

A VESE-VÉRÁRAMLÁS INTRARENALIS MEGOSZLÁSA NORMÁLIS KÖRÜLMÉNYEK KÖZÖTT PATKÁNYBAN*

HÁRSING LÁSZLÓ az orvostudományok doktora,
ROSIVALL LÁSZLÓ, PÓSCH ELEK az orvostudományok kandidátusa,
SIMON GYÖRGY az orvostudományok kandidátusa és S. LÁSZLÓ ÉVA

Közlésre érkezett: 1977 XI. 18.

Számos olyan módszer ismeretes, amelyekkel a vese corticalis és medullaris keringésére normális körülmények között jól egyező értékek nyerhetők. Ez azt látszott igazolni, hogy valamennyi eljárás egyaránt alkalmas a véráramlás intrarenalis megoszlásának meghatározására. Az egyes módszerekkel különböző kísérleti állapotokban talált rendkívül eltérő eredmények azonban kétségessé tették ezt a felfogást, és a módszerek elvének, valamint értékelhetőségének felülvizsgálatára vezettek. (Auckland, 1976; Lameire et al. 1977).

E módszerek mindegyike azon a feltevésen alapul, hogy a vesében a corticalis és a medullaris érpálya párhuzamosan kapcsolt rendszerek. Ez aligha vitatható a praeglomerularis érszakaszon, de az újabb morfológiai adatok alapján csaknem bizonyos, hogy nem érvényes a postglomerularis érszakaszra (Fourman, Moffat, 1971). Megfelelő funkcionális bizonyítékok hiányában azonban az eredeti felfogásban mindeddig nem következett be érdemleges változás.

Jelen közlemény célja nem a különböző módszerek kritikai értékelése, hanem az intrarenalis érpálya elrendezésének funkcionális módszerek (jelzett microsphaer-: béka-vörösvérsejt- és Rb izotóp frakcionálási módszer) együttes alkalmazásával való vizsgálata.

A microsphaer-módszer lényege, hogy a vesekeringésbe olyan alakos elemeket juttatunk, amelyeknek átmérője meghaladja a glomerulus capillarisok átmérőjét, s ezáltal fennakadnak a glomerulusokban. A vese, ill. az egyes kéregrétegek radioaktív izotópokkal jelzett microsphaer-tartalmából az ún. referencia flow segítségével a vesén, ill. az egyes kéregrétegeken átáramló vér mennyisége meghatározható (Stein és mtsai, 1973; Auckland, 1976; Lameire és mtsai, 1977).

A Rb izotóp frakcionálási módszer azon alapul, hogy a vérkeringésbe juttatott Rb-ot a szövetek perctérfogat-frakciójuk arányában viszonylag rövid idő alatt, gyakorlatilag teljes egészében felveszik. A vesében, ill. a vese egyes szövet-frakcióiban talált Rb-mennyiség, valamint az arteriás dilúciós

*A Magyar Tudományos Akadémia Orvosi Tudományok Osztálya tudományos ülésén (1977. május) tartott előadás alapján

görbe alapján a vese-véráramlás, ill. annak az egyes szövet-frakciók közötti megoszlása mérhető (Sapirstein, 1956; 1958).

A két módszer között az az alapvető különbség, hogy a microsphaer (béka-vörösvérsejt) módszerrel, minthogy a microsphaerek nem jutnak túl a glomerulusokon, a vesébe, ill. az egyes szövetrétegekbe praeglomerularisan beáramló vérmennyiség határozható meg. A Rb-módszer viszont, minthogy a Rb döntő többsége a postglomerularis capillariskból kerül az interstitumba, majd innen a sejtekbe, a vesén, ill. az egyes szövetrétegeken postglomerularisan átáramló vér mennyiségét jelzi. A két módszerrel nyert eredmények összehasonlítása tehát felvilágosítást nyújthat az intrarenalis érrendszer morfológiai elrendeződéséről.

Módszerek

A kísérleteket 40 db 200—250 g súlyú, CFY törzsű, vegyes nemű patkányon végeztük. A félszintetikus patkánytápon tartott állatokat a kísérlet előtt 12 órán át éhezettük, de vízfogyasztásukat nem korlátoztuk.

A kísérletek lefolyása

Pentobarbitál narkózisban (4 mg/100 g ip.) a jobb a. carotison és v. jugularison keresztül polietilén kanült (Portex pp. 10, ill. pp. 30) vezetünk a bal kamrába, ill. jobb pitvarba, a bal a femoralison át (pp. 25) pedig az aortába.

