

A HYPOXIA ÉS HYPEROXIA HATÁSA ÉLETTANI FOLYAMATOKRA*

PÁLOS Á. LÁSZLÓ
az MTA rendes tagja

Közlésre érkezett: 1980. VIII. 24.

A sejtek sokrétű életfolyamataihoz a nélkülözhetetlen energiát makroerg foszfatvegyületek biztosítják. Ezek képződése a növényi chlorophyl közvetítésével a nap sugárzó energiájának és a légtér oxigénjének köszönhető. A ma már számos részletében felderített folyamat földi létünk egyik alapfeltétele és egyben a világegyetem functionalis összefüggéseinek bizonyítéka.

A sejtekben lezajló oxidációs folyamatok energetikai jelentőségét igazolják a *Drosophila melanogaster* Meigen, Oregon-R törzzsel végzett újkeletű kísérleteink is. (Pálos és Blaskó, 1979). Zárt térben, oxygen és nitrogen parciais nyomásának variációival hypoxias légteret hoztunk létre.

Ha a gázkeverék 5–7% O_2 -t és 93–95% N_2 -t tartalmazott a kísérleti állatok első generációjában, a lerakott peték száma közel a felére csökkent és minden fejlődési stádium ideje rendkívül meghosszabbodott. A kikelt lárvák igen kicsik voltak, fejlődésükben messze elmaradtak a kontroll állatok lárváitól. Imágóképződés nem volt, ami a továbbszaporodást kizárta.

A 10–12% O_2 -t és 88–90% N_2 -t tartalmazó gázkeverékben tartott állatok felsorolt hátrányos változásai lényegesen kisebb mérvűek. A kikelt lárvák mérete még nem normális, de nagyobb, mint az előző csoportban észlelték. Imágóképződés létrejön, ami a továbbszaporodás biztosítéka.

Ha az utóbbi gázkeverékben tartott állatok fejlődését több generáción át figyeljük, úgy fejlődési stádiumuk lassú, de fokozatos csökkenése észlelhető, ami az 5. generációban éri el tetőfokát. A 6. generációban imágóképződés alig észlelhető.

A hypoxia hatására a *Drosophilák* óriás chromosomái — arányosan a lárvák nagyságával — rendkívül megkisebbednek. További vizsgálatok hivatottak eldönteni, hogy hypoxia hatására létrejön-e olyan változás, ami genetikai szempontból bírna jelentőséggel. Alig képzelhető el ugyanis, hogy a chromosomák nagymérvű volumencsökkenésének ne lenne funkcionális következménye.

* Akadémiai székfoglaló. Elhangzott a Magyar Tudományos Akadémián 1980. április 23-án.

1. táblázat

A Drosophila melanogaster fejlődése különböző hypoxiás környezetben

A kísérleti egyedek nemek szerinti megoszlása: 15♀ : 10♂	Kontroll	5—7% O ₂ 93—95% N ₂	10—12% O ₂ 88—90% N ₂
Peték száma	130—150	60—70	90—105
A lárva állapot tartama	24—120 ^h	270 ^h	48—150 ^h
A báb állapot tartama	120—220 ^h	270 ^h	150—250 ^h
Az imágok száma	125—145	0	85—95

2. táblázat

A Drosophila melanogaster fejlődése több generation át 10—12% O₂ + 88—90% N₂-t tartalmazó légtérben

	Peték száma	Lárva std. tartama	Báb std. tartama	Bábok száma	Imágok száma
1. generatio	90—105	48—150	160—250	90—100	85—95
2. generatio	80—100	24—170	170—320	50—60	25—30
3. generatio	70—100	24—320	230—350	30—60	25—30
4. generatio	70—95	24—230	230—350	40—60	20—30
5. generatio	40—70	24—270	270—450	15—20	8—12

