

A GALAKTÓZAMIN MÁJKÁROSÍTÓ HATÁSA

MÉSZÁROS KÁROLY, ANTONI FERENC, az MTA levelező tagja,
LAPIS KÁROLY, az MTA levelező tagja, TOMPA ANNA, MANDL JÓZSEF,
SCHAFF ZSUZSA, az orvostudományok kandidátusa és GARZÓ TAMÁS

Közlésre érkezett: 1977. XI. 2.

1. Méregtelenítés vagy biotranszformáció?

Az állatok a szárazföldi élethez való alkalmazkodás során arra kényszerültek, hogy a belső környezetükbe jutott káros, illetve felesleges anyagokat a szervezetben belül gyorsan hatástalanítsák oxidáció, redukció, konjugáció vagy hidrolízis útján. Az említett folyamatokat főként a májsejtek endoplazmatikus retikulumában levő enzimrendszerek katalizálják. A májkapuérrendszer biztosítja, hogy a bélből felszívódó anyagok legnagyobb része csak a máj által végzett kémiai ellenőrzés után juthat a nagyvérkörbe.

A máj említett enzimrendszerei a kémiai védekezést, vagyis a méregtelenítést szolgálják. Mégis a „méregtelenítés” kifejezés helyett e májműködések egyre általánosabban a „biotranszformáció” elnevezéssel illetik. A „méregtelenítés” kifejezés mögött bujkáló józan teleológia a modern biológia számára már nem elfogadható. Nem nehéz belátni azt, hogy a biotranszformáció nem jelenthet kivétel nélkül minden esetben méregtelenítést. Egy olyan védekező rendszer, amely eredeti feladata szerint minden potenciálisan káros molekula ellen irányul, szükségszerűen többé-kevésbé aspecifikus. Működése tehát olykor óhatatlanul éppen a rendeltetésével ellentétes eredményhez vezet. Közismert példák bizonyítják, hogy a „méregtelenítő” rendszer által eszközölt átalakítás egyes semleges vegyületeket mérgezővé, olykor rákkeltő anyaggá változtat. Az enyhén mérgező széntetrakloridból súlyos májkárosodást okozó szabad gyökök keletkeznek; a dimetilnitrozamin az emberi májban karcinogén vegyületté alakul stb. (Dianzani és Gravela, 1975; Montesano és Magee, 1970). Az említett szemléletváltozásban lényeges szerepet játszik az is, hogy kémiai környezetünket a civilizáció rohamosan átalakítja. Az a biológiai működés, amely valamikor hasznosan szolgálta a faj fennmaradását, újfajta behatások esetén célszerűtlennek bizonyulhat (pl. a simafelszínű endoplazmatikus retikulumnak a tartós barbiturátkezelés hatására kialakuló hiperpláziája fokozza a paracetamol toxicitását; McLean, 1975). Jogos tehát a tárgyilagosabb biotranszformáció elnevezés használata.

A májba jutó vagy éppenséggel ott kialakuló mérgező anyagok elsősorban a májat károsítják. A kemizáció, az alkoholizmus és a gyógyszerek terjedése miatt a májbetegségek az orvostudomány és a kutatás legfontosabb — megoldatlan — problémái közé kerültek. Megállapításra vár a májgyulladás, a májcirrózis, a májrák és számos egyéb májbetegség patogenezisének pontos mechanizmusa. Nem tudjuk, hogy a krónikus májbetegségek már kialakult, részben hasonló kórképei mögött milyen rendellenes anyagcsere-folyamatok rejlenek. A májcirrózis kísérleti állatokon a legkülönbélebb szerves és szervetlen anyagokkal előidézhető.

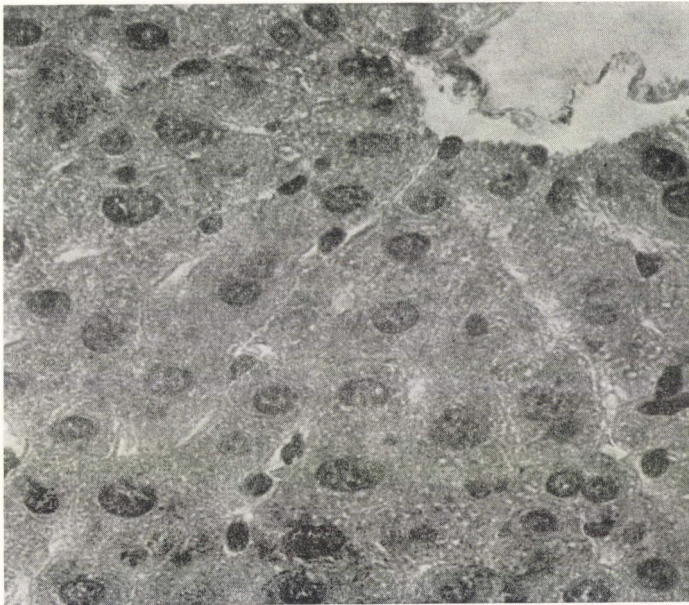
A kísérletes máj kutatás mégis alig egy tucat anyag vizsgálatára korlátozódik. Ezek a „hagyományos” májkárosítószeres részben szervspecifikus hatásukkal tűnnek ki (széntetraklorid, aflatoxin), részben pedig gyakorlati szempontból jelentősek (DDT, etanol). Hatásmechanizmusuk részleteinek a felderítése kutatók százait foglalkoztatja. Viszonylag új vegyület a sorban a *D-galaktózamin*, amelynek májkárosító hatását 1968 óta ismerik (Reutter és mtsai, 1968; Keppler és mtsai, 1968). A galaktózamin a vírushepatitiszhez hasonló morfológiai elváltozásokat okoz a májban, ezért vonta magára több kutatócsoport figyelmét. Mindazonáltal az e téren dolgozó kutatók számára kezdettől fogva magától értetődő volt az, hogy az egyszerű cukorszármazékkal előidézett májkárosodást nem lehet azonosnak tekinteni a vírus által okozott májgyulladással. A tünetek hasonlatosságának a magyarázatát nem a vírus és a hexózamin hatásmechanizmusának rokonságában kell keresni. Ma már egyre több biológiai jelenségnél el lehet különíteni a specifikus (a konkrét behatásra jellemző) és az aspecifikus (a reagáló sejtre, szövetre vagy szervezetre jellemző) reakciókat. Mivel a behatások igen különbözők lehetnek, viszont a biológiai objektum válaszlehetőségei korlátozottak, ezért a reakciók szükségszerűen többé-kevésbé aspecifikusak. Meg kell tehát ismernünk a célszerv, a máj válaszreakcióit, és azt is, hogy valamely specifikus hatás miként váltja ki az egyik vagy a másik reakciót. A további erőfeszítések során, úgy véljük, egyre nagyobb jelentősége lesz a morfológusok és a biokémikusok együttműködésének a májkárosodáshoz vezető folyamatok felderítésében. E közleményben a galaktózamin májkárosító hatásának néhány morfológiai és biokémiai jellegzetességével foglalkozunk.

