

RADIOLOGIA IUGOSLAVICA

Anno 6

Mart 1972

Fasc. 1

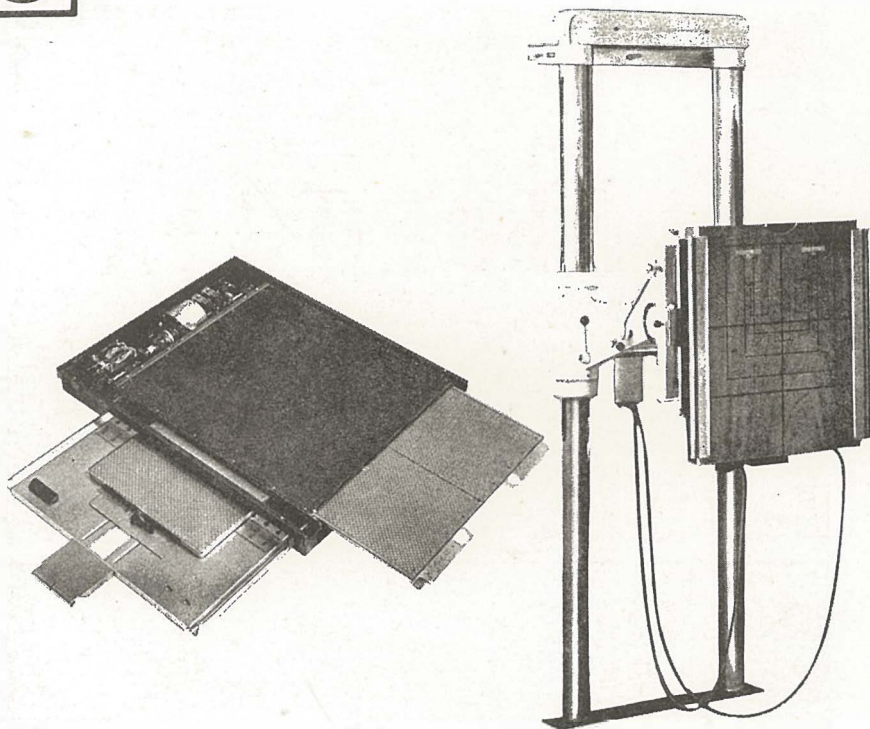
PROPRIETARIUS IDEMQUE EDITOR: SOCIETAS RADIOLOGIAE ET MEDICINAE
NUCLEARIS INVESTIGANDAE SOCIALISTICAE FOEDERATIVAE REI PUBLICAE
IUGOSLAVIAE

SKOPJE

REDACTOR PRINCIPALIS:
D. TEVČEV



BUKISTAT



Ovaj uređaj izveden je kao zidni stativ i služi za sve vrste buki snimanja pacijenata, u stojećem, sedećem i ležećem položaju. Predviđen je za snimanje normalnom ili tehnikom tvrdog zračenja. Naročito je podesan za snimanje lobanje, srca, toraksa, abdomena, karlice, kičme, bubrega, kao i za ginekološka snimanja.

Posebno je pogodan u kombinaciji sa buki stolom tako da se dobija jedno univerzalno radno mesto koje odgovara savremenim zahtevima u rendgen dijagnostici. Stativ je izveden sa dva vertikalna stuba za pričvršćivanje na pod i zid. Duž stubova kreću se kolica sa nosačem buki blende uravnotežena kontra tegovima u stubovima, tako da je veoma lako podešavanje buki blende prema visini pacijenata. Kolica se mogu fiksirati mehaničkom kočnicom u svakom izabranom položaju. Nosač sa buki blendom se može okrenuti za 360° u jednoj prstenastoj vodjici, čime je omogućeno njegovo postavljanje u položaj koji ne smeta pacijentu. Pogodne skale za visinu i nagibni ugao osiguravaju da se svaki snimak tačno podesi i eventualno ponovo reprodukuje. U bočne šine na prednjoj ploči može se postaviti potreban pribor: naslon za pacijenta, držač glave i kompresorijum.

Kao buki blenda upotrebljena je katapult blenda sa motornim pogonom rastera. Kretanje rastera u početku je veoma brzo, a u toku vremena brzina se smanjuje. Zahvaljujući ovakvom kretanju izbegnuta je pojava rastera na snimku i pri vrlo kratkom vremenu snimanja. Priključak katapult blende na neki odgovarajući rendgen vrši se preko jednog utikača i posebno višezilnog kabela.

Osnovni podaci:

Ukupna visina 205 cm

Površina na podu 66,98 cm

Ukupna težina oko 150 kg



ELEKTRONSKA INDUSTRIJA

Grupacija medicinskih uređaja
i aparata — Niš



Ronpacon[®] Cerebral 280

Rendgensko kontrastno
sredstvo specijalno
za cerebralnu angiografiju

- ▶ moderna koncepcija
- ▶ izvrsna podnošljivost
- ▶ nizak toksicitet



CILAG-CHEMIE

Schaffhausen
Švajcarska

Salpix[®]

rendgensko kontrastno sredstvo
za histero-salpingografiju

Ronpacon[®] 370 440

Ronpacon[®] Cerebral 280

optimalno podnošljiv, kontrastni snimci,
visoki sadržaj joda, brzo se injicira, nisko viskozan

