

## PROSZTAGLANDINOK ÉS A PETEFÉSZEK VÉRÁRAMLÁSA KUTYÁBAN

VARGA BERTALAN, az orvostudományok kandidátusa, UNGVÁRY GYÖRGY,\* az orvostudományok kandidátusa, és FOLLY GÁBOR

Közlésre érkezett: 1976. VII. 15.

Az uteruszban a ciklustól (Bland és mtsai, 1971; Saksena és mtsai, 1971) és a terhességtől (Salmon és Amy, 1973) függően változó mennyiségű prosztaglandin  $F_{2\alpha}$ ( $PGF_{2\alpha}$ ) képződik. A  $PGF_{2\alpha}$  tengerimalacban (Blatchley és Donovan, 1969), patkányban (Pharris, 1971), nyúlban (Koering, 1974) és primátákban (Auletta és mtsai, 1973) luteolitikus hatású. Az uterusz luteolitikus faktora feltehetően azonos a  $PGF_{2\alpha}$ -val (Pharris, 1971; McCracken, 1971; Bland és mtsai, 1971), hatása az utero-ovarialis erek épségéhez kötött (Baird és Land, 1973). Az utero-ovarialis véna és az a. ovarica között egy „counter current” mechanizmus működne a luteolitikus faktor, azaz a  $PGF_{2\alpha}$  petefészekbe történő veno-arterialis bejuttatásának biztosítására, ami ott érszűkületet okozva a sárgatest regresszióját segíti elő (McCracken, 1971; Hixon és Hansel, 1974). Más adatok szerint juhban a  $PGF_{2\alpha}$  csökkenti a progeszteron szekréciót, de a petefészek véráramlását nem (Baird, 1974). Álderhes nyúlban fokozza a petefészek stromában a véráramlást, miközben a sárgatestben csökkenti (Novy és Cook, 1973). Mások hasonló kísérletben csak a stroma véráramlás növekedését észlelték (Janson és mtsai, 1975). Kuttyában az exogén  $PGF_{2\alpha}$  csökkenti a petefészek progeszteron szekrécióját, a petefészek véráramlását azonban nem vizsgálták (Jöchle és mtsai, 1973).

Prosztaglandinok nemcsak az uteruszból juthatnak a petefészekbe. Gonadotrop hormon stimulusra mind a  $PGF_{2\alpha}$ , mind a prosztaglandin  $E_2$  ( $PGE_2$ ) szintézise fokozódik a petefészekben (LeMaire és mtsai, 1973; Bauminger és Lindner, 1975).

A fentiek szerint a petefészek érszerkezetének különös jelentősége van a prosztaglandinok ovarialis ciklust szabályozó hatásának létrejöttében. Kuttyában tanulmányoztuk a petefészek érszerkezetét, a  $PGF_{2\alpha}$ -nak és  $PGE_2$ -nek a petefészek teljes és helyi véráramlására gyakorolt hatását. A változások értelmezésénél ezeket együttesen vettük figyelembe.

\*Munkahelye: Országos Munkaegészségügyi Intézet, Budapest.

### Módszerek

Kísérleteinket 10—20 kg súlyú, főként anösztruzsos, chloralose-urethannal altatott kutyákon végeztük.

#### *A petefészek keringési ellenállásának (a perfúziós nyomásnak) mérése:*

19 állatban a petefészkeket a környező zsírszövetből és az uterusz szarvtól „in situ” izoláltuk. Mindkét oldalon kanülöztük a v. és az a. ovarica-t. A két a. ovarica-t a bal a. femoralisból kétesaternás perisztaltikus pumpával konstans volumenű vérrrel átáramoltattuk. Az ovariumok az állatok súlyától és a kívánt perfúziós nyomástól (100—120 Hgmm) függően 3—5 ml/min volumenű vért kaptak. Az a. ovarica-ba való csatlakozáshoz közel a kanülbe két elágazást építettünk: az egyikben Statham nyomásátalakítóval mértük és regisztráltuk a perfúziós nyomást, a másikban egy infúziós pumpa segítségével véletlen sorrendben a  $\text{PGF}_{2\alpha}$  és  $\text{PGE}_2$  (Upjohn) dózisait adtuk be 0,1 ml/min vagy ennél kisebb volumenben 15 percen át. A két v. ovarica vérért a jobb v. jugulárisba csatlakoztattuk. Az infúzió alatt a csatlakozást megszakítottuk, nehogy az alkalmazott anyagok a szisztémás keringésbe kerüljenek. A véráramlást heparinnal (Richter) gátoltuk.