A preparálások befejezése után 15—20 perccel a carotis-kanülon át 0.2 ml ^{99}Tc -mal jelzett béka-vörösvérsejt szuszpenziót (kb. 0.2×10^6 vörösvérsejt, 7—10 μCi aktivitás) fecskendeztünk a bal kamrába, a femoralis-kanült megnyitottuk és a kifolyó vért az injekció beadása után 30 sec-ig gyűjtöttük.

A vérvétel befejezése után közvetlenül a jugularis-kanülon át 0.2 ml-es térfogatban 6—7 μC $^{86}\text{RbCl}$ -ot juttattunk egyetlen gyors injekció formájában a jobb pitvarba. Az injekció beadásának időpontjától kezdve folyamatosan arteriás vérmintákat vettünk 0.63 sec-os frakciókban, összesen 10 sec-ig (15 minta).

A Rb beadása után 60 sec-mal a laparotomiás metszésből feltárt veséket a hilus lekötése után eltávolítottuk, decapsuláltuk és súlyukat lemértük. Ezután a kéregből, a külső és belső velőből megfelelő súlyú szövetmintákat vágunk ki. Az egész kéregállományt tartalmazó blokkok egy részét két megközelítőleg egyforma vastagságú külső és belső rétegre osztottuk. A szövetmintákat és a vesemaradékot lemértük és cc. kénsavban feloldottuk.

A beadott vörösvérsejt-szuszenziót, Rb-oldatot, vér- és szövetmintákat megfelelően hígítottuk, majd aktivitásukat azonos térfogatban energiaszelektív

scintillációs lyukkristállyal lemértük a kísérlet után azonnal és 2 nappal később, amikor a ^{99}Tc -mal jelezett beadott béka-vörösvérsejt szuszpenzió már nem mutatott a háttérnél nagyobb aktivitást. Az első mérés eredménye tehát a ^{99}Tc - és ^{86}Rb -aktivitás összegét, a második mérés pedig a ^{86}Rb -aktivitást adta. A két mérési eredmény különbsége megfelel a ^{99}Tc -aktivitásnak, számításba véve a ^{86}Rb két mérés közötti bomlását.

A béka-vörösvérsejtek ^{99}Tc -mal való jelzése Baehler et al. (1973) módszere szerint történt. A béka-vörösvérsejtek átlagos hosszanti átmérője $25.5 \mu \pm 0.14$ átlagos haránt átmérője $16.0 \mu \pm 0.06$ volt. A vörösvérsejt-szuszenzióban ismételt vizsgálattal sem volt tekeresképződés kimutatható: a vörösvérsejtek eredeti alakjukat és nagyságukat megtartották. A béka-vörösvérsejteket több órán át a béka-szérumhoz képest hiperozmotikus patkányszérumban tartva sem észleltünk rajtuk zsugorodási jelenséget (hosszanti átmérő: $25.0 \mu \pm 0.18$).

Számítások

(1) Vese-véráramlás:

a) Jelzett béka-vörösvérsejt módszerrel (Tc-RBF):

$$\text{Tc} - \text{RBF} = \frac{\text{Tc}_{\text{vese}}}{\text{Tc}_{\text{vér}}} \cdot \text{RF},$$

ahol Tc_{vese} a vesében talált, $\text{Tc}_{\text{vér}}$ az a.femoralisból a vérrel kiürülő Tc-aktivitást, RF pedig a referencia áramlást jelenti.

b) Rb-módszer alapján (Rb-RBF):

$$\text{Rb} - \text{RBF} = \frac{60 \cdot \text{Rb}_{\text{vese}}}{\int_0^T \text{Ca}_{\text{Rb}} dt},$$

ahol Rb_{vese} a vesében talált Rb-aktivitást, $\int_0^T \text{Ca}_{\text{Rb}} dt$ pedig az arteriás Rb dilúciós görbe alatti területet jelenti az első keringésnek megfelelően.

A véráramlási értékeket ml/min/g vese adtuk meg.