Joduron[®] 30% 50% 70%

Joduron[®] U-S

dijodni kontrast u vodenom rastvoru za
histero-salpingografiju i uretrografiju

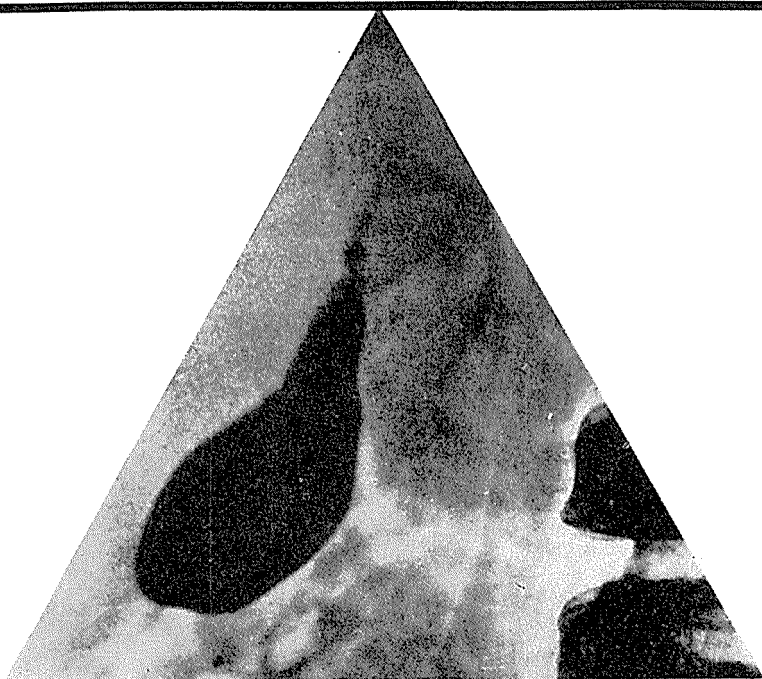
Propyliodon-Cilag[®]

vodena suspenzija za bronhografiju i
prikazivanje šupljina



CILAG-CHEMIE

CH-8201 Schaffhausen



HOLEVID - trijedno
kontrastno sredstvo
za peroralnu
holecistografiju i
holangiografiju

OPREMA:
fiola sa 6 tabl.
bočica sa 100 tabl.



KRKA · tovarna zdravil · Novo mesto

M I X O B A R

MIXOBAR

je kontrastno sredstvo za radiološku
dijagnostiku.

SASTAV:

100 ml suspenzije sadrži
Barii sulfas 100 g
Corigentia i destil. voda od 100 ml

OSOBINE:

Stabilna homogena suspenzija barijum-sulfata
Viskoznost na 25 c oko 15 000 cps

Osigurava dijagnostiku visokog stepena zbog
savršene slike koja se njime postiže.

Izbjegava se loša disperzija, veće čestice i
mjehurići zraka, koji prate sliku kod
korišćenja suvog barija.

Ne dolazi do sedimentiranja.

Ne mora da odstoji, niti da bubri, pa se postiže
ušteta u vremenu.

Na Mixobar ne utiče različita Ph sredina
želudca i crijeva.

ČUVANJE:

Suspenziju treba čuvati od zamrzavanja.

PAKOVANJE:

Plastična boca od 5 l.

Proizvodi: BOSNALIJEK — Sarajevo

u saradnji sa:

ASTRA — Södertälje (Švedska)

Trgovsko podjetje z laboratorijskim in
fotografskim materialom na debelo in drobno

Kemosevvis - fotomaterial

UVOZ - IZVOZ

LJUBLJANA, Trg Revolucije 2

nudi po konkurenčnih cenah in veliki izbiri:

APARATI, KEMIKALIJE, LABORATORIJSKA
STEKLOVINA, LABORATORIJSKI PORCELAN,
FILTER PAPIR, TERMOMETRI, AREOMETRI,
LABORATORIJSKA PLASTIKA IN OSTALI
LABORATORIJSKI MATERIAL
FOTOGRAFSKO BLAGO

TRGOVSKO PODJETJE NA DEBELO IN UVOZ

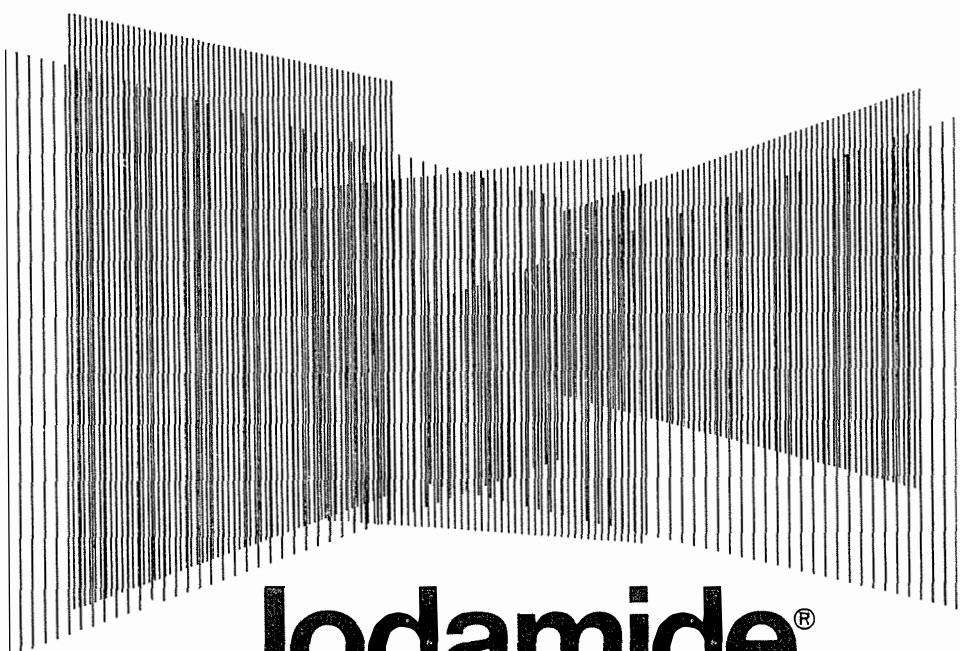
SANOLABOR

LJUBLJANA, CIGALETOVA 9

Telefon: 317 535, 311 540, 311 260

nudi:

- MEDICINSKE IN LABORATORIJSKE APARATE
INSTRUMENTE
OPREMO
- RENTGEN APARATE IN PRIBOR
- ELEKTROMEDICINSKE APARATE IN OPREMO ZA
FIZIOTERAPIJO
- OBVEZILNI MATERIAL
- BOLNIŠKO OPREMO IN TIPIZIRAN TEKSTIL
- LABORATORIJSKO STEKLO



Iodamide[®]

BRACCO

Najnovije i najbolje podnošljivo kontrastno sredstvo
za angiografiju i intravenoznu pielografiju

IODAMIDE-Infusija

metilglukaminska so jodamida
za i. v. infuzionu urografiju

IODAMIDE 300

metilglukaminska so jodamida
za i. v. urografiju i angiografiju

IODAMIDE 380

metilglukaminska i natrijeva so jodamida
za angiografiju i i. v. urografiju



BRACCO

INDUSTRIA CHIMICA S. p. A. MILANO (ITALIA)

RADIOLOGIA IUGOSLAVICA

PROPRIETARIUS IDEMQUE EDITOR: SOCIETAS RADIOLOGIAE ET
MEDICINAE NUCLEARIS INVESTIGANDAE SOCIALISTICAE
FOEDERATIVAE REI PUBLICAE IUGOSLAVIAE
SKOPJE

ANNO 6
FASC. 1

RADIOBIOLOGIJA
RADIOTERAPIJA

MART
1972

Collegium Redactorum

M. Bašić, Zagreb — B. Bošnjaković, Beograd — M. Čurčić, Beograd — M. Dedić
Novi Sad — V. Gvozdanović, Zagreb — S. Hernja, Ljubljana — M. Magarašević,
Beograd — B. Mark, Zagreb — N. Martinčić, Zagreb — Z. Merkaš, Beograd —
J. Novak, Skopje — F. Petrovčić, Zagreb — B. Ravnihar, Ljubljana — M. Smok-
vina, Zagreb — M. Špoljar, Zagreb — B. Varl, Ljubljana

Redactor principalis

D. Tevčev, Skopje

Redactores

I. Obrez, Ljubljana — S. Plesničar, Ljubljana — M. Prodan, Ljubljana — J. Škrk,
Ljubljana — L. Tabor, Ljubljana

Lektor za srpskohrvatski jezik: Stepan NINKOVIĆ, Ljubljana

Univerzalna decimalna klasifikacija: prof. Sonja GOREC, Ljubljana

Tajnica redakcije: Milica HARISCH, Ljubljana

Izdavanje ovog broja časopisa pomogle su sledeće ustanove, instituti, zavodi, bolnice, preduzeća i organizacije:

BOSNALIJEK, Sarajevo

BRACCO INDUSTRIA CHIMICA, Milano

CILAG-CHEMIE, Schaffhausen

ELEKTROMEDICINA, Ljubljana

ELEKTRONSKA INDUSTRIJA, Niš

FOTOKEMIKA, Zagreb

INTERIMPEX, Skopje

KEMOFARMACIJA, Ljubljana

»KRKA«, tovarna zdravil, Novo mesto,

KULTURNA SKUPNOST SLOVENIJE, Ljubljana

LEK, Ljubljana

ODBOR ZA KOORDINACIJU ZNANOSTI I TEHNOLOGIJE SFRJ, Sarajevo

ONKOLOŠKI INŠTITUT, Ljubljana

PLIVA, Zagreb

SCHERING, A. G., Berlin

SONALABOR, Ljubljana

VEB FILMFABRIK WOLFEN (ORWO), Berlin

VSEBINA

Radiobiologija

Neke novije koncepcije savremene radiobiologije (Kanazir, D.)	11
Proteolitična aktivnost perifernih levkocitov obsevanih kuncev po infuziji levkocitov (Kopitar, M., V. Cotič in D. Lebez)	29
Tretiranje letalno obsevanih miši s celicami kostnega mozga predtem obsevanega dajalca (Sljivić, V. S.)	35
O nekaterih faktorjih, ki vplivajo na povečanje pepsinogena v želodčni sluznici bele podgane (Klemenc-Šebek, Slava in P. Schauer)	45
Eksperimentalna i klinička studija sa limfolizirantom durom kao produžetak suptotalno resecirane vagine nakon Wertheimovih operacija (Havliček, S., V. Simčić, S. Plesničar, I. Lenart i L. Kos)	49
Studij postiradiacijskih sprememb na malignih celicah karcinoma vratu maternice (Fras, P. in Marija Us-Krašovec)	55
Učinki supraletnih doz pri zdravljenju karcinoma materničnega vratu (Popović, V., M. Bošković i R. Ilić)	59

Osvrti

Poročilo o 8. rednem letnem sestanku evropskega združenja za radiobiologijo, ki se je vršil v Baškem Polju od 20.—23. 9. 1971	63
---	----

TABLE OF CONTENTS

Radiobiology

New concepts in radiobiology (Kanazir, D.)	11
Proteolytic activity of peripheral leucocytes in irradiated rabbits after infusion of leucocytes (Kopitar, M., V. Cotič and D. Lebez)	29
Treatment of lethally irradiated mice with bone marrow cells from preirradiated donors (Sljivić, V. S.)	35
Factors influencing pepsinogen secretion in rat stomach mucosa (Klemenc-Šebek Slava and P. Schauer)	45
Vaginal reconstruction after Wertheim hysterectomy using lyophilized dura mater (experimental and clinical study (Havliček, S., V. Simčić, S. Plesničar, I. Lenart and L. Kos)	49
Postirradiation changes in cervical cancer cells (Fras, P. and Marija Us-Krašovec)	55
Effets surlethals de la radiothérapie du cancer du col uterin (Popović, V., M. Bošković and R. Ilić)	59

Communications

Report on the 8th Annual Meeting of the European Society for Radiobiology, Baško Polje, 20.—23. september 1971	63
--	----

INSTITUT ZA BIOHEMIJU I MOLEKULARNU BIOLOGIJU,
PRIRODNO-MATEMATIČKI FAKULTET, BEOGRAD

NEKE NOVIJE KONCEPCIJE SAVREMENE RADIOBIOLOGIJE

Kanazir D.