A galaktózamin májkárosító hatása a legkülönbélebb fajokban (rágcsálók, majom, csirke stb.) kimutatható. Az intraperitoneális galaktózamin (1—2 mmól testsúlykilogrammonként) kezelés után 12—24 órával a májon feltűnő változásokat lehet megfigyelni: a máj színe fakósárgává válik, állománya lágy, képlékeny lesz. A szövettani kép az emberi akut vírushepatitiszre emlékeztet, ezért nevezték el ezt az állapotot galaktózaminhepatitisznek (Decker és Keppler, 1972). Egyéb szerveken nem található kóros elváltozás.

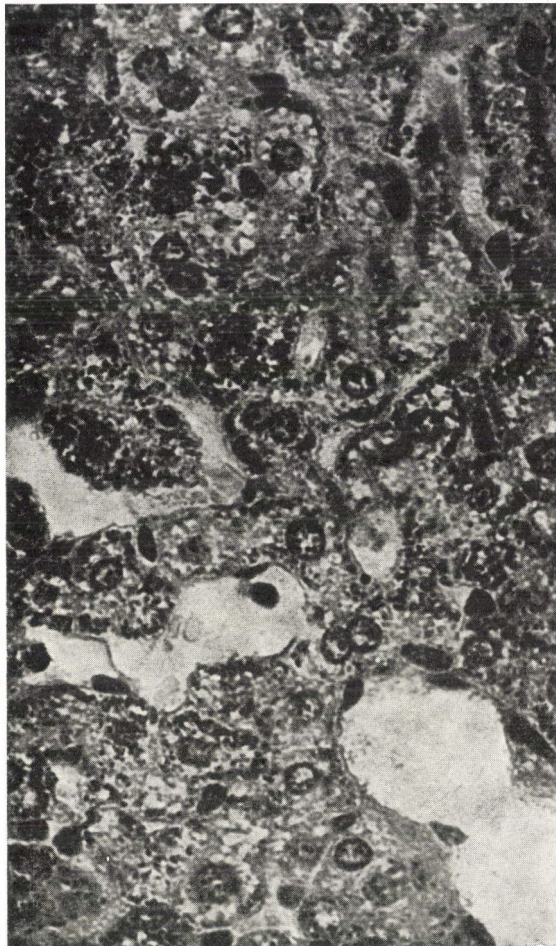
2. A galaktózaminhepatitisz morfológiai jellegzetességei

Galaktózamin egyszeri adása után 6–24 órával kialakul a heveny májgyulladásra jellemző szövettani kép. A kezelést követő 3–12 nap alatt az állapot a regeneráció jelei mellett rendeződik. Néhány, csak az emberi vírushepatitiszre jellemző elváltozás is megfigyelhető: unicelluláris nekrozisok, ballon sejtek és Councilman-féle testecskék (Decker és Keppler 1972; Lapis és Schaff 1973). A továbbiakban eltekintünk a fénymikroszkópos leletek részletes leírásától, mivel ezek jórészt megegyeznek az egyéb májkárosító szerekkel előidézett elváltozásokkal. Meg kell azonban említeni egy sajátos jelenséget. Fénymikroszkópos hisztokémiai vizsgálatokkal atípusos PAS pozitív, ill. Best kármin pozitív granuláció kialakulását mutatták ki a májsejtekben (1. ábra). Az említett hisztokémiai reakciók galaktózaminhepatitiszben a poliszaharidok rendellenes elhelyezkedését jelezték (Lapis és Schaff, 1973; Shinozuka és mtsai 1973).

A jellegzetes, csak a galaktózamin hatására fellépő morfológiai változásokat elektronmikroszkóppal észlelték. Az ultrastruktúra károsodása már korántsem hasonlít a vírushepatitiszben megfigyelt finomszerkezeti elváltozásokhoz. Elektronmikroszkóppal a májsejtek zsíros elfajulását, a simafelszínű endoplazmatikus retikulum proliferációját, valamint a sejtmagvacska sajátos degenerációját figyelték meg. A durvafelszínű endoplazmatikus retikulum degranulációja, valamint a poliszómák számának a csökkenése ugyancsak a



a)

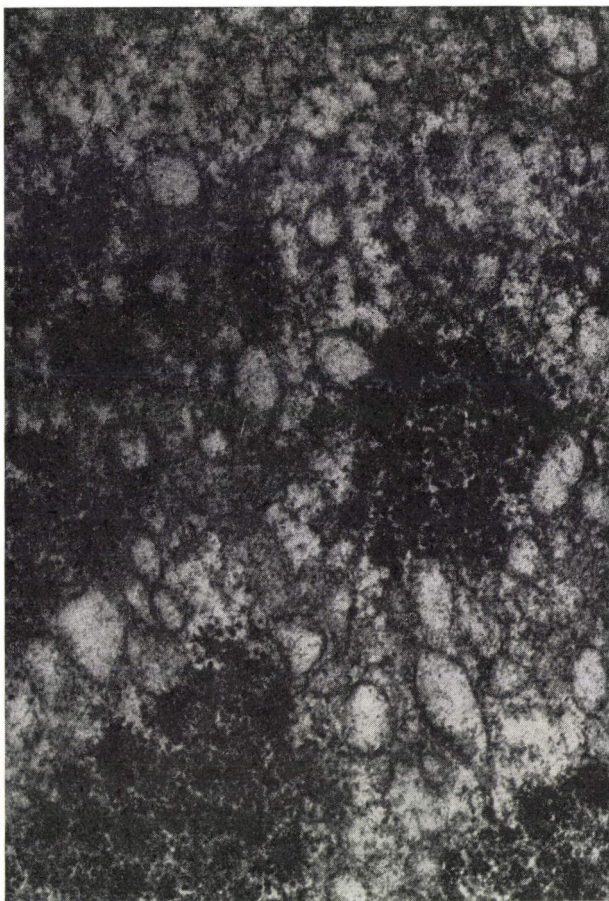


b)