#### *A lokális véráramlás mérése:*

20 kutyában mindkét oldali petefészek stromájába a hossz tengellyel párhuzamosan a véráramlás változások folyamatos regisztrálására egy-egy hajlékony fűthető termoelemet (Hensel és Ruef, 1954) helyeztünk. A hővezetés elvén működő módszerek jól alkalmazhatók a lokális szöveti véráramlás minőségi változásainak folyamatos regisztrálására (McCaffrey és McCook, 1975). A véráramlás változásait a nyugalmi értékhez (100%) és az állat elpusztulása után kapott (0%) értékhez viszonyítva százalékban adtuk meg. A vérnyomást az a. femoralisban mértük Statham nyomásátalakítóval. Mivel a PG-ok jelentősen hatnak a szisztémás vérkeringésre, lokális alkalmazásuk szükséges volt. Az a. ovarica-ba való közvetlen csatlakozás nem volt megoldható, egyrészt az ér lumen beszűkítése miatt, másrészt az ér kanülözése heparinózist igényel, ez viszont a termoelem körüli hematoma kialakulásához vezethet. Ezek elkerülésére a  $\text{PGF}_{2\alpha}$ -t és  $\text{PGE}_2$ -t a bursa ovarica-ba adtuk egy vékony kanülon át 15 perces infúzióban, 0,1 ml/min volumenben. Az előkísérletek szerint a bursa ovaricából felszívódásuk jó, így a lokális adagolásnak ezt a módját alkalmaztuk.

### *Statisztikai analízis:*

A meghatározott idő alatt bekövetkezett változások nagyságát (görbe alatti terület) kiszámítottuk és variancia analízissel, illetve „t” próbával azokat egymáshoz hasonlítottuk.

### *Morfológiai módszerek:*

Anösztroszos és ösztroszos kutyákban izoláltuk a petefészkeket és kanülöztük az a. és v. ovarica-t. Az artériás és vénás rendszert különböző színű latex-al, illetve higított tusban oldott 1—3%-os zselatinnal töltöttük fel. Más esetekben a petefészkeket az uterusz szarvtól nem izoláltuk és az ovárium erek kanülözésén kívül mindkét méhszarv artériáját és vénáját is kanülöztük. Ekkor az ovárium irányából az uterusz, és fordítva, az uterusz irányából az ovárium erei egyaránt feltölthetők voltak. A szerveket az állatok elpusztulása után kiemeltük és a latex-al töltött preparátumokat sósavban korrodáltuk. A zselatinos tussal injiciált anyagot formalinban fixáltuk és fagyasztva sorozatban metszettük (40—100 $\mu$ ), majd Spalteholz (1948) szerint átderítettük. Mindkét eljárással nyert preparátumokat sztereofénymikroszkóppal vizsgáltuk. A vastag metszeteket „Amplival” mikroszkóp demonstrációs feltétjének koordináta rendszerére vetítettük és ennek segítségével térbeli rekonstrukciót végeztünk.

## *Eredmények*

### *A PGF<sub>2 $\alpha$</sub> és a PGE<sub>2</sub> hatása a petefészek véráramlására*

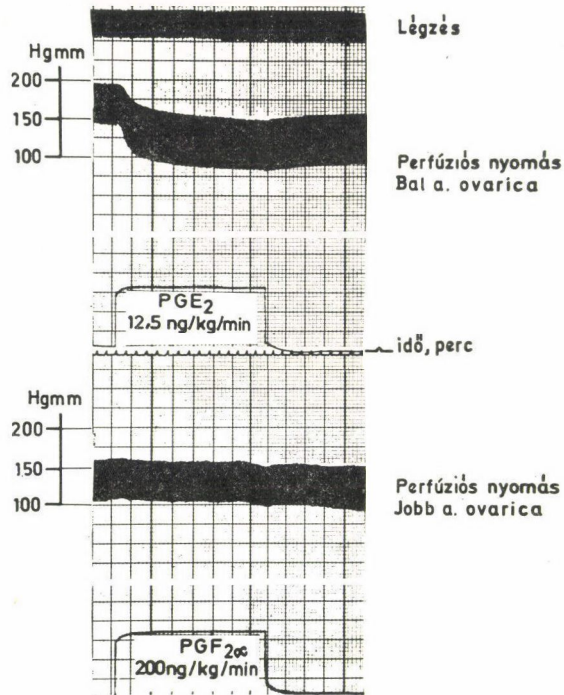
Az „in situ” izolált petefészekben a PGE<sub>2</sub> csökkenti a perfúziós nyomást, értágulatot okoz. Az ellenkező oldalra adott PGF<sub>2 $\alpha$</sub>  hatástalan (1. ábra). A PGF<sub>2 $\alpha$</sub>  dózisa 25,0—50,0—100,0 és 200,0 ng/kg/min tartományban nem okoznak következetes változást. A PGE<sub>2</sub> 3,1—6,2—12,5—25,0 ng/kg/min dózisainak perfúziós nyomást csökkentő hatása arányos a dózisok nagyságával (2. ábra).