UDK: 577.3:539.12.04

Jonizujuća zračenja predstavljaju fizičke agense koji mogu da deluju na fundamentalne životne procese, a biološke posledice toga delovanja mogu biti različite. Živi svet je u toku evolucije bio izložen stalnom delovanju kosmičkog zračenja, pa se smatra, da su ta zračenja bila značajan faktor u evoluciji živoga sveta. Čovek je i danas izložen delovanju zračenja, kako iz prirodnih izvora, tako i delovanju zračenja koje se primenjuje u dijagnostičke i terapijske svrhe. Prema tome problem kako zračenja deluju na živi sistem predstavlja jedan od centralnih problema savremene biologije. Dejstvo jonizujućeg zračenja se izučava već više od pola veka. Sakupljeno je vrlo mnogo podataka o raznim aspektima delovanja zračenja na prostija i složenija živa bića. Efekat zračenja je izučavan na subcelularnom, celularnom nivou, kao i na nivou jednoćelijskih i višćelijskih organizama. No, i pored mnoštva podataka fundamentalni mehanizmi delovanja zračenja nisu još uvek dovoljno objašnjeni. Rezultati iz ranijih istraživanja su najčešće bili vrlo konflikti i na osnovu njih bilo je vrlo teško stvoriti neku opštiju teoriju o mehanizmu delovanja zračenja. Jedan takav pokušaj doveo je do formiranja teorije o »meti«, koja se zasnivala na vrlo uprošćenim pretpostavkama, da u svakom živom sistemu postoje »mete« odnosno kritički elementi na koje deluju zračenja. Kada dodje do oštećenja tih kritičkih elemenata onda nastaju razne vrste funkcionalnih i morfoloških poremećaja u živom sistemu. Međutim, ta uproštena teorija nije mogla, da da odgovor na neka fundamentalna pitanja kao na pr. zašto su neki sojevi bakterija koji pripadaju istoj vrsti više ili manje osetljivi na zračenje. Naime, nije dat odgovor od čega zavisi osetljivost na zračenje kada živi sistem pripada istoj vrsti živih bića. Ta teorija takodje nije bila u stanju da odgovori na neka pitanja vezana za procese apsorpcije energije zračenja. Tako na pr. nije poznata priroda penetracije, distribucije apsorbovane energije, intermolekularnih i intramolekularnih zbivanja koja nastaju usled transfera apsorbovane energije nije poznata sama priroda mehanizma transfera apsorbovane energije,

zatim fizičko-hemijskih priroda organskih peroksida koji nastaju posle intracelularnog apsorbovanja energije. Jednom rečju nije još uvek dovoljno poznata fizičko-hemijska priroda onih promena koje nastaju u živoj ćeliji posle apsorbovanja energije zračenja niti je, pak, poznato mesto i priroda primarnog radijacionog oštećenja, koje se odigrava u ćeliji posle apsorbovanja energije zračenja. Novija istraživanja dovela su tu teoriju o »meti« u pitanje. Naime, noviji podaci naročito podaci intenzivnijeg eksperimentalnog rada u oblasti radijacione mikrobiologije omogućili su nam, da napravimo racionalniju »sliku« ili bolje reći noviju radnu hipotezu o mehanizmu delovanja zračenja. Ono što je važno, to je, da je iz prvih istraživanja u oblasti mikrobijalne radiologije proizašla jedna neobično značajna opservacija, a to je, da kada se radi o jednoćelijskim organizmima, da uvek postoji direktna korelacija između osetljivosti na zračenje i količine dezoksiribonukleinske kiseline (DNK) tj. genetskog materijala. Ta zapažanja su bila od naročitog značaja za dalji razvoj radiobiologije, jer su ukazivala da rešenje problema delovanja zračenja treba tražiti na nivou makromolekula i to specifičnih molekula onih koji čine hemijsku gradju genoma, odnosno hemijsku gradju genetskog programa sadržanog u ćeliji. Značaj tih prvih istraživanja bio je baš u tome, što je usmerio dalja istraživanja na izučavanje dejstva zračenja na gradju i funkciju genoma. Sumarni pregled rezultata tih istraživanja pokazuje, da zračenja bez obzira na njihovu prirodu izazivaju odredjena hemijska oštećenja u strukturi makromolekula DNK svakog živog sistema bez obzira na njegovu morfološku i genetsku složenost, i da na taj način usporavaju ili potpuno inhibiraju deobu ćelija. Strukturalne alteracije genoma mogu znatno oštetiti procese metabolizma i izazvati smrt živog sistema. Otuda je izučavanje dejstva zračenja na strukturu i funkciju DNK, kao i na njen metabolizam, postalo centralni problem savremene radiobiologije. Radiobiologija danas postaje sve više molekularna radiobiologija tj. međudisciplina koja predstavlja sintezu molekularne biologije, fizičke i kvantne hemije, fizike, genetike. Danas u radiobiologiji postoje pokušaji, da se napravi sintetski pristup izučavanju problema dejstva zračenja na živi sistem, odnosno na fundamentalne životne procese. Noviji eksperimentalni rezultati potvrđuju ispravnost takvoga pristupa, jer pokazuju, da bez obzira na prirodu zračenja direktno ili indirektno izazivaju strukturalna oštećenja DNK odnosno genoma, i da biološke posledice tih oštećenja mogu biti: mutacije, smrt ćelije, poremećaji u metabolizmu i fiziološkim funkcijama živog sistema. Nedavno je, takodje, utvrđeno, da biološke posledice strukturalnog oštećenja DNK zavise kako od same primarne strukture DNK (vrste i redosleda purina i pirimidina koji ulaze u sastav makromolekula DNK) odnosno od konstitucije genoma živog sistema, tako i od sposobnosti živog sistema, da »ispravi«, »koriguje« greške u strukturi genoma. U svakom živom sistemu, smatra se danas, postoji multienzimski sistem poznat pod imenom »repair sistem«. Ovaj sistem prepoznaje alteracije primarne i sekundarne strukture DNK koje izaziva zračenje, direktnim ili indirektnim putem, i koriguje te greške na taj način što rekonstruiše prvobitnu primarnu gradju DNK, odnosno integritet prvobitnog genetskog programa. Prema tome finalni ishod dejstva zračenja, pa i sama smrt izazvana zračenjem, ne zavisi samo od prirode i doze zračenja