I. ábra. PAS reakció kontroll (A) és galaktózaminnal kezelt (B) egerek májából készült metszeteiken. A kontroll szövetben egyenletesen eloszló, finom szemcsés granuláció látható. A galaktózamin-kezelés után 6 órával durva szemcsés PAS pozitív granuláció jelenik meg. 400×

specifikus ultrastrukturális elváltozások közé tartozik (Lapis és Schaff, 1973; Medline és mtsai 1970; Scharneck és mtsai 1972).

A citoplazmatikus aggregátumok a galaktózamin adását követő 2–6. órában jelennek meg. Az elektronrendez szemeshalmazok feltűnő és jellegzetes képletek (2. ábra), hasonló képződményeket semmilyen más májváltozásban nem figyeltek meg (Medline és mtsai 1970; Scharneck és mtsai, 1972; Lapis és Schaff, 1973; Shinozuka és mtsai 1973). Bármennyire szembeötlő képletek is a felvételeken látható citoplazmatikus aggregátumok, kialakulásuknak és összetételüknek a tisztázása hosszabb időt vett igénybe. Már az

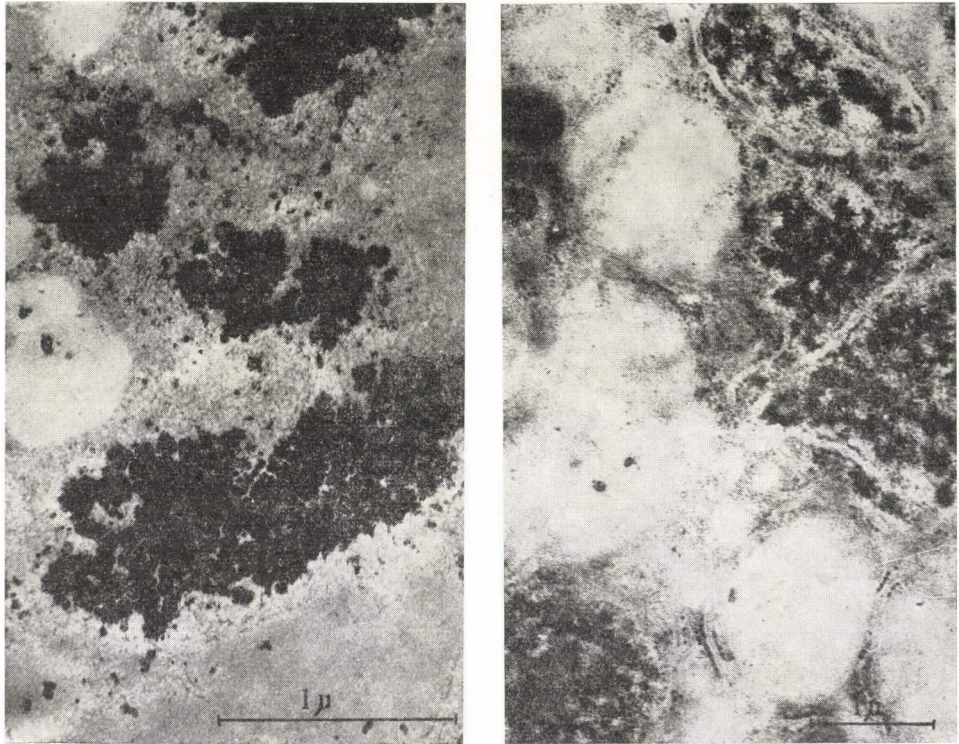


2. ábra. Elektronrendez aggregátumok elektronmikroszkópos képe a galaktózamin kezelés után 2 órával. OsO_4 fixálás, uranilacetát-ólomnitrát festés. $32\ 000\times$

eredeti kommentárok is összefüggést kerestek és találtak a fénymikroszkóppal megfigyelt PAS pozitív granuláció (poliszacharid) és az elektronrendez szemcsék között. Scharnbeck és munkatársai (1972) glikogénnek tartották a szemcséket. Látszólag ellentétben állt ezzel az a megfigyelés, hogy mind a PAS pozitív granuláció, mind pedig az elektronrendez anyag rezisztensnek bizonyult diasztáz kezeléssel szemben, amely pedig a metszetekben levő glikogént elemésztí (Shinozuka és mtsai 1973). Felmerült annak a lehetősége is, hogy az anyag riboszómákkal aggregált poliszacharid, amely a rendellenes glikoprotein szintézis terméke lenne (Shinozuka és mtsai 1973). Az utóbbi feltételezés egyben magyarázatot kínált a riboszómák sorsát illetően is, ugyanis már korábban megfigyelték a durvafelszínű endoplazmatikus retikulum degranulációját, azonban hiába keresték a feles számú riboszómákat a citoplazmában.

Mint hogy biokémiai oldalról elsősorban azt vizsgáltuk, hogy milyen módon gátolja a galaktózamin a fehérjék szintézisét a májban, meggyőző adatokra volt szükségünk arra nézve, hogy milyen állapotban találhatók a riboszómák, a poliszómák és a durvafelszínű endoplazmatikus retikulum a májsejtekben. Ennek tisztázásához elektronmikroszkópos hisztokémiai vizsgálatokra volt szükség. Ilyen vizsgálatokat végeztünk 1974 és 1976 között egérmájon, ugyanebben az időszakban Lesch és munkatársai (1976) a patkánymájban képződő aggregátumokkal foglalkoztak. Az elektronmikroszkópos hisztokémiai vizsgálataink eredményeit az alábbiakban ismertetjük.