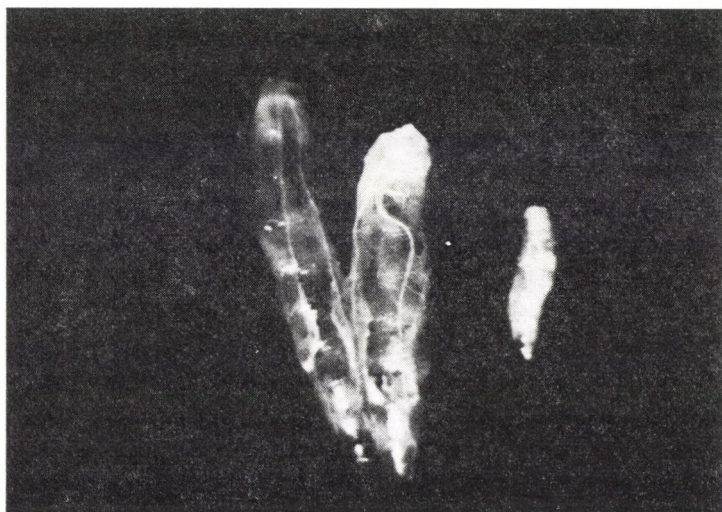
Ha hypoxia helyett, zárt légtérben az oxygen parcialis nyomásának fokozásával hyperoxiát hozunk létre, számos élettani folyamat károsodik.

Barokamrában tartott 200—220 gr-os hím, albino patkányok, ha 1,5—2 atm nyomás mellett 100% oxygént lélegeznek be, 24—48 óra alatt elpusztulnak. Boncoláskor súlyos tüdőoedema, hydrothorax, ascites, hepar moschatum, erősen dilatált szív és legkülönbözőbb szervekben súlyos vérzések észlelhetők. Az állatok vérében inkompensált acidosis alakul ki.

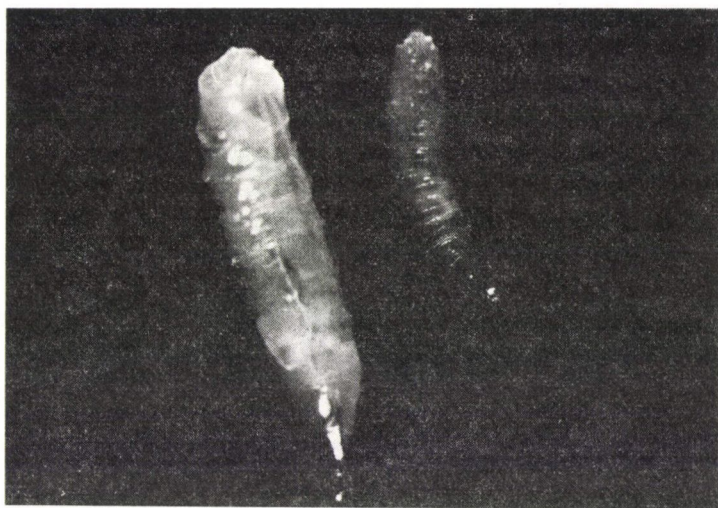
A 60% O₂ + 60% N₂-t tartalmazó gázkeverék rövidtartamú kísérletben változást nem okoz.

A keringő vér és a szövetek között a zavartalan O₂—CO₂ gázcsere függvénye a belégzett gázkeverék alkotórészeinek.

Magas parcialis nyomású oxygen hatására megnehezül vagy lehetetlenné válik a szövetekben képződött CO₂ leadása. Tehát a hyperoxia, azaz hyperoxaemia szöveti hypoxiát, hypercapniát eredményez, annak súlyos, gyakorlatilag minden sejtre kiterjedő következményeivel. Igen érzékenyen reagálnak a máj-sejtek.



1. ábra Hypoxias környezetben ($5-7\text{ O}_2 + 93-95\% \text{ N}_2$) tartott *Drosophila melanogaster* lárváinak gátolt fejlődése normalis légkörben tartott kontrollhoz viszonyítva

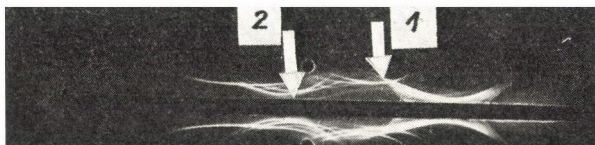


2. ábra Mérsékelt hypoxias környezetben ($10-12\% \text{ O}_2 + 88-90\% \text{ N}_2$) tartott *Drosophila melanogaster* lárváinak kismértékben gátolt fejlődése normalis légkörben tartott kontrollhoz viszonyítva

Ha az állatokat 12–24 órán át 1 atm. mellett tiszta oxigénben tartjuk, a lysosomák membránja áteresztővé válik, majd felszakad. Ezt tükrözi, hogy a kísérleti állatok májhomogenisatumában, a savanyú phosphatase és a cathepsin kifejezetten, míg a savanyú ribonuclease szabad aktivitásai mérsékelten

fokozódnak. A kiáramlás tényét bizonyítja, hogy az összaktivitás változatlan marad és a serumban mért enzimek aktivitása szintén fokozódik. (Nemesánszky és Pálos 1976).