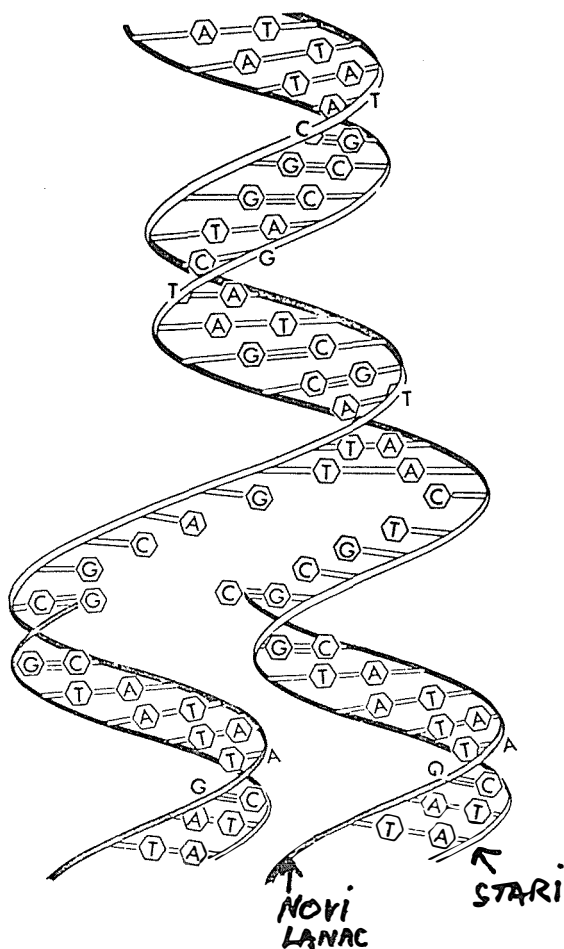
ili od mehanizma delovanja zračenja, već i od efikasnosti »repair sistema« da ta radijaciona oštećenja »ispravi« odnosno »koriguje«. Iz toga jasno proizlazi, da osetljivost na zračenje neke vrste živih bića ili same ćelije zavisi u prvom redu od efikasnosti funkcionisanja »repair sistema«. Ovaj sistem ima univerzalan značaj i izgleda da je operativan u svim živim ćelijama počev od bakterija pa do ćelije čoveka. Osnovna funkcija ovog sistema je, da očuva strukturalni integritet genoma, odnosno integritet genetskog programa, jer od ovog programa zavisi specifičnost i brzina bio-hemijskih procesa koji čine dinamičnu osnovu morfološkoj strukturi i morfološkoj varijabilnosti živog sveta. Prema tome, letalna bi bila samo ona oštećenja koja zračenja indukuju u strukturi nekog funkcionalnog gena i koja »repair sistem« nije u stanju da ispravi. Ta neispravljenost, stalna oštećenja u strukturi DNK mogu prouzrokovati: ireverzibilnu inhibiciju DNK — replikacije, (što može izazvati smrt); alteracije u transkripciji i translaciji genetskog programa tj. u procesu prevodjenja genetskih informacija u strukturu molekula proteina. Ovo može dovesti do sinteze »abnormalnih molekula proteina« ili do sinteze nedovršenog peptidnog lanca, odnosno nefunkcionalnog molekula proteina, a sve se ovo, onda može fenotipski eksperimentirati bilo kao fiziološka ili morfološka alteracija ili, pak, kao smrt živog sistema. Smatram, da je potrebno na ovom mestu, da istaknem, da je za kliničare koji rade na primeni zračenja u terapeutske svrhe neobično važno, da imaju u vidu činjenicu postojanja efikasnih »repair sistema« u nekih ćelija kancera i da je »radioresistentnost« nekih tumora verovatno posledica funkcije »repair« mehanizma. Cilj ovoga rada je da ukaže na neke novije koncepcije savremene molekularne biologije, jer one mogu biti od interesa za praktičnu medicinu, a naročito za kliničku primenu zračenja u terapeutske i dijagnostičke svrhe i da istakne činjenicu, koja je nažalost našim medicinskim krugovima i na našim medicinskim fakultetima još uvek nedovoljno poznata i prihvaćena, a to je da osnovu savremenoj medicini čini molekularna biologija ćelije, jer ona pokušava da najsavremenijim metodama objasni suštinu, odnosno fizičko-hemijsku osnovu i prirodu života. Samo onda, kada budemo bolje poznavali te fundamentalne životne procese, kao i one mehanizme koji povezuju i regulišu brzinu tih procesa, biće nam moguće, da bolje razumemo i objasnimo patološka stanja odnosno prirodu raznih obolenja. Savremena medicina se, danas, mora razvijati na osnovama i principima molekularne biologije. Medicina danas nije više samo klinička medicina, ona postaje danas međudisciplinarna, ona predstavlja sintezu biologije, genetike, biohemije, biofizike, kvantne hemije, naime, medicina danas postaje svakim danom egzaktija nauka.