PGF<sub>2 $\alpha$</sub>  és PGE<sub>2</sub> a bursa ovaricaba adva jelentősen megnöveli a lokális véráramlást a petefészek stromájában (3. ábra). Az áramlásnövekedés dózis függő, összefügg a PGF<sub>2 $\alpha$</sub>  25,0—50,0—100,0—200,0 ng/kg/min, valamint PGE<sub>2</sub> 25,0—50,0—100,0 ng/kg/min dózisaival nagyságával. A PGE<sub>2</sub> a véráramlást lényegesen jobban növeli, mint a PGF<sub>2 $\alpha$</sub>  (4. ábra).

A PGF<sub>2 $\alpha$</sub>  bursa ovaricába történő infúziója után a stroma megnövekedett véráramlásában sinus-hullámszerűen ismétlődő periodikus változások figyel-

hetők meg (3. ábra). Adatainkból nem ítéhető meg, hogy az előfordulás gyakorisága mennyiben függ a  $\text{PGF}_{2\alpha}$  dózisaitól, viszont frekvenciája közel azonos az összes dózisok esetében (1. táblázat).

Kutyában általában évente kétszer van ösztrusz (tüzelés). Az ováriumok aktív állapota 20–30 napig tart. Mivel kísérleteink éves periódust fog-

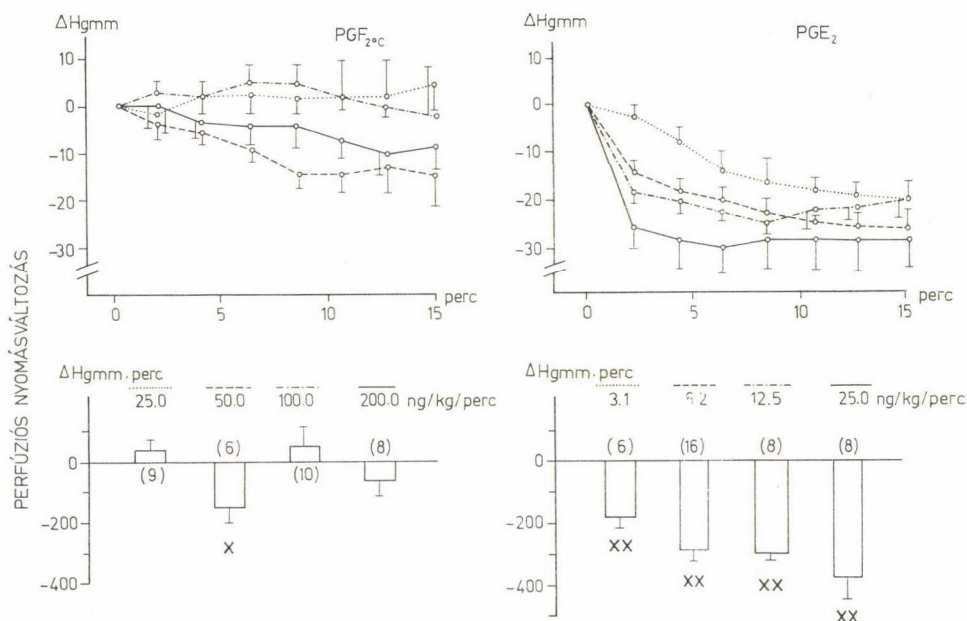


1. ábra: A  $\text{PGE}_2$  és  $\text{PGF}_{2\alpha}$  hatása „in situ” izolált petefészekben a perfúziós nyomásra