(2) A véráramlás intrarenalis megoszlása:

a) A vesében talált Tc-aktivitás gyakorlatilag teljes egészében a kéregállományban van; a velő Tc-aktivitása az összaktivitás átlag 2.2 ± 0.38 %-a. A véráramlás intracorticalis megoszlásának számításakor figyelembe kell venni, hogy a vese ellipszoid alakja következtében a „külső” kéreg a kéregállomány nagyobb hányadát képezi, mint a „belső” kéreg. McNay és Abe (1970)

szerint a kéreg átlag 62.5 %-a esik a külső és átlag 37.5 %-a a belső kéregre.
Megoszlás:

$$\text{Külső kéreg (OC)} = \frac{T_{c_{OC}}}{T_{c_C}} \cdot 0.625$$

$$\text{Belső kéreg (IC)} = \frac{T_{c_{IC}}}{T_{c_C}} \cdot 0.375,$$

ahol $T_{c_{OC}}$ az 1 g külső, $T_{c_{IC}}$ az 1 g belső és T_{c_C} az 1 g teljes kéregben mért Tc-aktivitást jelenti.

b) A vesében talált Rb-aktivitás átlag 85 %-a a kéreg- és átlag 15 %-a a velőállományban van. A kéreg-velő súlyviszonyaira az irodalomban általában használt 70 % kéreg és 30 % velő megoszlást alkalmaztuk. Figyelembe véve a külső és belső kéreg megoszlási arányát, a külső kéregállományt a vese súly átlag 43.5 %-ának, a belső kéregét átlag 26.5 %-ának, a velőállományt pedig átlag 30 %-ának vettük.

Megoszlás:

$$\text{Külső kéreg (OC)} = \frac{Rb_{OC}}{Rb_{vese}} \cdot 0.435$$

$$\text{Belső kéreg (IC)} = \frac{Rb_{IC}}{Rb_{vese}} \cdot 0.265$$

$$\text{Velő (M)} = \frac{Rb_M}{Rb_{vese}} \cdot 0.300,$$

ahol Rb_{OC} az 1 g külső, Rb_{IC} az 1 g belső kéregben, Rb_M az 1 g velőben, Rb_{vese} pedig az 1 g teljes vesében mért Rb-aktivitást jelenti.

A külső kérgen, ill. belső kérgen, ill. velőn átáramló vérmennyiséget (OCBF, ill. ICBF, ill. MBF, ml/min/g vese) a Tc, ill. Rb megoszlási értékeknek a vese-véráramlással (Tc-RBF, ill. Rb-RBF) való szorzásával kapjuk.

Az eredmények statisztikai értékelésére a Student-féle egy mintás t próbát használtuk.

Eredmények

Az 1. táblázatból és az 1. ábrából látható, hogy a ^{99}Tc -mal jelzett béka-vörösvérsejt- és a ^{86}Rb -módszerrel mért vesevéráramlás értékek jól egyeznek. Ugyanakkor a külső kéreg Tc-módszerrel nyert százalékos véráramlása jelentősen magasabb a Rb-módszerrel kapott értéknél. A belső kéreg százalékos vér-

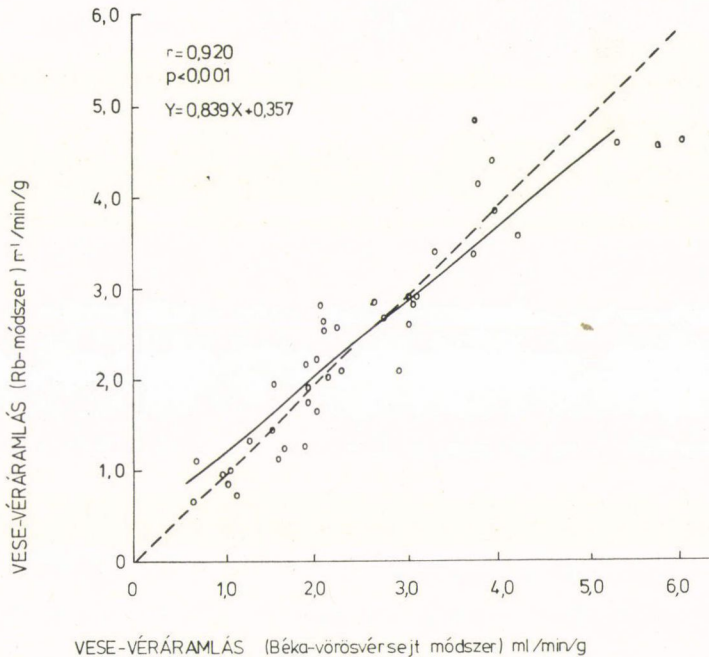
áramlása a két módszer alapján közel azonos, bár a Rb-érték statisztikailag szignifikánsan magasabb a Tc-értéknél. A velőben talált Tc elhanyagolhatóan csekély, a Rb-tartalom alapján számított százalékos véráramlás átlag 14,8 %.