A. OSNOVNI PRINCIPI MOLEKULARNE BIOLOGIJE ĆELIJE

Smatra se, danas, da je svako živo biće, pa i čovek genetski programirano. Genetski program je sadržan u genomu svakog živog sistema, a hemijsku osnovu odnosno gradnju genoma i nasledne supstance čine molekuli DNK, koji su u određenim odnosima vezani za molekule ribonukleinske kiseline (RNK) i molekule proteina. Medjutim, danas se zna, da molekul

DNK sadrži genetski program i da hemijsku osnovu toga genetskog programa čine purinske i pirimidinske baze, odnosno broj, vrsta i redosled purina i pirimidina. Broj tih manjih molekula koji ulaze u gradju makromolekula DNK može biti različit i može varirati od 1000 do 200.000. Njihov redosled određuje specifičnost genetskog programa, odnosno određuje specifičnost i brzinu biohemijskih procesa u nekom živom sistemu, a iz ovih rezultiraju sva fiziološka i morfološka svojstva dotičnog živog sistema. Genom se sastoji iz većeg ili manjeg broja funkcionalnih i strukturalnih jedinica koje nazivamo genima. Sa aspekta hemije geni nisu ništa drugo nego kraći ili duži fragmenti molekula DNK. Smatra se, da jedan gen aproksimativno sadrži oko 1000 nukleotida purina i pirimidina. Sam molekul DNK ima neobično složnu strukturu, ali i jedinstvenu. Ona je, jedinstvena zbog toga što je molekul DNK sastavljen iz dva komplementarna lanca (slika 1). Ta komplementarnost lanaca tj. determinisanost primarne gradje molekula DNK je uslovljena fizičko-hemijskim svojstvima purina i pirimidina tj. subjedinica gradje makromolekula DNK. Dalje, ta stereohemijska asocijativna komplementarnost lanaca u molekulu DNK čini osnovu kontinuiteta hemijske gradje DNK kroz generacije, a ovoj hemijski kontinuitet gradje DNK uslovljava biološki kontinuitet živog sistema. Prema tome, nasledje nije ništa drugo nego prenošenje identičnih genetskih programa kroz generacije, a ovi programi rezultiraju iz primarne gradje molekula DNK. To dalje znači, da hemijska gradja DNK čini osnovu biološkom nasledju. Kako se održava hemijski kontinuitet gradje DNK, odnosno biološki kontinuitet genetskog programa? Na to pitanje je dat odgovor zadnjih godina. Naime, intenzivna istraživanja su pokazala da jedino makromolekul DNK ima sposobnost autoreplikacije i da se baš na toj sposobnosti zasnivaju genetska svojstva molekula DNK. U procesu autoreplikacije molekula DNK dolazi do formiranja dva nova molekula DNK koja imaju identičnu hemijsku gradju kao molekul koji se autoreplicirao. Sam proces autoreplikacije DNK sastoji se u tome da se komplementarni lanci DNK odvoje jedan od drugog i da sada svaki od njih po naosob služi kao »model« odnosno »program« za sintezu novog sebi komplementarnog lanca DNK (slika 1). Prema tome kada se taj proces završi, onda iz jednog molekula DNK nastanu dva koja imaju identičnu hemijsku gradju kao prvobitni molekul koji se autoreplicirao. Ovo dalje znači, da u procesu autoreplikacije novonastali molekul DNK sadrži uvek jedan lanac koji vodi poreklo iz prvobitnog molekula tj. jedan lanac se uvek »nasledjuje«, a drugi se de novo sintetiše. To je dakle mehanizam u kome dolazi do sinteze novih molekula DNK, ali sa definisanom i determinisanom primarnom gradjom, a ta primarna gradja predstavlja genetski program dotičnog živog sistema. Autoreplikacija makromolekula DNK je proces koji čini hemijsku osnovu postojanosti genetskog materijala, odnosno invarijabilnosti živog sveta. Savremena biologija je takodje uspela, da utvrdi, da gen (jedinica nasledja) nije ništa drugo nego samo jedan deo, fragment molekula DNK. Geni determinišu specifičnost prirodu i brzinu biohemijskih procesa, povezuju te procese u harmoničnu dinamičnu biohemijsku osnovu iz koje rezultira živo biće sa svim svojim karakterističnim i specifičnim morfološkim i fiziološkim svojstvima, a kada se radi o čoveku onda ta dinamična biohemijska osnova čini osnovu svim njegovim fizičkim, mental-

Slika 1. Model za strukturu makromolekula deoksiribonukleinske kiseline (DNK). Molekul DNK se sastoji iz dva spiralno izuvijana komplementarna polinukleotidna lanca, vezana između sebe hidrogenskim vezama. Jedinicu grade čini nukleotid, koji se sastoji iz jedne purinske baze (adenin, guanin) ili pirimidinske baze (citozin, timin), Deoksiriboze i fosforne kiseline. Nukleotidi su polinukleotidnom lancu povezani fosfordiestarskom vezom. A-adenin, G-guanin, C-citozin, T-timin. — Na slici je prikazan i mehanizam autoreplikacije



nim i psihičkim svojstvima. Predpostavlja se da u čovečijim ćelijama ima negde oko 80.000 funkcionalnih gena, ali se takodje zna, da svi oni nisu aktivni u svakoj ćeliji u isto vreme, odnosno da je veći ili manji broj gena u pojedinim ćelijama inaktiviran. Diferencijacija ćelija, a i sam proces diferenciranja se zasniva na aktivaciji i inaktivaciji odredjenih grupa gena.

Proces autoreplikacije, koji se, kao što smo videli zasniva na principu asocijativne stereospecifičnosti komplementarnih lanaca, katalizuje enzim (ili grupa od više enzima) poznat pod imenom DNK-polimeraza. Sam enzim polimeraza ne precizira redosled nukleokida u procesu autoreplikacije, ali je odgovoran za »vernost« kopiranja redosleda purina i pirimidina odnosno genetskog programa. Prilikom autoreplikacije, dakle, postoji vrlo visoki stepen vernosti u reprodukciji komplementarnog lanca. Mogu se desiti, istina vrlo retko, i greške prilikom »kopirannja« definisanog genetskog programa — mutacije.