I. táblázat

A petefészek stroma lokális véráramlásának ritmikus változása a bursa ovarica-ba adott 15 perces  $\text{PGF}_{2\alpha}$  infúzió után

$\text{PGF}_{2\alpha}$ dózis (ng/kg/min)	Az előfordulás gyakorisága	Periódus/min
50,0	3/5	0,445
100,0	2/6	0,440
200,0	4/5	0,485



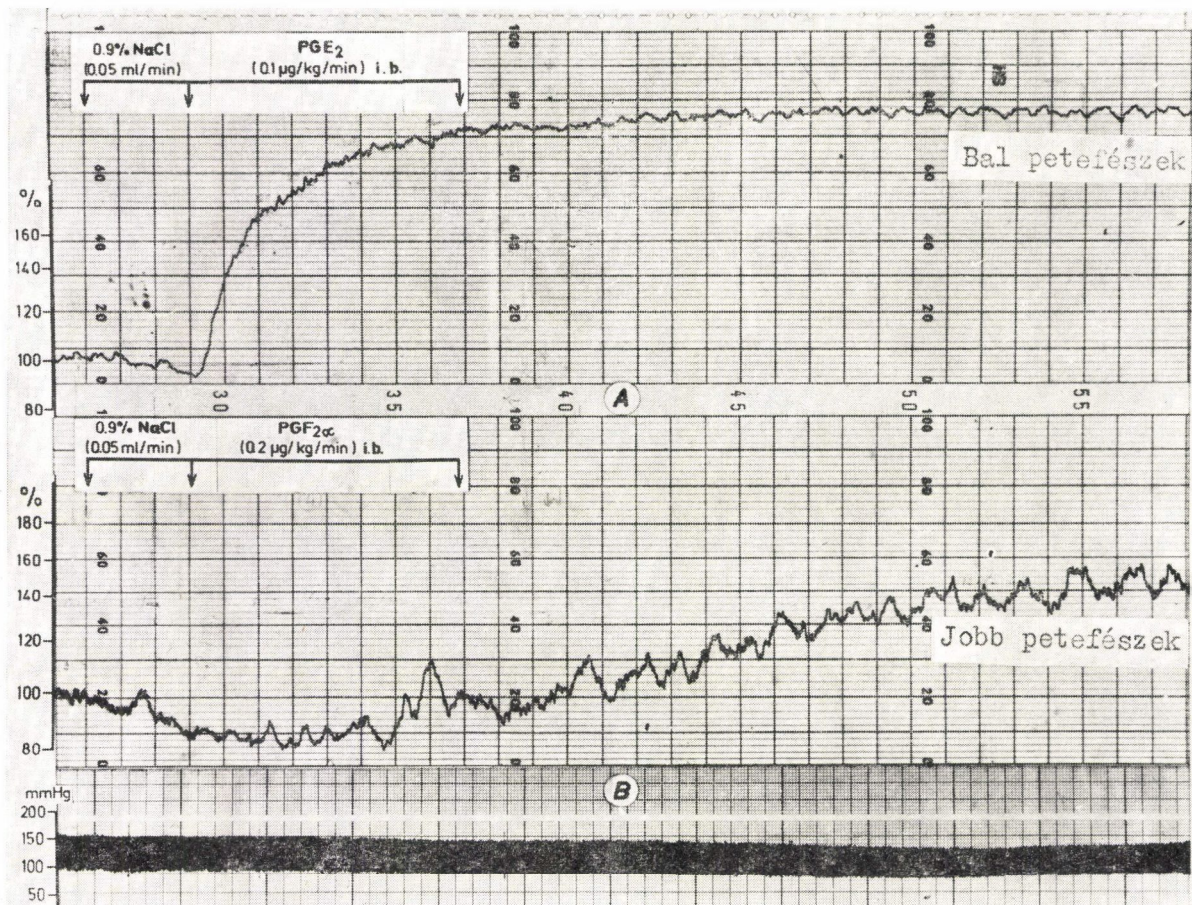
2. ábra: Különböző dóziszú PGF<sub>2α</sub> és PGE<sub>2</sub> hatása a perfúziós középnyomásra. ΔHgmm = eltérés a kiindulási értéktől. ΔHgmm · perc = a 15 perces infúzió alatti változások összege.  $\bar{x}$  = átlag ± S. E. = a kísérletek száma. \* = p < 0,05; \*\* = p < 0,01

nak át, néhány ösztrozusban levő kutyán is elvégeztük a fenti vizsgálatokat. Szembetűnő különbség az ösztrozusos és anösztrozusos állatok között nem volt megfigyelhető.