A PAS pozitív granuláció módosult glikogént tartalmazó szemcséknek felel meg, amelyek mennyisége fokozható, ha a galaktózamin adását glukóz kezeléssel egészítjük ki. Az anyag diasztáz rezisztenciája csak viszonylagos, erőteljes kezelés hosszabb idő alatt elemésztí a szemcséket. A méretben és sugárelnyelő-képességben egymáshoz igen közelálló riboszómák és glikogénpartikulák megjelenése igen hasonló az elektronmikroszkópos képen, s a galak-



3. ábra. Szénhidrát és ribonukleoprotein komponensek kimutatása az aggregátumokban a galaktózamin kezelés után 2 órával. A: A pozitív reakció szénhidrát jelenlétét mutatja. OsO_4 fixálás, Thiery-féle festés (Thiery 1967). $40\,000\times$. B: A pozitív reakció ribonukleoprotein jelenlétét mutatja. Glutáraldehid fixálás, Bernhard-féle festés (Bernhard 1969). $21\,400\times$

tószaminhepatitisz esetében a részecskék lokalizációja sem nyújt eligazítást. Ezért specifikus hisztokémiai reakciókkal vizsgáltuk az aggregátumokat. A Bernhard-féle RNS festési eljárással a riboszómák jelenlétéről lehetett meggyőződni (3a ábra), míg a Thiery-féle festés poliszaharid (glikogén) jelenlétét bizonyította az aggregátumokban (3b ábra). A szemcsék között az endoplazmatikus membrán fragmentumait is ki lehetett mutatni.

Az aggregátumok a galaktózamin kezelés után 1–2 órával jelennek meg. Evvel párhuzamosan megindul a durvafelszínű endoplazmatikus retikulum membránjainak töredezése és degranulációja. A rendellenes glikogénből és riboszómákból álló aggregátumok egyre növekednek, és a citoplazmában membránnal el nem határolt halmazokat alkotnak. Később (a 20–30. órában) ezeket a halmazokat lizoszomális membrán veszi körül, és az ily módon körülhatárolt aggregátumok a lizoszomális enzimek hatására elemésződnek. Hasonló, feltehetőleg elhalt májsejtekből származó aggregátumok később a Kupffer-sejtekben is kimutathatók.

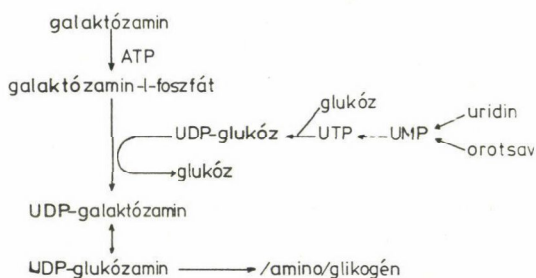
3. *Funkcionális változások*

A galaktózamin kezelés számos májfunkció zavarát idézi elő. A vérplazma bilirubin tartalma jelentősen megemelkedik, és a máj által termelt faktorok csökkent koncentrációja miatt a véralvadás is zavart szenved (Keppeler és mtsai 1968). A vérben felszaporodnak a májsejtek károsodását jelző enzimek, és csökken a vérplazma koleszterol-észter koncentrációja (Kattermann és Wolfrum, 1970). Az albuminkoncentráció csökkenése a vérben a májban folyó fehérjeszintézis zavarát jelzi (Koff és mtsai 1971). Galaktózamin tartós adagolásával májcirrózist, hepatomákat, sőt májrákot lehet előidézni (Lesch és mtsai 1973), ezekben az állapotokban súlyos májfunkciózavarok léphetnek fel, amelyek a kísérleti állatok pusztulásához vezetnek.

4. *A galaktózamin-hepatitisz biokémiai jellegzetességei*

Az egyszerű cukorszármazékkal előidézett májkárosodás a biokémikusok számára is vonzó problémát jelentett. Megcsillant ugyanis annak a lehetősége, hogy az ismert hexózamin-anyagsere lépéseit követve elérkezhetünk egy olyan folyamathoz, amely kulcsfontosságú a májkárosodás kialakulásának szempontjából. A 4. ábra a galaktózamin metabolizmusát mutatja. A folyamatsorban közreműködő enzimeknek az az élettani feladatuk, hogy UDP-glukózt készítsenek a galaktózból, ami néhány sejtfeleség számára mérgező. Ezen az úton alakul át a galaktóz aminoszármazéka is. A metabolizmus vizsgálatánál magyarázatot találunk arra, hogy miért csak a májat károsítja a galaktóz-

A galaktózamin metabolizmusa



4. ábra. A galaktózamin metabolizmusa

amin: azért, mert csak ebben a szervben található aktív galaktóz-átalakító enzimrendszer.

Az átalakulás során a hexózamin UDP-hez kapcsolódik. Sok galaktózamin átalakulásához nagymennyiségű UTP használódik fel, s ennek következtében a májsejtekben súlyos UTP hiány alakul ki (Keppler és mtsai 1970). Bizonyítást nyert, hogy az UTP hiányának tulajdonítható az RNS szintézis jelentős csökkenése, amely uridin adásával kivédhető (Reynolds és Reutter 1973). Későbbi stádiumban az RNS szintézis csökkenése a fehérjeszintézisben is zavart okoz; a galaktózamin *in vivo* gátolja a radioaktív aminosavak inkorporációját a májfehérjékbe mind patkányban (Reutter és mtsai 1969), mind egérben (Antoni 1972). A fehérjeszintézis zavara azonban nem tulajdonítható teljes mértékben az RNS hiánynak (Shinozuka és mtsai 1973). Saját vizsgálataink szerint a fehérjeszintézisért felelős riboszómák működését megzavarja egy újonnan képződött rendellenes makromolekula, az aminosav-glikogén.