A májműködésre kifejtett hatást igazolja továbbá, hogy az előbbi körülmények között tartott albino egerek immunoelektrophoresises képén az autochton májfehérjék csoportjában két jellemző elválkozás jön létre. (Pálos és Domán 1970).



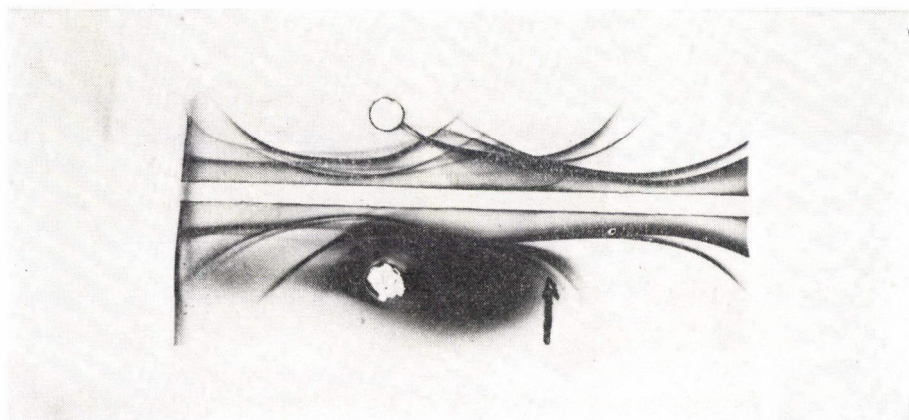
3. ábra Hyperoxias környezetben (12—24 órán át, 1 atm. mellett tiszta oxygenben) tartott egerek serum-fehérjéinek változása (1 és 2 jel), kontrollhoz viszonyítva

Az egyik változás az alfa-1 zónában látható. Az itt érintett két fehérje (az ábrán 1. számmal jelezve) immunoelektrophoresises íve jelentős koncentraciócsökkenésre utal. A másik eltérés az alfa-2 és béta zóna között van (ábrán 2. szám jelzi). Közvetlenül a vályúhoz simulva egy finom, de éles, hosszú ív jelent meg az oxygennel kezelt állatok savójában. Kontroll savóban ilyen elhelyezkedésű ív nincs.

Protein komplexus vagy degradációs termék közül az utóbbi a valószínű. Az immunoelektrophoresises vizsgálatok eredménye — összhangban az előbbi enzim-vizsgálatok értékeivel — fokozott enzimaktivációkra vezethetők vissza. Ezt döntően igazolja, hogy ha az oxygennel kezelt állat máját egészséges kontroll állat serumában homogenizáljuk és azt 37 C°-on 2 órán át inkubáljuk, az az alfa-1 frakciók jellemző elválkozása szintén létrejön (4. sz. ábra).

Az oxygen parciális nyomásának fokozódása kifejezett hatást gyakorol a haemostasisra is. A tolerancia határa, — hasonlóan korábbi adatainkhoz — a 40% O₂ + 60% N₂-t tartalmazó gázkeverék. A megfordított arány, azaz 60% O₂ + 40% N₂ hatása mérsékelt és csupán több nap után jelentkezik, — míg a 100% O₂ belégzése 24—48 órán át már 1 atm. nyomás mellett is, a disseminált intravascularis alvadás zavarát (DIC) hozza létre. Ez összetett hatás eredője. A széteső sejtekből szöveti thromboplastin szabadul fel, ami az alvadási rendszert aktiválja és a disseminált intravascularis coagulatio consumptios formája alakul ki; a thrombocyták és az alvadási faktorok fokozottan felhasználódnak. Kezdetben alvadákonyság észlelhető, ami szintén beleillik a DIC pathomechanizmusába.

Az alvadási paraméterek közül jellemző a megnyúlt alvadási idő, a fibrinogennel sem korrigálható megnyúlt thrombin-idő, ami fibrinogen degradációs termékek (FDP) jelenlétére utal. A fokozott fibrinogen (fibrin)olysist az erő-



4. ábra Hyperoxias környezetben (12–24 órán át, 1 atm. mellett tiszta oxygenben) tartott egerek májhomogenisatuma egészséges kontroll állat serumában homogenisálva az alfa-1 ívek koncentrációját (nyíl jelzi) csökkenti

sen pozitív ethanol gelatiós test és a tízszeresre hígított plasma thrombin idejének megnyúlása is igazolja. Súlyosbító tényező, hogy hypoxiában az érfalak, elsősorban a capillarisok fala is súlyosan károsodik. (Pálos és Agadjanjan 1974.)

