

A SZÍVIZOM ANTIGEN TULAJDONSÁGAINAK VIZSGÁLATA

dr. Szabó I., Iazigian Anna, Lapohos Éva

Szívizom-ellenes autoantitestek megjelenését rheumás myocarditis, postmyocardiomiás syndroma, szívinfartus, pericarditis, chronicus cor pulmonale, idiopathiás cardiopathiák stb. esetében észlelték (1, 3, 4, 5, 15, 25). Képződésüket a myocardium szöveti antigenjei váltják ki, ezért a szívizom fehérjék antigen tulajdonságainak a vizsgálata elméleti és gyakorlati jelentőséggel bír.

Kísérleteinkben különböző módszerekkel előállított szívizom kivonatok antigenjeit tanulmányoztuk serologiai módszerekkel.

Anyag és módszer

A serologiai vizsgálatokhoz szükséges szívizom-ellenes immunsavó termelésére nyulakat használtunk. Patkányszívet pH 7,4-re beállított isosmoticus konyhasóoldattal homogenizáltunk, a keverékhez azonos térfogatú teljes Freund adjuvánt adtunk, az így előállított emulsiót nyulak talpbőrébe fecskendeztük 0,5 ml mennyiségben, hetenként egyszer, 6 héten át. A hatodik alkalommal a kezelést i. m. befecskendezéssel egészítettük ki. Az állatokat az utolsó kezelés után 5 nappal elvégeztettük. Az immunsavókat merthiolattal tartósítottuk és -20° -on tároltuk.

A serologiai vizsgálatokban antigénként patkány szívizom homogenizatum különböző módszerekkel előállított frakcióit alkalmaztuk. A 0,03 M foszfát pufferrel nyert kivonatot, mely az oldható sarcoplasma proteinek tartalmazza M I, a nagy ionerős oldattal (Weber-Edsal) nyert, myofibrillaris fehérjét magába foglaló extractumot M II jelzéssel láttuk el (14). Az antigen-készítményeket merthiolattal és fagyasztással tartósítottuk.

Az M I kivonat fehérjeit tovább frakcionáltuk gélszűrőssel (Sephadex G—200, Tris—HCl puffer 0,1 M—NaCl 0,2 M, pH 8,0) s a szüretlekből a spektrofotometriával kapott gélfiltrációs görbe csúcsainak megfelelően 6 alfrakciót különítettünk el. Ezeket Diaflo-membránon való ultraszűrőssel sűrítettük be s fehérjetartalmukat coloremetriásan (20) és Kjeldahl módszerrel határoztuk meg.

A komplementkötési reakciót antigen és antiserum, tovaftató higitásával végeztük (kétdimensios titrálás), más kísérleteinkben alkalmazott módszer szerint (22, 23, 24).

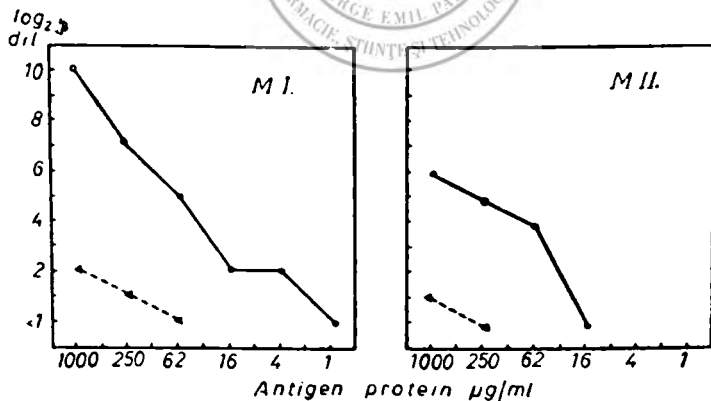
Az immunsavókat natív állapotban és patkányserummal, továbbá patkánymáj, vese és harántcsíkkolt izom homogenizatumával absorbeálva

használtuk. Kimerítés céljából 1 ml antiserumhoz 0,2 ml patkánysavót ill. szövethomogenisatumot adtunk, a keveréket 1 órán át 40° -on, 2—4 napon át $+4^{\circ}$ -on tartottuk, majd centrifugáltuk (24).