A galaktózamin tehát komplex anyagcserezavart idéz elő a májsejtekben: rendellenes cukornukleotidok képződnek (UDP-glukózamin és UDP-galaktózamin), gátolt az RNS és a fehérjék szintézise, és rendellenes poliszaharid keletkezik, amelynek hatását a későbbiekben ismertetjük. Melyik lehet az a biokémiai változás, amelyik döntően befolyásolja a máj állapotát? Két kutató, K. Decker és D. Keppler vállalkozott arra, hogy a sokféle biokémiai változást egységes rendszerbe foglalja, és megjelölje a leglényegesebb paramétert. Véleményük szerint a májkárosodás szempontjából döntő fontosságú az UTP szint csökkenésének a mértéke és időtartama (Decker és Keppler 1974). A többi biokémiai változás (a fehérjeszintézis gátlás kivételével) mind csak másodlagos, az UTP hiány következménye. Bevezették a „kritikus metabolit-hiány periódus” fogalmát, s ennek alapján értelmezik más, ugyan-csak UTP hiányt okozó vegyületek hatásait is. Vitathatatlan érdeme az elmé-

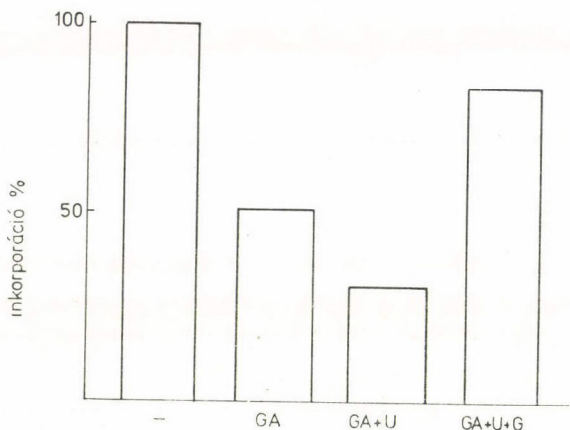
letnek, hogy összhangban van a legtöbb kísérleti adattal: azok a vegyületek, amelyek az UTP szintet helyreállítják (orotsav, uridin), egyben mérséklék a máj károsodását. Nem illeszthető azonban ebbe a képbe az, hogy glukózaminnal (akárcsak galaktózaminnal) jelentős UTP hiányt lehet előidézni, s a máj mégsem károsodik (Keppler és mtsai 1970). Arra sem ad magyarázatot az elmélet, hogy a regeneráló májban (részleges májirtást követő állapotban) és az újszülött rágcsálók májában miért nem jön létre károsodás galaktózamin hatására, jöllehet az UTP szint jelentősen csökken (Reutter és mtsai 1975). Megjegyezzük, hogy a „kritikus metabolit-hiány periódus” fogalma kórtani szempontból is csak korlátozott jelentőséggel bír, mivel az nem visz közelebb a nekrozis trigger-rendszerének a megértéséhez.

Reutter és munkatársai (1975) szerint szintén döntő fontosságú az UTP szint csökkenése, mivel ez egyéb folyamatok zavarát vonja maga után. Véleményük szerint azonban nem lehet figyelmen kívül hagyni a sejtalkotórészek dinamikus állapotát. A regeneráló májban és az újszülött állat májában a szintetikus folyamatok zavara hasonló mértékű, mint a felnőtt, épmájú állatnál, viszont a lebontó folyamatok sebessége lényegesen alacsonyabb, ezért feltehető, hogy a szintézisek átmeneti csökkenése nem végzetes a sejt sorsának szempontjából. Valószínűnek tartják, hogy megtalálható az az anyag vagy sejtalkotórész (több ilyen is lehet), amelynek a jelenléte életfontosságú a májsejt számára. Újabb megfigyelések szerint (Grün és mtsai 1976) az immunrendszer pusztítja el a károsodott májsejteket, ezért az immunrendszer állapota is döntően befolyásolja a májkárosodás súlyosságát.

A fehérjeszintézis transzlációs szintű gátlásának mechanizmusa eltér minden korábban megfigyelt gátlástípustól. Az elektronmikroszkópos megfigyelések alapján merült fel annak a lehetősége, hogy a riboszómák működés-zavarát a rendellenes glikogén okozza.

Egér májszeletekkel modellkísérleteket végeztünk a galaktózamin fehérjeszintézis-gátló hatásának a vizsgálatára. Kimutattuk, hogy ha a galaktózamin metabolizmusát elősegítő anyagot, uridint adunk a májszeletek inkubációs elegyéhez, akkor fokozódik a galaktózamin gátló hatása a radioaktív valin inkorporációjára, azaz a fehérjeszintézisre (5. ábra). Ezzel szemben, ha a galaktózamin mellett az elegy galaktózt is tartalmaz, amely kompetitívan gátolja a galaktózamin metabolizmusát, akkor csökken a galaktózamin fehérjeszintézis-gátló hatása. Szóvettenilag igazoltuk, hogy a galaktóz az élő állatban is kivédi a galaktózamin májkárosító hatását.

Megvizsgáltuk, hogy melyik galaktózamin metabolit zavarja közvetve vagy közvetlenül a fehérjeszintézist. A galaktózamin átalakulási termékeinek sorában az utolsó az UDP-galaktózamin és UDP-glukózamin páros. Ezek a nem-N-acetilezett UDP-hexózaminok rendellenes metabolitok, amelyek egyébként nem képződnek a májban (normálisan UDP-N-acetil-hexózaminok termelődnek). Az anomális cukornukleotidok galaktózamin adásakor felhalmo-



5. ábra. Galaktózamin, uridin és galaktóz hatása rádioaktív aminosav inkorporációjára egérmájseletekben. —: kontroll; GA: galaktózamin, 10 mM; U: uridin, 10mM; G: galaktóz, 20 mM. (Mészáros és mtsai 1973, nyomán)

zódnak a májban, felhalmozódásukat az uridin elősegíti (Keppler és mtsai 1970), a galaktóz pedig gátolja (Mészáros és mtsai 1973). De milyen módon okozhatnak zavart az UDP-hexózaminok a fehérjeszintézisben?