Az 5. sz. ábrán Lendrum féle fibrinfestéssel készült vese szövettani képén jól látható a perivasalisan elhelyezkedő, pirosra festődő fibrin, ami élesen elkülönül a capillaris lumenén belül maradt, narancssárgára festődő vörösvértestektől. Ez az elhatároltság is bizonyítja, hogy a fibrinogen a károsodott capillaris falán keresztül jutott a szövetekbe, ahol megalvadt; míg a nagyobb volumenű vörösvértestek számára a capillaris fal nem átjárható. Néhol a capillarisok rupturája is megfigyelhető.



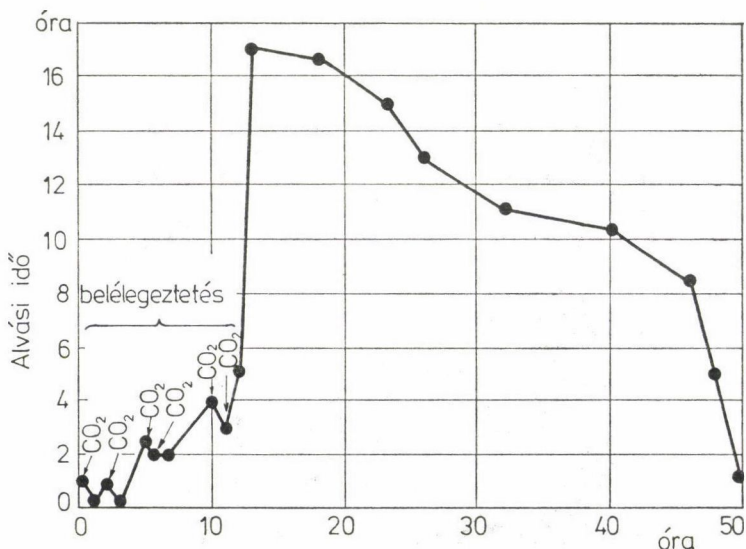
5. ábra Hypoxia hatására létrejött vérzések patkány vesében

A 60% O_2 + 40% N_2 -t tartalmazó gázkeverék belégzése 1 atm. nyomás mellett rövidtartamú kísérletben értékelhető változást nem okozott. Több nap után a DIC. jellemzői mutatkoztak. Ezt igazolták Agadjanjan és Ribakov (1971) kísérletei is. Önkéntes fiatal férfiak hyperbarikus kamrában, szigorú ellenőrzés mellett, 60% O_2 + 40% N_2 keveréket lélegeztek be. A thrombocyta szám és a fibrinogen szint lassú csökkenése, mint a kezdődő DIC jelei, a kísérlet megszakítására kényszerítettek. Egyéb károsodás nem fejlődött ki.

Ez a javaslatomra végzett kísérlet emberre vonatkoztatva is igazolta az oxygentolerancia határát és az úrutazás szempontjából bír különös jelentőséggel.

A következőkben, — több mint 30 év előtti — kísérletünket ismertetem röviden, miután a megoldatlan pathomechanizmushoz csupán az újabb irodalmi adatok látszanak magyarázatot nyújtani.

E. J. 23 éves szigorló orvos, haemorrhagias diathesise A-haemophilia. Hetek óta fennálló haematuria miatt vettük fel a Klinikára. Vérének alvadási ideje, Lee-White szerint mérve, 1 óra körül ingadozott. Miután haematuriája különböző beavatkozásokra sem csökkent, CO_2 belélegeztetést végeztünk. Erre az adott indítékot, hogy korábbi adataink alapján a kismérvű hypoxaemia — ellentétben a szélsőséges értékekkel — az alvadási, ill. vérzési időt rövidíti. A belélegeztetést — a mai meggondolás szerint helytelenül — tiszta CO_2 -vel, több alkalommal, rövid időközökben. 3–4 mély lélegzetvétellel végeztük. A lélegeztetési periódusok végén ismételten mértük a beteg vérének alvadási idejét, ami 2 percre csökkent. Az egy órás értékről 2 percre való csökkenés dőb-



6. ábra Haemophilias (A-típus) beteg alvadási idejének változása CO_2 -belégzés hatására

benetes volt; azonban a beteg haematuriája nem szűnt; ezért a lélegeztetést 24 óra folyamán többször megismételtük. Az alvadást csökkentő hatás mind kisebb mértékben jelentkezett, amit mindenkor megnyúlt értékek követtek. Az erőltetett lélegeztetések végül 17 órás alvadási idő-megnyúlást eredményeztek. Ez az ijesztő állapot csak 48 óra után szűnt meg, amikor az alvadási idő a kiindulási 1 órára csökkent. A haematuria az egész kísérlet folyamán nem változott (6. sz. ábra).