1. táblázat

A ^{99}Tc -mal jelzett béka-vörösvérsejt- és a ^{86}Rb -módszerrel nyert vese-véráramlás és intrarenalis megoszlás értékek ($X \pm S.E.$)

^{99}Tc -módszer (n = 40)				^{86}Rb -módszer (n = 40)			
RBF ml/min g vese	OC%	IC%	M%	RBF ml/min g vese	OC%	IC%	M%
2,53 0,21	75,8 1,17	24,0 1,16	2,2 0,38	2,48 0,19	57,8 1,11	27,4 0,95	14,8 0,71
p < 0,001				p < 0,05			

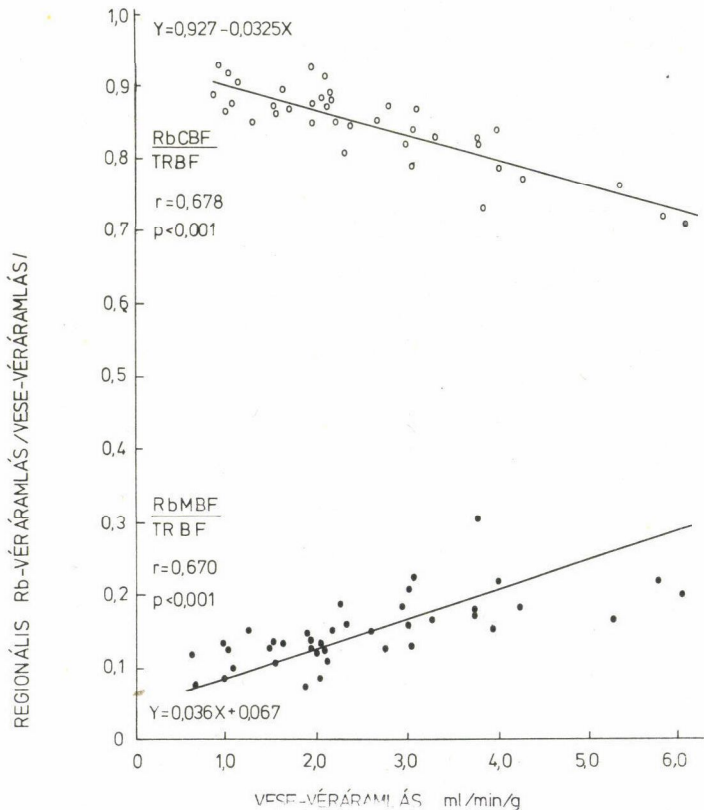
OC = külső kéreg; IC = belső kéreg; M = velő



1. ábra A béka-vörösvérsejt- és a Rb-módszerrel mért vese-véráramlás közötti összefüggés

A velő véráramlását a belső kéregben elhelyezkedő glomerulusokon keresztül kapja, így várható volna, hogy a belső kéregbe áramló vérmennyiség a belső kéreg és a velő véráramlásának összegével egyezzen. A Tc-módszerrel nyert átlag 26,2 %-os értékkel szemben azonban a Rb-módszer átlag 42,2 %-os (belső kéreg + velő) értéket mutat. A beáramló és az átáramló vérmennyiség közötti deficitet a be- és az átáramló vérmennyiség között a külső kéregben mutatkozó ellentétes irányú eltérés fedezi.

A 2. ábra a Rb kéreg- és velőállomány közötti megoszlását mutatja a jelzett béka-vörösvérsejtekkel mért RBF függvényében. A veseáramlás növeke-