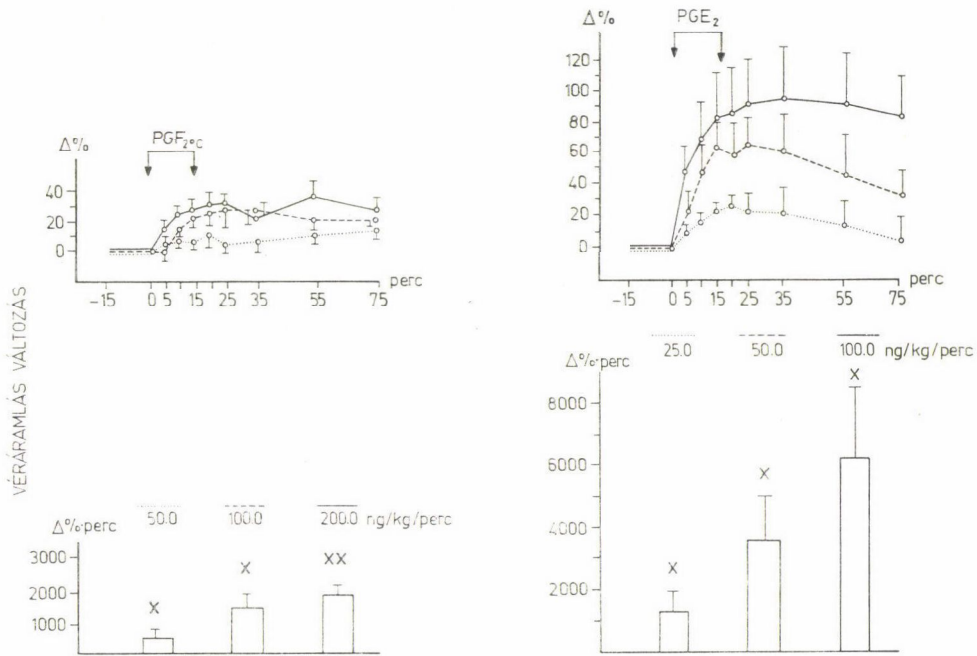
### Morfológiai vizsgálatok

A petefészek artériás és vénás rendszere a genitális vasculáris arcad részét képezi. Az ováriumot ellátó artériák a genitális arcadból spirál alakban lépnek a petefészek hilusába. A petefészekből a genitális arcadba két nagyobb véna csatlakozik, szorosan összefonódva az artériás ágakkal. A hilusban és a stromában mind a vénák, mind az artériák között saját rendszeren belüli (veno-venosus, arterio-arteriális,) és több arterio-venosus anasztomózis figyelhető meg (5/a. ábra).

A stromából a kéregbe lépő (secunder) artériák ágainak száma, kalibere, elágazási térségének alakja függ a petefészek funkcionális állapotától. A primér és secunder tüszőt néhány enyhén görbülő artériás kapilláris öleli körül. A follikulus növekedése során a theca sejtjei epitheloid jelleget öltenek és közéjük a számban megsokszorozódott artériákból a theca externa felől számos kapilláris nő be, amelyek bőséges hálózatot alakítanak ki (5/b—c ábra).



3. ábra: A bursa ovarica-ba(i. b.)adott PGE<sub>2</sub> illetve PGF<sub>2α</sub> hatása a petefészék stromájában a szöveti véráramlásra (A) és a vérnyomásra (B). — Időjelzés; az „A” görbe függőleges beosztása 2 perc, a „B” görbe ezzel szinkron



4. ábra: A bursa ovarica-ba adott különböző dóziszú  $PGF_{2\alpha}$  és  $PGE_2$  hatása a petefészekstromájában a szöveti véráramlásra.  $\Delta\%$  = eltérés a kiindulási értéktől.  $\Delta\% \cdot perc$  = a 75 perces időtartam alatti százalékos változások összege.  $\bar{Q}$  = átlag  $\pm$  S. E., a kísérletek száma dózisonként = 5, \* =  $p < 0,05$ ; \*\* =  $p < 0,01$

A cortex felszínének vérellátása szegény. Az artériás és vénás kapillárisok a primér tüszők között a felszínre merőlegesen futnak, de azt nem érik el. A cortex-ben a-v- anasztomózisok nem találhatók. (5/b. ábra).