Ez a túldimenzionált — végül is szerencsés kimenetelű — kísérlet egy rendkívüli jelenség megismeréséhez vezetett, melynek mechanizmusára azonban magyarázatunk nem volt. Ismételt analysisre néhány új irodalmi adat szolgál indítékul, így többek között Owen és Wagner (1972) megállapításai, mely szerint az antihaemophiliás globulin egy 25 000 molekulasúlyú alvadásaktív fragmentumból és egy 2 000 000 molekulasúlyú hordozó fehérjéből áll. Valószínű azonban, hogy az óriás molekula több biológiailag aktív fragmentumból tevődik össze (Savidge és mtsai 1979).

Számos adat szól amellett — így Hoyer és Breckenridge (1970) megállapításai is, — hogy egyes A-haemophilia típusokban a VIII. factor inaktív formában jelen van; immunológiailag kimutatható.

Ide vonatkoztathatók Tocantins (1943, 1954) feledésbe ment vizsgálatai is. Szerinte az A-típusú haemophiliában a VIII. factor működését a beteg vérében jelenlevő inhibitor gátolja.

Ezen adatok megvilágításában a CO_2 — általunk észlelt különös hatása az A-típusú haemophiliás alvadási mechanizmusára talán úgy magyarázható, hogy betegünk antihaemophiliás globulinjának működése az óriás molekulán való térbeli elhelyezkedés vagy valamilyen inaktiváló tényező hatására gátolt. Ez a gátló hatás a CO_2 hatására — nem tisztázott mechanizmus alapján — átmenetileg oldódik. Az alvadási idő rövidülését követő rendkívüli — 17 órás — megnyúlás valószínűleg annak köszönhető, hogy a többször ismételt CO_2 belélegeztetés hatására a fel-felszabaduló (aktiválódó) VIII. factor — ami egyébként congenitalisan csökkent mennyiségben lehet jelen — elfogy és hiányállapot jön létre.

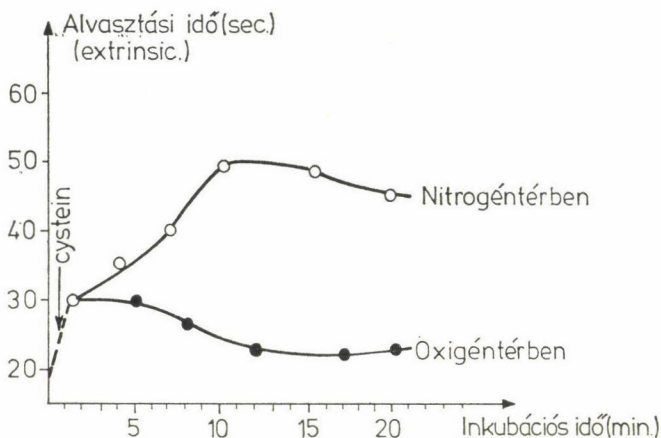
A hypoxaemia a fibrinolytikus rendszert is aktiválja (Philips és mtsai 1968), ami az alvadási idő megnyúlásában járulékos tényező.

A hypoxia és hyperoxia hatását nemcsak a szélsőséges értékek kapcsán vizsgáltuk. Több évtizedre visszanyúló és jelenleg is folytatott kísérleteink arra engedtek következtetni, hogy az atmosphaera normalis — tehát mintegy 21% — 175 Hgmm-t — kitevő oxigénjének belégzése szabályozó szerepet játszik a véralvadás mechanizmusában.

Az alvadási factorok, miként a fehérjék SS vagy SH csoportokat tartalmaznak, és ennek megfelelően redukálhatók, vagy oxydálhatók. Számos biológiailag fontos fehérje tartalmaz diszulfid vagy szulfhidril csoportokat és oxidációjuk, vagy reduktációjuk az illető fehérje biológiai inaktiválódásával jár. Ez

érvényes a véralvadás mechanizmusára is azonban a döntő körülmény, hogy az alvadási faktorok aktivitás tekintetében különböző módon viselkednek az oxydatióval, ill. reductióval szemben és hogy a folyamatok reverzibilisek.