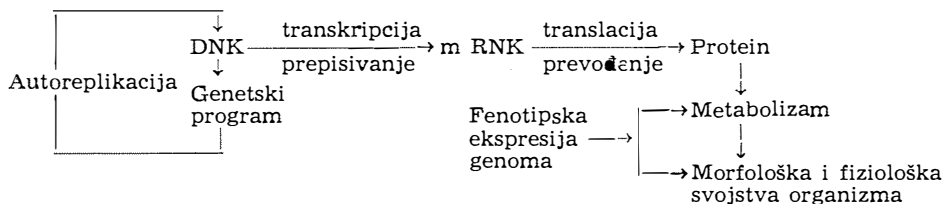
Kako geni funkcionišu?

Geni ne kontrolišu direktno specifičnosti i prirodu intracelularnih biohemijskih procesa tj. procesa metabolizma, već preko molekula specifičnih proteina. Neki od molekula proteina su specifični katalizatori biohemijskih procesa u živim ćelijama. Te biokatalizatore nazivamo enzimima. Struktura enzima je »kolinearna« strukturi gena. To znači da se redosled purina i pirimidina tj. primarna struktura gena i genetski program sadržan u toj primarnoj strukturi, »prevodi« u primarnu gradnju molekula proteina odnosno enzima. Primarna struktura molekula proteina, tj. broj vrsta i redosled aminokiselina sadržanih u tom molekulu proteina, određuje konformaciju toga molekula, odnosno tridimenzionalnu arhitekturu molekula proteina, a iz ove rezultira specifičnost funkcije dotičnog molekula odnosno zavisi da li će molekul biti enzim i kakav enzim. Jednom rečju, primarna gradnja molekula proteina-enzima određuje prirodu i specifičnost funkcije molekula enzima. Mehanizam prevodjenja, translacije, genetskog programa u strukturu molekula proteina tj. provodjenje redosleda nukleotida u redosledu aminokiselina je neobično složen, i sastoji se iz više sukcesivnih etapa čija je priroda danas odgonetnuta. Osnovni princip mehanizma translacije sastoji se u sledećem: genetski program sadržan u genu determinisan je brojem prirodom i redosledom purina i pirimidina. Taj redosled se u procesu translacije prevodi u odgovarajući kolinearni redosled aminokiselina u molekulu proteina i to tako što mesto svake aminokiseline u proteinskom lancu određuje »kodon« koji nije ništa drugo nego mali fragment DNK sastavljen iz tri nukleotida (triplet). Ti »kodoni« čine jedinicu gradnje genetskog programa i određuju mesto aminokiseline u proteinskom lancu. Međutim u mehanizmu prevodjenja ne postoji direktan sterički odnos između »kodona« DNK i odgovarajuće aminokiseline, već se genetski program prvo u složenom mehanizmu prepisivanja — transkribovanja — prenosi u specifičnu strukturu ribonukleinske kiseline poznate kao informaciona RNK (m RNK), koja figurativno rečeno predstavlja »sliku« strukture gena. Ona se transportuje iz jedra u citoplazmu ćelije i tamo služi kao genetski program za sintezu specifičnih molekula proteina. Tih informacionih RNK ima onoliko vrsta koliko ima aktivnih gena. Prema tome, direktni produkt funkcije gena nije molekul proteina već molekul ribonukleinske kiseline koji sadrži ceo program neophodan za sintezu specifičnog molekula proteina. Ti specifični molekuli proteina katalizuju životne procese, a iz tih životnih procesa rezultiraju odgovarajuća specifična svojstva svakog živog sistema.

Ovo što je rečeno može se sumarno predstaviti jednom šemom, koja predstavljaju uprošćenu »sliku« protoka genetskih informacija odnosno šemu ekspresije genetskog programa.

Ovo bi bila uprošćena šema fundamentalnih bioloških procesa autoreplikacije i ekspresije funkcije gena. Taj mehanizam protoka genetske informacije je prilično stabilan, postojan i zatvoren tj. opire se svim spoljnim »signalima« i omogućuje prenos genetskih informacija samo u jednom pravcu tj. od gena do molekula proteina, a sama primarna struktura molekula proteina »instruira« dotični molekul kakva treba da mu bude funkcija. Međutim, i pored te postojanosti, svaki sistem, pa i ovaj trpi,

kako nas fizika uči, stalne promene, a nagomilavanjem ovih promena u sistemu, tj. u živom biću dolazi postepeno, al neizbežno do funkcionalnih poremećaja u dotičnom živom biću. Smatra se, da su starenje, kancerizacija i smrt višćelijskih organizama posledica nagomilavanja grešaka u mehanizmu autoreplikacije genetskog programa i mehanizmu prevodjenja, tj. u procesima biosinteze ili pak u strukturi nekih komponenata odgovornih za vernost autoreplikacije i prevodjenja. Te »greške« koje nastaju autoreplikacijom genetskog programa sadržanog u primarnoj hemijskoj strukturi makromolekula DNK predstavljaju ustvari više ili manje diskretne modifikacije u redosledu purina i pirimidina tj. u hemiskoj strukturi genetskog programa. Kada se te promene jednom autoreduciraju postaju definitivne i prenose se sa generacije na generaciju. One se mogu fenotipski eksperimentirati kao alteriran biohemijski proces ili neka fiziološka funkcija, a kadkad mogu biti i letalne. Ono što je važno, da se istakne, to je, da se svaka promena koja se jednom fiksira u strukturi DNK uvek se prevodi u gradnju molekula proteina, ali ona ne mora biti uvek fenotipski uočljiva.



