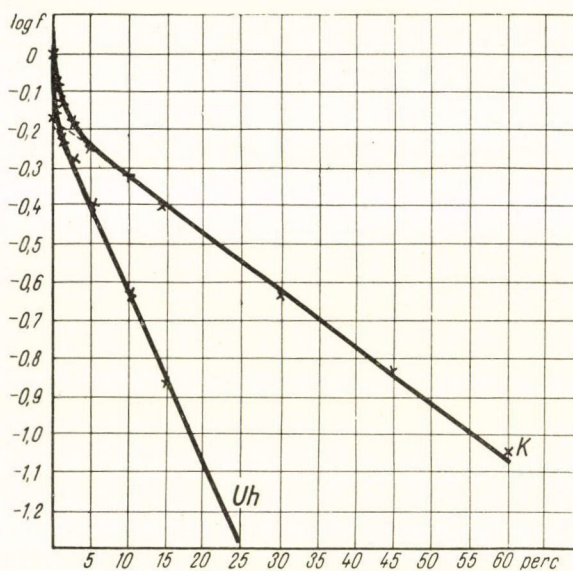


3. ábra. Log (1-f) változása sartorius esetében

görbék itt sokkal meredekebbek, az ionok diffúziója gyorsabb. Az ultrahang hatására befelé történő diffúzióval szemben azonban itt 15%-kal kisebb hatást találtunk, ami előző vizsgálataink [1, 2, 3] eredményeivel megegyezésben van. A diffúziós állandóra nyert érték:

$$D = 12,36 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^2/\text{perc.}$$

III. Ha eredményeinket értékelni akarjuk, a kapott diffúziós együtthatót össze kell hasonlítanunk az irodalmi adatokkal. Rodanát-ionoknak izomba történő diffúziójára azonban nem találtunk diffúziós együttható értéket. Ered-



4. ábra. Log f időbeli változása gastrocnemius esetében

ményeink azonban azt mutatják, hogy a diffúziós ellenállással megszorított diffúziós együttható értéke jól egyezik a szabad folyadékban mért értékkel. Az ultrahang diffúziónövelő hatását a négyszeresre növekedett diffúziós együttható értéke mutatja.

Az ultrahang diffúziót fokozó hatását, mint ahogy azt korábbi dolgozatunkban cellofán hártván végzett kísérleteink alapján megállapítottuk, főként a váltakozó nyomás, a kavitáció és a sugárnyomás okozza. Feltehető, hogy ugyanezek a hatások felelősek az izomba történő diffúzió esetében is a diffúzió

növekedésért. Kvantitatív eredményeink alátámasztják Pohlman [8] kvalitatív magyarázatát az ultrahang okozta diffúziónövekedésről. Pohlman az ultrahangot fizikai katalizátornak tekinti. Ha az ultrahang iránya az izom felületére merőleges és az oldott anyag (rodanát) kívül helyezkedik el, akkor a változó nyomás által létesített nyomásgradiens az egyik félperiódusban az áztató oldatból visz be az izom extracelluláris terébe oldott részecskét, a másik félperiódusban viszont az extracelluláris térből jut ki részecske az oldatba. A megfordult nyomásesés hatására mindig valószínű, hogy a többségben levőkből kerül át részecske a tulsó oldalra. A folyamat akkor lesz egyensúlyban, ha az átlépési valószínűség mindkét oldalon levő részecskékre egyenlő, azaz a külső és a belső koncentráció megegyezik. Természetesen ez a kicse-

rélődési folyamat magától is végbemegy (normális diffúzió), de az ultrahang ezt meggyorsítja.

A kísérleteinkben alkalmazott intenzitás mellett az izomban, mint anizotróp közegben kavitáció is létrejöhet és szerepet kaphat a diffúziónövelő hatásban.

A sugárnyomás szerepére a kifelé történő áramlás alkalmával tapasztalt diffúziós együttható csökkenés mutat.

A sartoriusra vonatkozó 3. ábrát megvizsgálva azt találjuk, hogy a görbe egyenes szakasza visszafelé meghosszabbítva a függőleges tengelyt nem a

$$\log(1-f) = \log \frac{8}{\pi^2} - \frac{\pi^2 \cdot D \cdot t}{h^2} \cdot \log e$$

egyenletnek megfelelő $\log \frac{8}{\pi^2}$ értéknél metszi, hanem lejjebb. Ezen eltérés valószínű magyarázata az lehet, hogy az izom térfogatához képest nagy felszínén a rodanát adszorbeálódott és ez az adszorbeált rodanát mennyiség, mint állandó additív tag hozzáadódik a bediffundált rodanát mennyiségéhez. Ilyen jelenséget a hengeres izom esetében, amelynek térfogat-felület viszonya nagyobb, nem találtunk. Ezt az állandó tagot kiszámítottuk és igazoltuk, hogy a görbe egyenes részének hajlásszögét, ill. a diffúziós együtthatót lényegesen nem befolyásolja. Kísérleti eredményeink alapján az adszorbeált rodanát mennyiségét a telítési koncentráció 30%-ának találtuk. Az izom egyszeri atmoszával ezt az adszorbeált anyagmennyiséget nem tudtuk eltávolítani. Ultrahanggal kezelt izom esetében is megvan ez a jelenség. A kérdés további tisztázására modell-kísérletet is végeztünk. Agar-agarból 0,1% rodanátot tartalmazó, az izommal kb. megegyező méretű lemezt készítettünk és az izomhoz hasonló módon diffundáltattuk ki a rodanátot. Ezen kísérletek alapján felvett görbénél a metszéspont megfelel az elméleti értéknek.

Az ultrahang diffúziónövelő hatása a biológiai és terápiás hatásmechanizmus szempontjából fontos. Ultrahang besugárzás ugyanis a szövetek kórosan megváltozott ion-egyensúlyi állapotát befolyásolhatja és azt a normálhoz közelítheti. Másrészt ultrahang segítségével gyógyszereket juttathatunk a bőrön keresztül a szervezetbe. Ilyen szempontból is végeztünk tájékoztató kísérleteket. Azt találtuk, hogy a keringés kikapcsolása után ultrahang besugárzásra sokkal több rodanát jut be a bőrön keresztül a békaizomba, mint besugárzás nélkül.

IRODALOM

- [1] *Tamás Gy.—Tarnóczy T.*, Magyar Fizikai Folyóirat 3, 543, 1955.
- [2] *Tarnóczy T.*, Magyar Fizikai Folyóirat 4, 67, 1956.
- [3] *Tarnóczy T.—Tamás Gy.*, Magyar Fizikai Folyóirat 5, 237, 1957.
- [4] *Tamás Gy.—Rontó Gy.*, Kísérletes Orvostudomány 9, 595, 1957.
- [5] *F. D. Snell, C. T. Snell*, Colorimetric Methods of Analysis 1957, New York, Van Nostrand Comp. Inc.
- [6] *W. Jost*, Diffusion 1957, Verlag D. Steinkopf, Dornstadt.
- [7] *H. Mc Lennen*, Biochim. Biophys. Acta 21, 472, 1956.
- [8] *R. Pohlman*, Die Ultraschalltherapie, 1951, Bern, H. Huber Verlag.