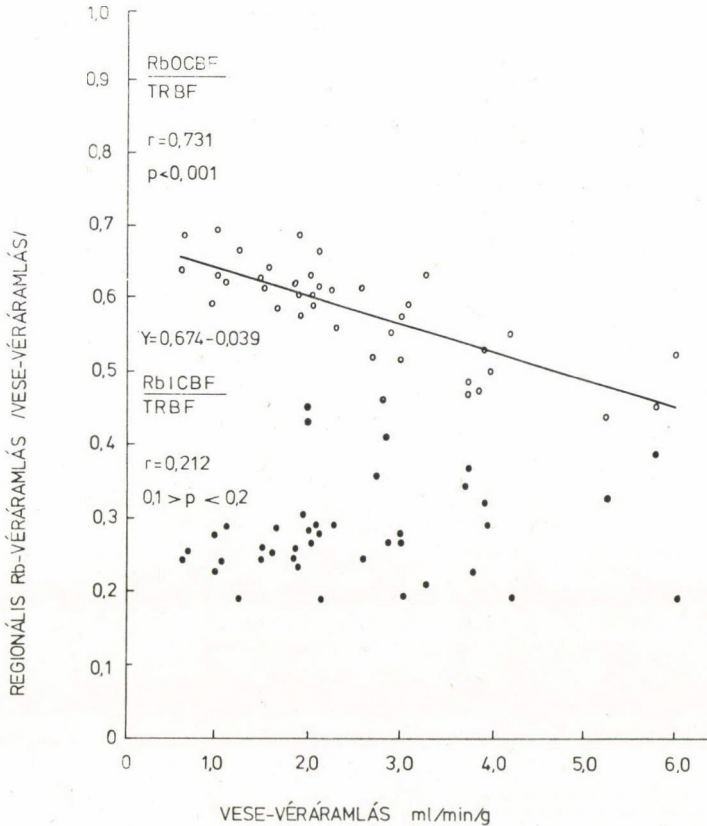


2. ábra A véráramlás corticalis, ($RbCBF/TRBF$) ill. medullaris ($RbMBF/TRBF$) frakciója és a vese-véráramlás közötti összefüggés

désével a Rb corticalis frakciója folyamatosan csökken, a Rb medullaris frakciója pedig folyamatosan nő. A veseáramlás növekedésekor tehát a Rb-módszerrel mért corticalis áramlás kevésbé, a medullaris áramlás pedig jobban nő, mint a vese-áramlás. A Rb corticalis és medullaris frakciója, valamint

az elektromagnetikus áramlásmérővel mért vese-véráramlás között teljesen azonos összefüggést találtunk kutyán végzett kísérleteinkben is.

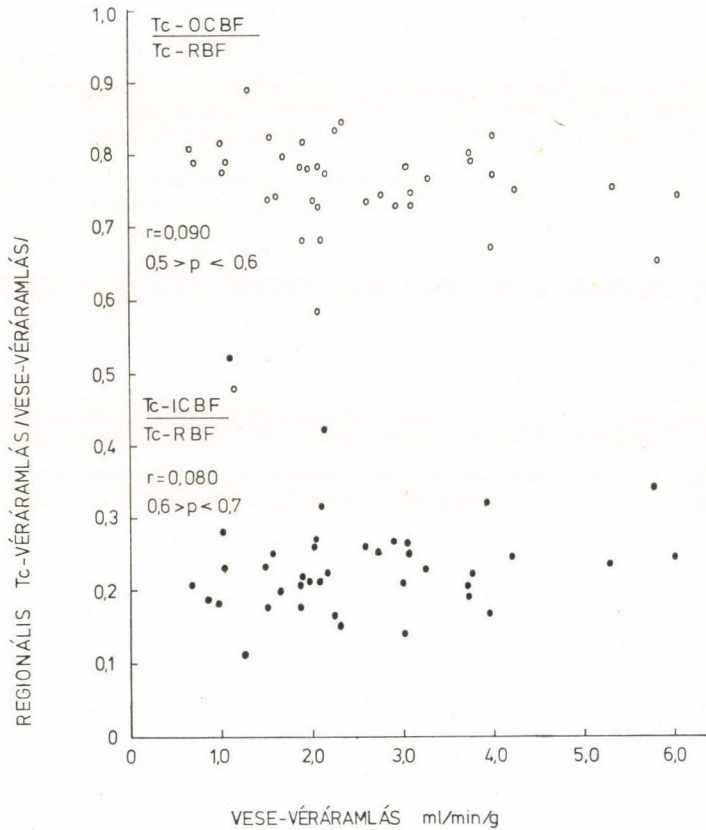
A Rb corticalis frakciójának csökkenésében a külső és a belső kéreg különböző mértékben vesz részt (3. ábra). Míg a külső kéreg relatív Rb-tartalma



3. ábra A véráramlás Rb-módszerrel mért intracorticalis megoszlása és a vese-véráramlás közötti összefüggés (RbOCBF=külső kéreg; RbICBF=belső kéreg)

(Rb outercorticalis frakciója) a veseáramlás növekedésével folyamatosan csökken, és a kettő között szoros inverz korreláció áll fenn, addig a belső kéreg relatív Rb-tartalma (Rb innercorticalis frakciója) a veseáramlástól függetlenül közel állandó szinten marad, közöttük korreláció nem mutatható ki. Ez arra enged következtetni, hogy a Rb corticalis frakciójának a veseáramlás növekedésével együtt járó esése kizárólag a külső kéreg relatív Rb tartalmának csökkenéséből adódik.