A sárgatesteket artériákból, arteriolákból, venulákból és vénákból álló érreteg veszi körül, amelyek a sárgatest sejtjei között gazdag kapilláris hálózatot alakítanak ki (5/d. ábra). A sárgatest belsejében az erek kiterjedten anasztomozálnak (5/e—f ábra), az egyik sárgatest vasculáris héja viszont a másik sárgatest vasculáris héjával nem közlekedik. A tüsző és a sárgatest artériás érhálózatának sémás vázlatát a 6. ábra mutatja.

### Megbeszélés

Juhban (Koering, 1974) és tengerimalacban (Horton és Poyser, 1973) igazoltnak látszik, hogy az uterusz luteolitikus faktora azonos a  $PGF_{2\alpha}$ -val. A petefészek és az uterusz szoros vasculáris kapcsolata vezetett arra a feltételezésre, hogy az uteruszban termelődött  $PGF_{2\alpha}$  az utero-ovarialis vénán venoconstrictiót okozva (Pharris, 1971), vagy juhban egy „counter current” mechanizmus révén a petefészekbe jutva (McCracken, 1971) sárgatest ischémiát

vált ki, ami luteolizishez vezet. Baird (1974)  $\text{PGF}_{2\alpha}$  hatására juh petefészekben nem tudott ischémiát megfigyelni. A  $\text{PGF}_{2\alpha}$  áterhes nyúl petefészkében a vérelszólást változtatta meg úgy, hogy a corpus luteumban csökkenti a véráramlást, a stromában és follikuláris szövetben viszont fokozza (Novy és Cook, 1973). Mások hasonló kísérletben csak a petefészek stromájában figyeltek meg véráramlás növekedést, az ovárium többi kompartmentjének véráramlása nem változott (Bruce és Hiller, 1974; Janson és mtsai, 1975). Termoelemes méréseink alapján úgy tűnik, hogy a  $\text{PGF}_{2\alpha}$  kutyában is fokozza a petefészek stroma véráramlását, a szerv vasculáris ellenállása ugyanakkor változatlan marad. A  $\text{PGF}_{2\alpha}$  tehát a petefészek véráramlásának a szerven belüli elszólását változtatja meg. Ez nem történhet a kéreg rovására, mivel a-v. anasztomózisok kutyákban is, más speciesekhez hasonlóan (Watzka, 1957) csak a hilusban és a stromában mutathatók ki. Valószínűbb, hogy a hilus-stroma határon levő shuntök záródásával és esetleges collateralisok megnyílásával a totál petefészek véráramlás nagyobb hányada lát el nutritív feladatokat a stromában.

A  $\text{PGF}_{2\alpha}$  terhes kutyában csökkenti a progeszteron szekréciót (Jöchle és mtsai, 1973). Fennállhat annak a lehetősége, hogy a  $\text{PGF}_{2\alpha}$  kutyában is azonos az uterusz luteolitikus faktorával. Az utero-ovariális érszerkezet kutyában is megfelel azoknak a követelményeknek, amelyek alapján más speciesekben a „counter current” mechanizmust feltételezik. Vitatott azonban, hogy a veno-arterialis specialis anyagtranszport az uterusz és a petefészek között fiziológias körülmények között létezik-e (Coudert és mtsai, 1974). Kísérleteink alapján viszont nem valószínű, hogy a luteolizis kialakulásában ischémiának elsődleges szerepe lenne.

A sárgatest vérrellátása a bőséges anasztomózissal rendelkező érburok által különlegesen biztosított. A kapilláris hálózat rendkívül bő, minden sejtet kapilláris ölel körül. Ez lehetőséget biztosít arra, hogy a vérbe érkező trofikus vagy litikus agens egyidőben érje el az összes sejteket, és a gyors funkcionális változások végbemehessenek.