Eredmények

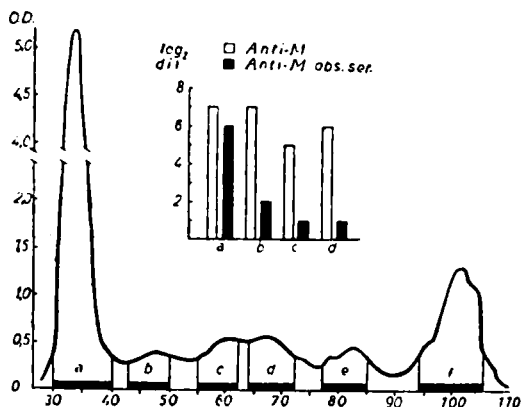
A patkányserummal kimerített szívizom-ellenes immunsavó igen kifejezett komplementkötési reakciót mutatott sarcoplasma fehérjéit tartalmazó M I kivonattal (1. ábra M I). Ez a reakció az összes szöveti antigeneket mutatja. A patkányserummal és szervkivonatokkal absorbeált immunsavó is reagált az M I extractummal, amit az izomszövetre jellemző antigéneknek tulajdonítunk. A vázizom kivonattal absorbeált antiserum és a szívizom extractum között észlelt serológiai reakció szervspecificus, csak a szívizomban előforduló antigének jelenlétét bizonyítja. A patkányszív homogenisatummal kimerített immunserum nem mutatott komplementkötési reakciót a vizsgált kivonatokkal, ami azt bizonyítja, hogy az absorbtio teljes volt.

Hasonló eredménnyel végződtek a myofibrillaris (M II) kivonattal végzett meghatározások: a patkányserummal és szervkivonatokkal absorbeált immunsavó kifejezett komplementkötési reakciót adott a myofibrillaris proteinnel is (1. ábra M II). E megfigyelés szerint tehát az isosmoticus konyhasóban nem oldódó proteinek is tartalmaznak általánosabb és szervspecificus antigeneket.



1. ábra: Antigen és antiserum tovaftató hígításával végzett komplementkötési reakció. M I: sarcoplasma antigen, M II: myofibrillaris antigen; —: patkányserummal kimerített patkányszív ellenes immunsavó reakciója. - - -: patkányserummal, valamint patkánymáj- és vese-szövettel kimerített antiserum reakciója. Ordinata: antiserum hígítás. Abscissa: antigen protein µg/ml.

Az MI kivonatból gélszűrőssel elkülönített frakciók közül az első 4 (a, b, c, d), adott pozitív reakciót a szívizom-ellenes immunsavóval (2. ábra). A patkánysavóval abszorbeált antiserum legerősebben az első (a)



2. ábra: Patkány szívizom kivonatból gélszűrőssel elkülönített fehérjefrakciók (a, b, c, d, e, f) antigen tartalma. Lent: gelfiltrációs görbe. O.D.: optikai sűrűség. Fent: komplementkötési reakcióval meghatározott antigen titer. Világos oszlopok: nem abszorbeált immunsavóval kapott titer. Sötét oszlopok: patkánysavóval kimerített immunsavóval nyert értékek.

frakcióval reagált, mely a legnagyobb molekulásúlyú fehérjéket tartalmazza. A többi frakció (b, c, d) antigen titere a benne foglalt proteinek molekulásúlyával párhuzamosan csökken.

Megbeszélés

A szívizom hig sóoldattal kivonható fehérjéinek immunológiai tulajdonságait sokan vizsgálták, különböző serológiai és immunkémiai módszerekkel. A szerzők többféle antigen-protein jelenlétét mutatták ki, melyeket fajlagosság és fizikai-kémiai tulajdonságok szempontjából többekévesé jellemeztek is (2, 6–12, 15, 16, 19, 21–24).