A Rb, ill. a Rb által jelzett véráramlás intrarenalis megoszlásában fellépő változások nem tükröződnek a Tc-mal jelzett béka-vőfösvérsejtek, ill. az általuk indikált véráramlás intrarenalis megoszlásának változásában (4. ábra). Mind a külső, mind a belső kéreg relatív béka-vörösvérsejt-tartalma függetlennek



4. ábra A véráramlás jelzett béka-vörösvérsejt-módszerrel mért intracorticalis megoszlása és a vese-véráramlás közötti összefüggés (Tc-OCBF=külső kéreg; Tc-ICBF=belső kéreg)

látszik a veseáramlástól, közel állandó értéket mutat. A vese-véráramlás növekedésekor tehát azzal arányosan nő mind a külső, mind a belső kéregbe beáramló vérmennyiség.

A két módszerrel nyert eredmények tehát azt mutatják, hogy a veseáramlás növekedésével a külső kéregbe beáramló és a külső kérgen átáramló vér mennyisége közötti különbség fokozatosan nő, a belső kéregbe beáramló és a belső kérgen, valamint a velőn átáramló vérmennyiség közötti ellentétes irányú különbség fokozatos emelkedésével.

Megbeszélés

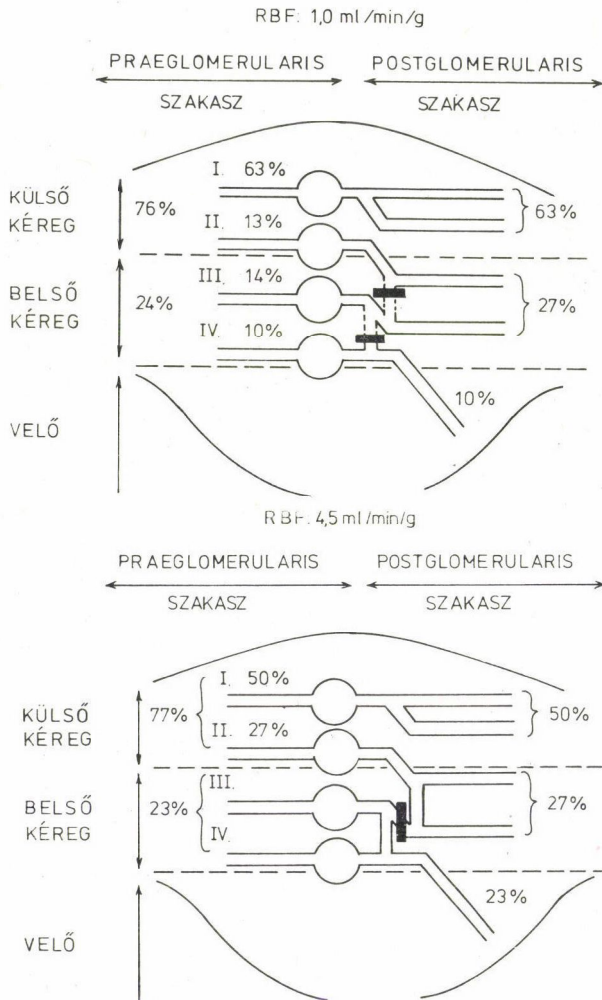
Az I. táblázatban feltüntetett átlagértékek szerint a külső kéregbe beáramló (75.8 %), és a külső kérgen átáramló (57.8 %) vérmennyiség közötti különbség azzal magyarázható, hogy a külső kéreg olyan praeglomerularis arteriolákat is tartalmaz, amelyek postglomerularis érterülete a belső kéregben van. A belső kéreg praeglomerularis arterioláinak egy része ellátja a maradék belső kérget, más része pedig a velőállományt.