A bursa ovarica-ba adott  $\text{PGF}_{2\alpha}$  a kísérletek nagy részében jellegzetes ritmikus változást idézett elő a petefészek véráramlásában. A kb. 2 percenként ismétlődő hullámok kialakulása feltehetően a petefészekben jelentős mennyiségben található simaizomelemek kontrakciós tevékenységével függ össze. A  $\text{PGE}_2$  adagolása után hasonló változás nem figyelhető meg. Észlelésünk összhangban van azokkal az adatokkal, miszerint a petefészek kontrakciós elemeit az  $\text{PGF}_{2\alpha}$  összehúzóásra serkenti, a  $\text{PGE}_2$  viszont elernyeszti (Virutamasen és mtsai, 1972; O'Sea és Phillips, 1974).

Kutyában az ACTH jelentősen fokozza a petefészek véráramlását (Stark és mtsai, 1967; Stark és Varga, 1968). Az ACTH-hoz hasonló hatást fejt ki a  $\text{PGE}_2$ , az ACTH hatása viszont prosztoglandin szintézist gátló indomethacin-nal jelentősen csökkenthető. Úgy tűnik, hogy az ACTH véráramlást stimuláló hatásában a  $\text{PGE}_2$  mediátor (Stark és Varga, 1975). A gonadotrop hormonok



közül az LH vált ki vérbőséget a petefészekben (Wurtman, 1964), bár anösztruszos kutyában akut hatását nem tudtuk megfigyelni (Stark és Varga, 1968). A tüszőérés és az LH stimulus során a  $\text{PGE}_2$  és a  $\text{PGF}_{2\alpha}$  fokozott mennyiségben képződik a petefészekben (LeMaire és mtsai, 1973; Bauminger és Lindner, 1975). A keletkezett prosztaglandinoknak a szteroidogenezisben (Kuehl 1974; Marsch és LeMaire, 1974) és az ovuláció folyamatában (Virutamasen és mtsai, 1972; O'Sea és Phillips 1974; Richman és mtsai, 1974) tulajdonítanak fontos szerepet. Eredményeink arra utalnak, hogy a  $\text{PGE}_2$  a petefészek teljes (totál) és helyi (szöveti) véráramlásnak szabályozásában egyaránt szerepet játszhat, míg a  $\text{PGF}_{2\alpha}$  a petefészken belül a véreloszlás megváltozását okozhatja. Mindezeknek fokozott jelentőségük lehet az ösztrusz és a terhesség alatt, amikor a petefészek megnagyobbodik és benne a különböző szövetféleségek aránya megváltozik.

### *Köszönetnyilvánítás!*

Ezúton mondunk köszönetet Kiss Zsuzsannának, Töreky Gézánének és Horváth Jánosnak a kiváló technikai segítségért. A kísérleteinkben használt prosztaglandinokat Dr. J. E. Pike (Upjohn Co., Kalamazoo, U. S. A.) bocsátotta rendelkezésünkre.

### *Összefoglalás*

Az ovarialis ciklus különböző szakaszában levő kutyákat chloraloseurethannal altatták és középső laparotómiát végeztek. Az állatok egyik csoportjában a petefészeket „in situ” izolálták és mérték a  $\text{PGF}_{2\alpha}$  és  $\text{PGE}_2$  hatását a perfúziós nyomásra, amelynek változásából a szerv teljes, (totál) véráramlására következtek. Az állatok másik csoportjában, a petefészek erek érintése nélkül, termoelemtel vezettek mindkétoldali petefészek stromájába és mérték a bursa ovarica-ba adott  $\text{PGF}_2 \alpha$  és  $\text{PGE}_2$  hatását a helyi, szöveti véráramlásra. A petefészek érszerkezetét latex és zselatinos tus feltöltéssel vizsgálták. A  $\text{PGF}_{2\alpha}$  25,0—50,0—100,0 és 200,0 ng/kg/min 15 perces i. a. infúziója nem okoz következetes változást a perfúziós nyomásban, ugyanakkor a  $\text{PGE}_2$  3,1—6,2—12,5 és 25,0 ng/kg/min 15 perces i. a. infúziója arányosan a dózisos nagyságával csökkenti azt. A bursa ovarica-ba 15 percig infundált 50,0—100,0 és 200,0 ng/kg/min  $\text{PGF}_{2\alpha}$  vagy 25,0—50,0—100,0 ng/kg/min  $\text{PGE}_2$  a dózisos nagyságával arányosan fokozza a petefészek stromájában a véráramlást. Feltételezésük szerint a  $\text{PGF}_{2\alpha}$  a hilus — stroma határon levő shuntökre hatva, úgy változtatja meg a petefészken belüli véreloszlást, hogy a teljes véráramlás megváltozása nélkül annak nagyobb hányada áramlik át a stroma kapilláris szerkezetén. A  $\text{PGE}_2$  a petefészek teljes és helyi véráram-

lásának megnövelésére egyaránt képes. A két PG-nak jelentősége az az ovarialis ciklus és terhesség alatt a petefészkekben a véreloszlás és véráramlás szabályozásában.