Az UDP-glukózamin helyettesítheti az UDP-glukózt abban a reakcióban, amelyben a glikogén szintetáz enzim az UDP-hez kötött cukormolekulát átviszi a glikogénre (Maley és mtsai 1966), s ily módon a nyomjelző ^{14}C -galaktózamin molekulái ^{14}C -glukózamin formájában beépülhetnek a májglikogénbe. Említettük, hogy az elektronmikroszkópos hisztokémiai vizsgálatok rendellenes poliszaharidot jeleztek a galaktózaminnal kezelt állatok májában. Lehetséges, hogy a nagymennyiségű galaktózamin adásakor olyan sok glukózamin épül be a májglikogénbe, amely már jelentősen módosítja a poliszaharid tulajdonságait? E kérdés eldöntése végett galaktózaminnal kezelt egerek májából izoláltuk a módosult glikogént. Az anyag jelentős mennyiségben tartalmazott glukózamint (1. táblázat), és megállapítottuk, hogy a poliszaharid szabad aminocsoportokkal rendelkezik, tehát bázikus természetű (aminoglikogén).

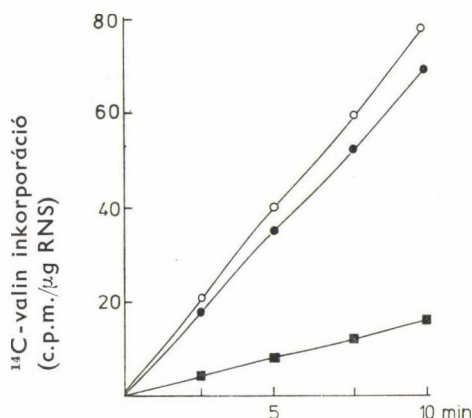
1. táblázat

Az aminoglikogén összetétele*

| | Normál glikogén | Aminoglikogén |
|--------------------|-----------------|---------------|
| Glukóz maradék | 98,8** | 95,4 |
| Fehérje | 0,33 | 0,56 |
| Glukózamin maradék | 0,0 | 4,58 |

* Mészáros és mtsai, 1976

** Az adatok mértékegysége: g/100 g tisztított poliszacharid

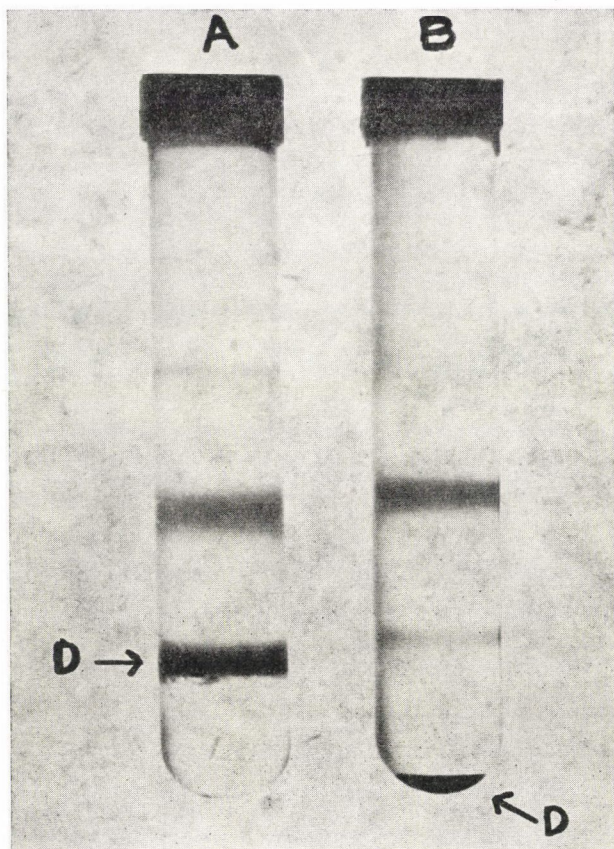


6. ábra. Aminoglikogén hatása sejtmentes fehérjeszintetizáló rendszer működésére. o: kontroll; ●: glikogén, 20 mg/ml; ■: aminoglikogén, 20 mg/ml. (Mészáros és mtsai 1976)

Fontos megfigyelésnek tartjuk azt, hogy az aminoglikogén az egérmájból preparált riboszómák oldatát megzavarosítja, s a riboszómákat kicsapja (Mészáros és mtsai, 1976). Ugyancsak összeapszódik *in vitro* az aminoglikogén a durvafelszínű endoplazmatikus membránrendszer fragmentumaival, az úgynevezett nehéz mikroszómákkal. A negatív töltésű riboszómák és a pozitív töltésű aminoglikogén hasonló összeapszódása a májsejten belül is végbe-mehet, és minden valószínűség szerint ilyen módon keletkeznek az elektron-denz citoplazmatikus aggregátumok, amelyeket elektronmikroszkóppal figyeltek meg a galaktózaminnal kezelt állatok májsejtjeiben.

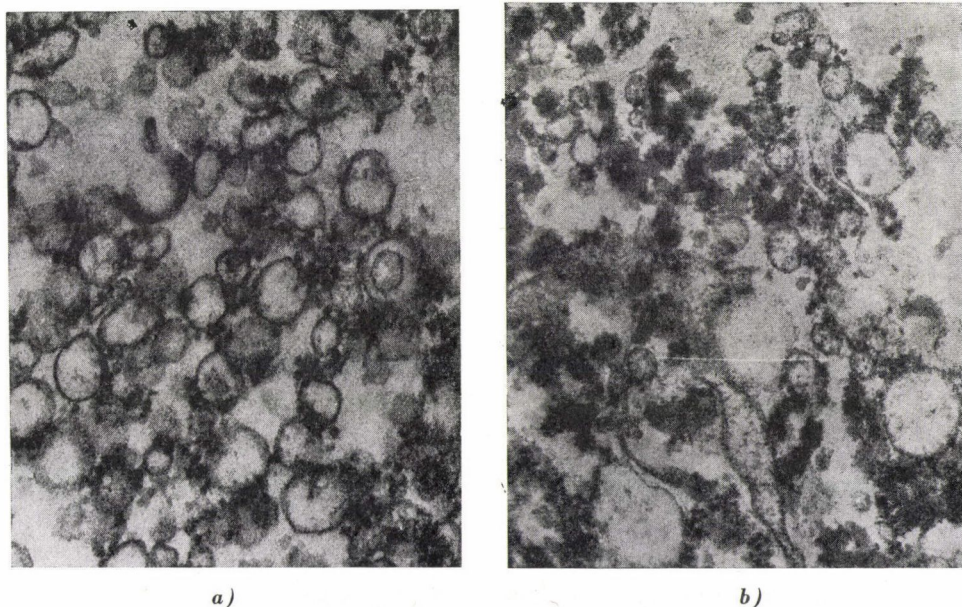
Az összeapszódás nem marad hatástalan a fehérjeszintézisért felelős részecskék működésére, mint az a következő kísérlethől kiderül. Egérmájból posztmitokondriális felülúszót tartalmazó sejtmentes fehérjeszintetizáló rendszert készítettünk Pain (1973) módszerével. Ebben a rendszerben a riboszómák az endoplazmatikus membrán fragmentumaihoz kapcsolódva többkevesebb intenzitással *in vitro* is folytatják fehérjeszintetizáló működésüket. Az inkubációs elegyhez adott radioaktív valin beépül a (forró triklórecetsavban oldhatatlan) fehérjékbe. A sejtmentes fehérjeszintetizáló rendszer működését a normális májglikogén nem zavarta, míg a galaktózamin-hepatitiszes állatokból izolált bázikus aminoglikogén hozzáadása jelentősen gátolta a radioaktív valin beépülését a fehérjékbe (6. ábra). Ennek alapján feltételezzük, hogy az élő állat májában is hasonló a translációs szintű fehérjeszintézis gátlás mechanizmusa.