Beeuwkes és Bonventre (1975) szerint a subcapsularis réteg glomerulusaiból eredő proximalis pars convolutákat és distalis tubulusokat az ugyanazon glomerulusokból származó (saját) efferensek perfundálják. Az ezekhez tartozó praeglomerularis arteriolák alkotják tehát a külső kéreg praeglomerularis arterioláinak azon csoportját, amelyek postglomerularis érterülete a külső kéregre lokalizálódik (I. csoport). A középső corticalis zóna glomerulusaiból eredő proximalis pars convolutákat, distalis tubulusokat, subcapsularis pars-rectákat, Henle-kaecokat viszont más, magasabban vagy mélyebben elhelyezkedő glomerulusok efferensei látják el. Az ezekhez tartozó praeglomerularis arteriolák tehát részben a külső kéreg praeglomerularis arterioláinak azon csoportjából, amelyek postglomerularis területe a belső kéregben van (II. csoport), részben pedig a belső kéreg praeglomerularis arterioláiból (III. csoport) adódhatnak. A kéreg legbelső (juxtamedullaris) rétegében fekvő glomerulusok efferensei vasa recta kötegeket képeznek és a velő vérellátását biztosítják. A belső kéreg praeglomerularis arterioláinak másik csoportja tehát nem vesz részt a belső kéreg postglomerularis vérellátásában, hanem a velőállományt látja el (IV. csoport).

Funkcionális vizsgálataink alapján azonban úgy tűnik, hogy a vese-véráramlás változásával az egyes praeglomerularis arteriola csoportok által ellátott postglomerularis érterületek megoszlása is változik. Relative alacsony (1.0 ml/min/g) vesevéráramlás mellett a praeglomerularis arteriolák I. csoportja a véráramlás átlag 63 %-át, II. csoportja 13 %-át, III. csoportja 14 %-át, IV. csoportja pedig átlag 10 %-át kapja. Ezzel szemben relatíve magas (4.5 ml/min/g) vese-véráramlás esetén a véráramlás átlag 50 %-a kerül az I., 27 %-a a II. és átlag 23 %-a a III. és IV. csoportba tartozó praeglomerularis arteriolákon át a vesébe. Más szóval, a vese-véráramlás emelkedésével a belső kéreg egész postglomerularis vérellátása egyre inkább a külső kéreg II. csoportú praeglomerularis arterioláiból származik, a belső kéreg valmennyi, III. és IV. csoportú praeglomerularis arteriolája pedig egyre inkább a velő postglomerularis vérellátásba kapcsolódik be. Az átrendeződést sematikusan az 5. ábra szemlélteti.

Az efferens anastomosisok kérdésében a morfológiai adatok bizonytalanok. Beeuwkes és Bonventre (1975), valamint Faarup et al. (1972) eredményei alapján efferens anastomosisok lehetősége a superficialis cortexben nagy való-

színűséggel kizárható. Bankir et al. (1973) szerint ugyanazon kéregréteg glomerulusainak vérellátása számottevően különbözhet egymástól, ha különböző típusú efferensekkel rendelkeznek. Nem lehetetlen, hogy a vérellátásban mutatkozó különbség különböző efferens kapcsolatokra utal. Az efferens arteriolák variabilitása főleg a középső (részben külső, részben belső) corticalis réteg glomerulusaira jellemző. Fourman és Moffat (1971) a postglomerularis szakaszon olyan kiterjedt összeköttetéseket találtak, amely lehetővé tenné egy diffúz, a kéreg felszínétől a papilla csúcsáig terjedő, összefüggő postglomerularis érrendszer feltételezését. Fourman és Moffat (1964, 1971) ennek alapján



5. ábra A véráramlás intrarenalis megoszlásának vázlata relatíve alacsony és relatíve magas vese-véráramlás mellett

felveti a velőállomány kettős, a vasa rectan és a juxtamedullaris kéreg capillarissain keresztül történő vérellátásának lehetőségét az aktualis haemodynamikai viszonyoktól függően. Fourman és Moffat (1964; 1971) megállapításai saját eredményeink értelmezésének morfológiai alapját képezhetnék. Ugyanakkor azonban Rollhäuser et al. (1964) és Kriz et al. (1976), bár a capillarissok közötti kapcsolatot szintén megállapítják, túlzottnak tartják Fourman és Moffat következtetéseit: szerintük az összeköttetések szerepe lokális vérellátási változásokra korlátozódik, általános, az egész vesekeringést érintő jelentőségüket kétségbe vonják.