## IRODALOM

- Auletta, F. J., L. Speroff és V. B. Caldwell:* J. Clin. Endocr. Metab. **36**, 405. (1973).  
*Baird, D. T.:* J. Endocr. **62**, 413. (1974).  
*Baird, D. T. és R. B. Land:* J. Reprod. Fert. **33**, 393. (1973).  
*Bauminger, S. és H. R. Lindner:* Prostaglandins, **9**, 737. (1975).  
*Bland, K. P., E. W. Horton és N. L. Poyser:* Life Sciences, **10**, 509. (1971).  
*Blatchley, F. R. és B. T. Donovan:* Nature, **221**, 1065. (1969).  
*Bruce, N. W. és K. Hillier:* Nature, **249**, 176. (1974).  
*Coudert, S. P., G. D. Phillips, C. Faiman, W. Chernenki és M. Palmer:* J. Reprod. Fert. **36**, 333. (1974).  
*Hensel, H. és J. Ruef:* Pflügers. Arch. **259**, 267. (1954).  
*Hixon, J. E. és W. Hansel:* Biol. Reprod. **11**, 543. (1974).  
*Horton, E. W. és N. L. Poyser:* Brit. J. Pharmacol. **49**, 98. (1973).  
*Janson, P. O., I. Albrecht és K. Ahrén:* Acta Endocrinol. **77**, 337. (1975).  
*Jöchle, W., R. V. Tomlinson és A. C. Anderson:* Prostaglandins, **3**, 209. (1973).  
*Koering, M. J.:* J. Reprod. Fert. **40**, 529. (1974).  
*Kuehl, F. A.:* Prostaglandins, **5**, 325. (1974).  
*LeMaire, W. J., N. S. T. Yang, H. H. Behram és J. M. Marsh:* Prostaglandins, **3**, 367. (1973).  
*Marsh, J. M. és W. J. LeMaire:* J. Clin. Endocr. Metab. **38**, 99. (1974).  
*McCaffrey, T. V. és R. D. McCook:* J. Appl. Physiol. **39**, 170. (1975).  
*McCracken, J.:* Ann. N. Y. Acad. Sci. **180**, 456. (1971).  
*Novy, M. J. és M. J. Cook:* Am. J. Obstet. Gynecol. **117**, 381. (1973).  
*O'Sea, J. D. és R. E. Phillips:* Biol. Reprod. **10**, 370. (1974).  
*Pharris, B.:* Ann. N. Y. Acad. Sci. **180**, 436. (1971).  
*Richman, K. A., K. H. Wright és E. E. Wallach.:* Obstet. Gynecol. **43**, 203. (1974).  
*Saksena, S. K., In-Fai Lau és A. A. Shaikh.:* Fertil. Steril. **25**, 636. (1974).  
*Salmon, J. A. és J. Amy.:* Prostaglandins, **4**, 523. (1973).  
*Spalteholz, A. B.:* In: Romeis, B.: „Mikroskopische Technik“ (16. Neubearbeitete und Auflage) verbesserte R. Oldenburg. München. Wien 210. pp. (1948).  
*Stark, E. és B. Varga.:* Acta med. Acad. Sci. hung. **25**, 367. (1968).  
*Stark, E. és B. Varga.:* Acta med. Acad. Sci. hung. **32**, 329. (1975).  
*Stark, E., B. Varga és Zs. Ács.:* J. Endocr. **37**, 245. (1967).  
*Virutamasen, P., K. H. Wright és E. E. Wallach.:* Fertil. Steril. **23**, 675. (1972).  
*Watzka, M.:* Weibliche Genitalorgane. Das Ovarium. In „Handbuch der Mikroskopischen Anatomie“, Bd. VII. Teil. 3. Springer. Berlin. (1957).  
*Wurtman, R. J.:* Endocrinology, **75**, 927. (1964).