Biokémiai módszerekkel is meggyőződünk arról, hogy a galaktózaminnal kezelt egerek májában az aminoglikogén okozza a riboszómák, illetve a durvafelszínű endoplazmatikus membránok aggregációját. Galaktózaminnal és glukózzal (250 mg, ill. 5 g/kg) kezelt egerek májából homogenizátumot készí-



7. ábra. Mikroszóma frakciók ülepedése lépcsős szaharóz sűrűséggrádiensben. A: csak glukózzal kezelt, B: glukózzal és galaktózáminnal kezelt állat májából készített preparátum. A kísérlet leírását lásd a szövegben. D: durvafelszínű endoplazmatikus membrán frakció. (Mészáros és mtsai 1974)

tettünk, amelyből kicentrifugáltuk a mitokondriumokat. A mikroszómákat (az endoplazmatikus membránrendszer fragmentumait) tartalmazó posztmitokondriális felülúszót Lewis és Tata (1973) módszerével frakcionáltuk lépcsős szaharóz grádiensben való ultracentrifugálással. A csak glukózzal kezelt kontroll állat májából származó durvafelszínű endoplazmatikus membránfragmentumok az irodalmi adatoknak megfelelően a 2M szaharóz réteg felett helyezkedtek el (7. ábra, a cső). Ezzel szemben a galaktózáminnal és glukózzal kezelt állat májából származó durvafelszínű endoplazmatikus membránfragmentumok a centrifugálás során áthatoltak a 2M szaharóz rétegen, és a cső fenekére süllyedtek (7. ábra, b cső). Ez arra mutat, hogy ennek a frakciónak a fajsúlya aggregáció folytán megnövekedett. Az ily módon izolált endoplazmatikus retikulum preparátumokról készített elektronmikroszkópos



8. ábra. Ultracentrifugával izolált durvafelszínű endoplazmatikus membrán preparátum elektronmikroszkópos képe. Az izolálás csak glukózzal (A), illetve glukózzal és galaktózammal (B) kezelt állatok májából történt. OsO_4 fixálás, uranilacetát-ólom-citrát festés. $60\,000\times$

felvételek láthatók a 8. ábrán. A kontroll készítményben (A) jól kivehetők a riboszómák, amelyek szabályos sorokban ülnek a membránfragmentumokból keletkezett vezikulákon; a megnövekedett fajsúlyú frakcióban (B) pedig amorf elektrondenz anyag és riboszómák aggregátumai láthatók a membránfragmentumok között. Kimutattuk, hogy ha ezt a frakciót amilázzal kezeljük, akkor a durvafelszínű endoplazmatikus membránfragmentumok visszanyerik eredeti ülepedési tulajdonságaikat, és az amilázzal való emésztés után újracentrifugálva normális helyükön, a 2 M szaharóz réteg felett helyezkednek el. Minthogy az amiláz lebontotta a frakcióban található aminoglikogént, bizonyítottan tekinthetjük azt, hogy a fajsúlynövekedés oka az aminoglikogénnal való aggregáció volt. Ezek a vizsgálatok megerősítik az elektronmikroszkópos megfigyeléseket.

A felsorolt morfológiai és biokémiai adatok alapján arra a következtetésre jutottunk, hogy a galaktózaminhepatitiszben fellépő translációs szintű fehérjeszintézis gátlás annak a következménye, hogy a képződő bázikus aminoglikogén a májsejtekben összecsapódik a riboszómákkal és a durvafelszínű endoplazmatikus membránnal. Az aggregátumokban zavart szenved a riboszómák élettani működése, a fehérjeszintézis.

5. A májkárosodás és a galaktózamin biotranszformációja

A májszövet életképessége szempontjából kétségkívül döntő fontosságú a zavartalan makromolekula szintézis. A nekrosis okainak vizsgálatánál aligha lehet egymástól függetlenül tárgyalni a szintetikus folyamatok zavarait, mivel ismeretes, hogy csak az RNS szintézis (inkomplet) gátlása vagy csak a fehérjeszintézis (inkomplet) gátlása még nem vezet a májsejtek pusztulásához (Farber 1975). Egy-egy részfolyamat teljes gátlása az élő állatban gyakorlatilag kivihetetlen. A galaktózamin-hepatitiszben az RNS- és a fehérjeszintézis zavara egyaránt súlyos, és a kettő együttesen vezethet a májsejtek elhalásához.

A máj jellegzetes biokémiai ellenőrző működése, amelyet biotranszformáció néven foglalunk össze, néha detoxikálás helyett mérgező anyagok kialakulását eredményezi. A galaktóz kiszűrése a vérből a máj élettani feladata. Az analóg galaktózaminból a galaktóz-átalakító mechanizmus nem-N-acetilezett UDP-hexózaminokat készít, s ehhez nagymennyiségű UTP használódik fel. Az UTP hiány tehát a galaktózamin metabolizmusának a következménye, és közvetve ennek tulajdonítható az RNS szintézis csökkenése is.