A biológiai szabályozás szempontjából nagy jelentőségűnek tűnik az alvadási rendszer „bázis factorának” a prothrombin molekulának oxydo-redukciós viselkedése. Carter és Warner (1954) és magunk (1949a., 1960) kísérletei sze-



7. ábra Cysteinnel redukált prothrombin reaktivációja oxygen térben. A reaktiváció nitrogen térben nem következik be

rint, ha a tisztított prothrombint redukáljuk, inaktiválódik és reoxidáció révén visszanyeri aktivitását.

A reaktiváció már a levegő oxygenjének hatására is létrejön. A folyamat enzimhatást nem igénylő autooxydáció.

Carter és Warner a plasma prothrombin redukciónak nem tudta elérni. Saját kísérleteinkben erőlyes redukáló szerekekkel (cystein) ez létrejött, aminek magyarázata, hogy a plasmában a pozitív töltésátvitelek a redukciónak erőlyesen gátolják. Ezt Savidge és mtsai (1979) is megerősítették.

Kísérleteink szerint a VIII. faktor, hasonlóan a prothrombinhoz redukciónal inaktiválható, míg az V. és VII. faktor redox vonatkozásban ellentétesen viselkedik, oxydált formában inaktív (Pálos 1960, 1963).

Az utóbbi évek irodalmában mind több és több adatot olvashatunk a véralvadás mechanizmusában szerepet játszó tényezők oxydo-redukciós vonatkozásairól. Ezek mindinkább igazolni látszanak a több mint 30 éve fogalmazott, a véralvadás mechanizmusára vonatkozó oxydo-redukciós elméletemet, ami élettani szempontból a légzés, keringés és véralvadás funkcionális egységét jelenti. (Pálos 1949, 1954.)

Századunk uralkodó tudományos szemléletének, a funkcionális szemléletnek kísérleteink is szerény bizonyítékai. Bővülő tudásunk mind újabb és újabb kapcsolatokat derítenek fel, ami különös hangsúlyt nyer napjainkban, amikor az ember elhagyni képes a földet, — biospheráját, melyhez évmilliók folyamán adaptálódott. Kapcsolatai közül több tényezőtől, így az energia és az oxigén függőségtől nem szabadult, és számos egyéb kérdés megoldásának határai is inkább sejtettek, mint tudottak. A világegyetem megnyilatkozásainak tanulmányozása, — legyen az bármilyen szerény terület — alázatra kényszerítenek.

Ezúton is köszönetet mondok munkatársaim hatásos segítségéért és az illetékeseknek kísérleteim anyagi támogatásáért.

IRODALOM

- Agadjanjan, N. A. és Ribakov, B. K.: Exp. Hirurg. i. Anest. (CCCR) **61**, 66 (1971).
 Carter, J. R. és Warner, A. J.: Amer. J. Physiol. **179**, 549 (1954).
 Hoyer, L. W. és Breckenridge, R. T.: Blood **35**, 809 (1970).
 Nemesánszky, E. és Pálos, Á. L.: Acta physiol. Acad. Sci. Hung. **46**, 299 (1976).
 Owen, W. G. és Wagner, R. H.: Thrombos. Diathes. haemorrh. **27**, 502 (1972).
 Pálos, Á. L.: Acta Med. Scand. **134**, 221 (1949).
 Pálos, Á. L.: Nature **164**, 926 (1949a).
 Pálos, Á. L.: I. int. Tagung über Thrombose und Embolie. Basel, Rband. 54 (1954).
 Pálos, Á. L.: Thrombos. Diathes. haemorrh. **4**, 276 (1960).
 Pálos, Á. L.: Haemat. Hung. **3**, 89 (1963).
 Pálos, Á. L. és Domán, J.: Interkozmosz Kozmikus biológiai és orvosi symposium Budapest, **50**, (1970).
 Pálos, Á. L. és Agadjanjan, N. A.: Aviat. Space Environ. Med. **49**, 722 (1978).
 Pálos, Á. L. és Blaskó, Gy.: Aviat. Space Environ. Med. **50**, 411 (1979).
 Philips, L. L., Margaretten, W. és McKay, D. G.: Amer. J. Obstet. Gynec. **100**, 319 (1968).
 Savidge, G., Carlebjörk, G., Thorell, L., Hessel, B., Holmgren, A. és Blombäck, B.: Thrombosis Research **16**, 587 (1979).