A gélszűrőssel végzett vizsgálatok szerint a szívizom szöveti antigenjei többféle, különböző molekulásúlyú fehérjékhez kötöttek. Ezt Chaturvedi mts (2) is jelezték. Kísérleteink rámutatnak arra, hogy a legkifejezettebb antigenitással a nagyobb molekulásúlyú proteinek rendelkeznek.

A myofibrillaris fehérjék antigen tulajdonságait főleg immunfluorescentiával (7, 15), újabban immundiffúzióval vizsgálták (13, 17, 18). Kísérleteinkben serológiai módszerrel sikerült bizonyítani a szívizom myofibrillaris fehérjéinek szövetspecifikus antigenitását.

Következtetések

Serológiai módszerekkel kimutattuk, hogy a szívizom myofibrillaris fehérjei is rendelkeznek szövetspecifikus antigenitással.

A sarcoplasma proteinek antigenitása arányos a molekulásúlyukkal.
A szerkesztőségbe érkezett: 1975. július 12-én.

Irodalom

1. Bauer H., Waters J. T., Talano J. V. et al.: Circulation (1970), 42, suppl. 3, 55;
2. Chaturvedi U. C., Davies J. W., Flewett T. H.: Clin. exp. Immunol. (1973), 15, 613;
3. Cohen L., Morgan J.: Med. Clin. N. America

(1973), 57, 105; 4. Das S. K., Cassidy J. T., Dodson V. N., Willis P. W. III: British Heart J., (1973), 35, 965; 5. Das S. K., Cassidy J. T., Petty R. E.: Chest, (1974), 66, 179; 6. Davies A. M., Laufer A., Gery I., Rosenmann E.: Arch. Path. (1964), 78, 369; 7. Espinosa E., Kushner I., Kaplan M. H.: Amer. J. Cardiol. (1969), 24, 508; 8. Espinosa E., Kaplan M. H.: J. Immunol. (1971), 106, 611; 9. Gery I., Davies A. M.: J. Immunol. (1961), 87, 351; 10. Gery I., Davies A. M.: J. Immunol. (1961), 87, 357; 11. Halbert S. P., Holm S. E., Thompson A.: J. Exper. Med. (1968), 127, 613; 12. Henle W., Chambers L. A., Groupe W.: J. Exper. Med. (1941), 74, 495; 13. Horváth B. Z., Shafiq S. A.: Biochim. Biophys. Acta (1969), 194, 310; 14. Iazigian A.: Rev. Med. (1974), 20, 185; 15. Kaplan M. H., Frengley J. D.: Amer. J. Cardiol. (1969), 24, 459; 16. Kushner I., Kaplan M. H.: J. Immunol. (1967), 99, 526; 17. Lowey S., Steiner L. A., Luck S. M.: Biophys J. (1969), 9, A 10; 18. Lowey S., Steiner L. A.: J. Molec. Biol. (1972), 65, 111; 19. Lukács E., Lapohos E., Reichel K., Szabó S.: Studii Cerc. Fiziol. (1965), 10, 543; 20. Miller G. L.: in: Geție V., Micușan V.: Analiza imunochimică. Ed. Acad. R.S.R., București, 1966; 21. Reichel K., Lukács E., Lapohos E., Kapusi A., Módy E., Szabó S.: Studii Cerc. Biochim., (1966), 9, 181; 22. Szabó S., Lapohos E., Lukács E., Kapusi A., Reichel K.: Z. Immun.forsch. (1966), 130, 252; 23. Szabó S., Maros T., Ionescu M., Lukács E., Cojocaru I., Muntyán G.: Rev. Med. Chir. Iasi (1969), 73, 427; 24. Szabó S., Maros T., Lukács E., Ionescu M., Muntyán G.: Z. Immun.forsch. (1969), 137, 492; 25. Yamamoto T., Kubo F., Mise J.: Jap. Heart J. (1974), 15, 223.