Az UDP-glukózamin a glikogén szintetáz enzim hamis szubsztrátja, s így glukózamin épül be a glikogénba. A keletkező aminoglikogén gátolja a fehérjeszintézist, s ez végső soron ugyancsak a galaktózamin biotranszformációjának a következménye. Látszólag ellentétben áll ezzel Decker és munkatársainak (1973) kategorikus kijelentése, miszerint a galaktózaminnak nincsenek toxikus metabolitjai. Ha csak a kismolekulasúlyú rendellenes metabolitokat (galaktózamin-1-foszfát, UDP-hexózaminok) tekintjük, úgy egyetérthetünk a fenti megállapítással. Minthogy azonban a glukózamin beépülése a glikogénba mégiscsak toxikus polimért eredményez, le kell szögeznünk azt, hogy a galaktózamin biotranszformációja végső soron mérgező anyag keletkezéséhez vezet: a közömbös galaktózamin ártalmatlan metabolitjaiból toxikus polimér épül fel.

Rendellenes makromolekulák „bio”-szintézisét módosított prekurzorok alkalmazásával már többféle anyag esetében megvalósították, a glikogén hasonló módosítására azonban nem találtunk példát az irodalomban. A galaktózamin-hepatitisz vizsgálatánál — a galaktózamin metabolizmusának ismeretében — nyomon követhettük a rendellenes makromolekula keletkezését, és megfigyeltük a hatását a fehérjeszintézisért felelős részecskékre mind *in vivo*, mind *in vitro*. Az egymást kiegészítő morfológiai és biokémiai eredmények alapján megállapítottuk, hogy az aminoglikogén a fehérjeszintézis egyik gátló faktora, és mint ilyen, nyilvánvalóan közrejátszik a májkárosodás kialakulásában.

A galaktózamin-hepatitisz mint kísérleti májbetegség eredményesen alkalmazható a májvédőszeres kutatásában. Úgy véljük, hogy a pathomechanizmus részletes felderítése növeli a kísérleti modell értékét.

IRODALOM

- Bernhard, W.: *J. Ultrastruct. Res.* **27**, 250 (1969).
- Decker, K. és Keppler, D.: *Progress in Liver Diseases*, vol. IV., p. 183 (eds. Popper, H. és Schaffner, F.) Grune and Stratton, New York (1972).
- Decker, K. és Keppler, D.: *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.* **71**, 77 (1974).
- Decker, K., Keppler, D. és Pausch, J.: *Advan. Enzyme Regul.* **11**, 205 (1973).
- Dianzani, M. U. és Gravela, E.: *Pathogenesis and Mechanism of Liver Cell Necrosis*, p. 225. (ed. Keppler, D.) MTP Press Ltd, Lancaster (1975).
- Farber, E.: *Pathogenesis and Mechanism of Liver Cell Necrosis*, p. 37. (ed. Keppler, D.) MTP Press Ltd, Lancaster (1975).
- Grün, M., Liehr, H. és Rasenack, V.: *Acta Hepato-Gastroenterol.* **23**, 64 (1976).
- Kattermann, R. és Wolfrum, D. I.: *Z. Klin. Chem.* **8**, 413 (1970).
- Keppler, D., Lesch, R., Reutter, W. és Decker, K.: *Exp. Mol. Pathol.* **9**, 279 (1968).
- Keppler, D., Rudigier, J. F. M., Bischoff, E. és Decker, K.: *Eur. J. Biochem.* **17**, 246 (1970).
- Koff, R. S., Fitts, J. J. és Sabesin, S. M.: *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* **138**, 89 (1971).
- Lapis, K. és Schaff, Zs.: *Morph. és Ig. Orv. Szemle* **13**, 276 (1973).
- Lesch, R., Bauer, C. és Reutter, W.: *Virchows Arch. B Cell. Path.* **12**, 285 (1973).
- Lesch, R., Meinhardt, K., Hüblerle, B. és Enzan, H.: *Virchows Arch. B Cell. Path.* **21**, 313 (1976).
- Lewis, A. J. és Tata, J. R.: *Biochem. J.* **134**, 69 (1973).
- Maley, F., McGarahan, J. F. és Del Giacco, R.: *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **23**, 85 (1966).
- McLean, A. E. M.: *Pathogenesis and Mechanism of Liver Cell Necrosis*, p. 123 (ed. Keppler, D.) MTP Press Ltd, Lancaster (1975).
- Medline, A., Schaffner, F., és Popper, M.: *Exp. Mol. Pathol.* **12**, 201 (1970).
- Mészáros, K., Antoni, F., Hrabák, A., Szikla, C., Garzó, T., Tompa, A. és Lapis, K.: *FEBS Letters* **35**, 1 (1973).
- Mészáros, K., Antoni, F., Mandl, J., Hrabák, A., és Garzó, T.: *FEBS Letters* **44**, 141 (1974).
- Mészáros, K., Mandl, J., Antoni, F. és Garzó, T.: *FEBS Letters* **71**, 215 (1976).
- Montesano, R. és Magee, P. N.: *Nature* **228**, 173 (1970).
- Pain, V.: *FEBS Letters* **35**, 169 (1973).
- Reutter, W., Lesch, R., Keppler, D. és Decker, K.: *Naturwissenschaften* **55**, 497 (1968).
- Reutter, W., Keppler, D., Lesch, R. és Decker, K.: *Verh. Dtsch. Ges. Inn. Med.* **75**, 363 (1969).
- Reutter, W., Bauer, C., Bachmann, W. és Lesch, R.: *Liver Regeneration after Experimental Injury*, p. 259. (eds Lesch, R., Reutter, W.) Stratton I. M. B. C., New York (1975).
- Reynolds, R. D. és Reutter, W.: *J. Biol. Chem.* **248**, 1562 (1973).
- Scharnbeck, H., Schaffner, F., Keppler, D. és Decker, K.: *Exp. Mol. Pathol.* **16**, 33 (1972).
- Shinozuka, H., Farber, J. L., Konishi, Y. és Anukarahanonta, T.: *Fed. Proc.* **32**, 1516 (1973).
- Thiery, J. P.: *J. Microscopie (Paris)* **6**, 85A (1967).