Saját eredményeink megfelelő morfológiai bázis hiányában is azt látszik igazolni, hogy a postglomerularis erek, legalább is a mélyebb corticalis rétegekben, nem kizárólag párhuzamosan, hanem párhuzamosan és sorosan kapcsolt rendszert képeznek. Relative alacsony vese-véráramlásnál ennek az elrendeződésnek funkcionális következményei még nem nyilvánvalóak, a véráramlás növekedésével azonban egyre inkább szembetűnővé válnak. Ezzel állhat összefüggésben az az idegen gáz kimosási módszerek alkalmazása során szerzett tapasztalat is, hogy a vese-véráramlás változásakor nemcsak az egyes komponensekből számított véráramlás, hanem az általuk reprezentált szövetrész (vérellátási terület) nagysága is változik.

Összefoglalás

Szerzők a véráramlás intrarenalis megoszlását vizsgálták jelzett béka-vörösvérsejt- (microsphaer-) és Rb radioaktív izotóp frakcionálási módszer egyidejű alkalmazásával patkányban.

A külső kéregbe beáramló vérmennyiséget a külső kérgen átáramló vérmennyiségnél magasabbnak, a belső kéregbe beáramló vérmennyiséget a belső kérgen és a velőn átáramló vérmennyiségnél alacsonyabbnak találták. A külső kéreg praeglomerularis arterioláinak egy csoportja tehát a belső kéreg, a belső kéreg praeglomerularis arterioláinak egy csoportja pedig a velő postglomerularis vérellátásában vesz részt.

A vesekeringés változásával azonban az egyes praeglomerularis arteriola csoportok által ellátott postglomerularis érterületek megoszlása változik. Ebből arra következtetnek, hogy a mélyebb kéregrétegek postglomerularis erei nem párhuzamosan, hanem párhuzamos-sorosan kapcsolt rendszert képeznek. A morfológiai adatok ellentmondóak, de a funkcionális vizsgálatok alapján úgy tűnik, hogy az intrarenalis keringés az aktuális haemodynamikai (ellenállás) viszonyoktól függően hol döntően a párhuzamosan, hol döntően a sorosan kapcsolt rendszerekere jellemző véráramlás-megoszlást mutatja.

IRODALOM

- Aukland, K.*: in: *Kidney and urinary tract physiology*, ed. K. Thureau, vol. 2. 23. (1976)
- Baehler, R.W., Catanzaro, A.J., Stein, J.H., Hunter, W.*: *Circ. Res.* **32**, 718 (1973).
- Bankir, L., Farman, N., Grünfeld, J.P., Huet De La Tour, E., és Funck-Brentano, J.L.*: *Pflügers Arch. ges. Physiol.* **342**, 111 (1973).
- Beeuwkes III, R., és Bonventre, J.V.*: *Amer. J. Physiol.* **229**, 695 (1975).
- Faarup, P., Eyo, G., és Saelan, H.*: *Acta Pathol. Microbiol. Scand., Sect. A: Pathol.* **80**, 139 (1972).
- Fourman, J., és Moffat, D.B.*: *Symp. zool. Soc.* **11**, 57 (1964).
- Fourman, J., és Moffat, D.B.*: Blackwell Scientific Publications, Oxford, Edinburgh (1971).
- Kriz, W., Barrett, J.M., és Peter, S.*: in: *Kidney and urinary tract physiology*, [Ed. K. Thureau,] **2**, 1 (1976).
- Lameire, N.H., Lifschütz, M.D., és Stein, J.H.*: *Ann. Rev. Physiol.* **39**, 159 (1977).
- McNay, J.L., és Abe, Xy.*: *Circ. Res.* **27**, 571 (1970).
- Rollhauser, H., Kriz, W., és Heinke, W.*: *Z. Zellforsch.* **64**, 381 (1964).
- Rosivall, L., Walter, J., és Hársing, L.*: *Acta physiol. Acad. Sci. hung.* (in press) 1977
- Sapirstein, L.A.*: *Am. J. Physiol.* **193**, 161 (1958).
- Sapirstein, L.A.*: *Circ. Res.* **4**, 689 (1956).
- Stein, J.H., Boonjarern, S., Wilson, C.B., és Ferris, T.F.*: *Circ. Res. Suppl. 1*, **61**, 32 (1973).