Ove promene u strukturi DNK mogu nastajati i spontano ili, pak, mogu biti indukovane bilo nekim fizičkim ili pak hemijskim agensom, a danas se zna, da i virusi mogu modifikovati, kada se inkorporiraju u genom ćelije, genetski program. Te »greške« bilo spontane bilo indukovane u strukturi DNK mogu se sastojati u supstituciji jednog para purina ili pirimidina, a ta supstitucija dovodi, takodje, do određene greške u strukturi molekula proteina. »Greška« u strukturi molekula proteina se može fenotipski eksperimentirati bilo kao neka »missense«, »nonsense« ili »frameshift« — mutacije. Može doći, takodje, i do delecije ili adicije jednog para nukleotida u neki strukturalni gen. Takva alteracija dovodi uvek do pogrešnog čitanja programa odnosno do sinteze nepotpunog ili afunkcionalnog molekula proteina. Delecija više parova nukleotida je skoro uvek letalna mutacija. Promene u strukturi DNK koje se odigravaju spontano uvek su slučajne i mogu se odigrati na bilo kom mestu u strukturi DNK tj. na bilo kom mestu u strukturi nekog gena. Te promene predstavljaju, takodje, i jedan od mehanizama nastajanja novog genetskog programa, a one su nepredvidive i slučajne, a u isto vreme čine osnovu biološkoj evoluciji i varijabilnosti živog sveta. Iz toga izlazi da je biološka varijabilnost i evolucija živog sveta produkt »puke slučajnosti« odnosno, da tok biološke evolucije nije bio unapred »smišljen« i »predodređen« niti je bio usmeren ka pojavi čoveka. Moglo se desiti, da u toj evoluciji čovek uopšte ne nastane, niti je, pak, čovek završni produkt biološke evolucije. Ovakav postulat molekularne biologije ruši osnove svakom »antropocentrizmu«, koji čini osnovu

mnogih filozofskih i religioznih teorija. Otuda je ovaj postulat sa filozofskog aspekta teško prihvatljiv, jer je čovek sklon, da u svemu onom što, se zbiva u prirodi, želi da vidi »svrsishodnost«. Ta neizvesnost mutabilnosti je ugrađena u kvantnu strukturu materije. Mutacija je dakle »kvantni« dogadjaj na koji se može primeniti princip nepredvidljivosti, neizvesnosti i slučajnosti. Prema tome, savremena biologija smatra da se sva svojstva živih bića zasnivaju na fundamentalnom mehanizmu konzervacije strukture molekula DNK, a evolucija bi prema tim koncepcijama bila ne svojstvo živih bića, već posledica imperfektnosti funkcije »repair sistema« tj. sistema za konzervaciju strukture DNK.

Mutacije

Postoje eksperimentalni podaci koji pokazuju, da se u mikroorganizmima, pa i u slučaju ćelija čoveka, strukturalne alteracije nekog gena direktno prevode u strukturu molekula proteina i to baš onako kako to predpostavlja osnovni postulat savremene molekularne biologije. Prvi primeri takvih prevodjenja genetskih oštećenja u strukturu molekula proteina zapaženi su u humanoj medicini. Poznato je, da u humanoj medicini postoje razne vrste naslednih anemija. Uzrok tim anemijama su najčešće mutacije. Strukturalna oštećenja gena se prevode u molekul hemoglobina, a strukturalne promene u molekul hemoglobina dovode do gubitka funkcije toga molekula što se fenotipski eksprimira kao anemija. Molekul hemoglobina je »multimer«, sastavljen od četiri peptidna lanca (dva alfa i dva beta lanca). Svaki od njih sadrži oko 150 aminokiselina, pa prema tome ceo molekul hemoglobina sadrži negde oko 600 aminokiselina. Danas je moguće utvrditi redosled aminokiselina u svakom od tih lanaca. Tako se na primer zna, da beta lanac otpočinje sa aminokiselinom valinom. Pošto se zna redosled aminokiselina i pošto se zna, da mesto svake aminokiseline u tom lancu određuju specifični »kodoni«, a pošto je odgonetnuta priroda »kodona«, to je danas na osnovu redosleda aminokiselina moguće indirektno utvrditi redosled purina i pirimidina odnosno hemijsku osnovu genetskog programa neophodnog za sintezu beta i alfa lanca. To što je rečeno ilustrovaćemo jednom šemom, na kojoj će biti predstavljen redosled aminokiselina u beta lancu počev od valina, biće dat samo redosled za osam aminokiselina i njemu odgovarajući genetski program

beta lanac	val—his—leu—tre—pro—glut—glut—liz . . .
HBA	

Informaciona	GUU CAU CUC ACU CCC CAA CAA AAA
RNK — kodoni	

Strukturalni	
gen — DNK	CAA GTA GAG TGA GGG CTT CTT TTT
kodoni	

Postoji jedna nasledna vrsta anemije poznata pod imenom anemija »srpastih ćelija« (sickle cell anemia), koja je u homozigotnom stanju letalna. Do te anemije dolazi zbog supstitucije glutaminske kiseline na šestom mestu u beta lancu jednom neutralnom aminokiselinom — valinom, zbog te supstitucije se menja konformacija molekula hemoglobina, a ovo dovodi do gubitka funkcije tj. takav molekul gubi sposobnost da transportuje kiseonik iz pluća do ćelija i tkiva. Znači došlo je do greške u redosledu samo jedne aminokiseline, a ta greška je dovela do gubitka funkcije. Smatra se, da je do supstitucije u pepidnom lancu došlo zbog mutacije u strukturalnom genu beta lanca i to u onom »kodonu« koji određuje mesto glutaminske kiseline. U tom »kodonu« je pirimidinska baza — timin zamenjena adeninom tj. purinom, pa prema tome je bila izmenjena hemijska gradnja »kodona«. Posle mutacije nastao je »kodon« sa redosledom CAT umesto CTT, dakle bila je dovoljna samo ta mala supstitucija jednog pirimidina sa purinom, pa da se »greška ugradi u strukturu molekula proteina hemoglobina. Takvih primera ima vrlo mnogo u mikrobialnoj genetici, međjutim, mi se na njima u ovom radu nećemo zadržavati.

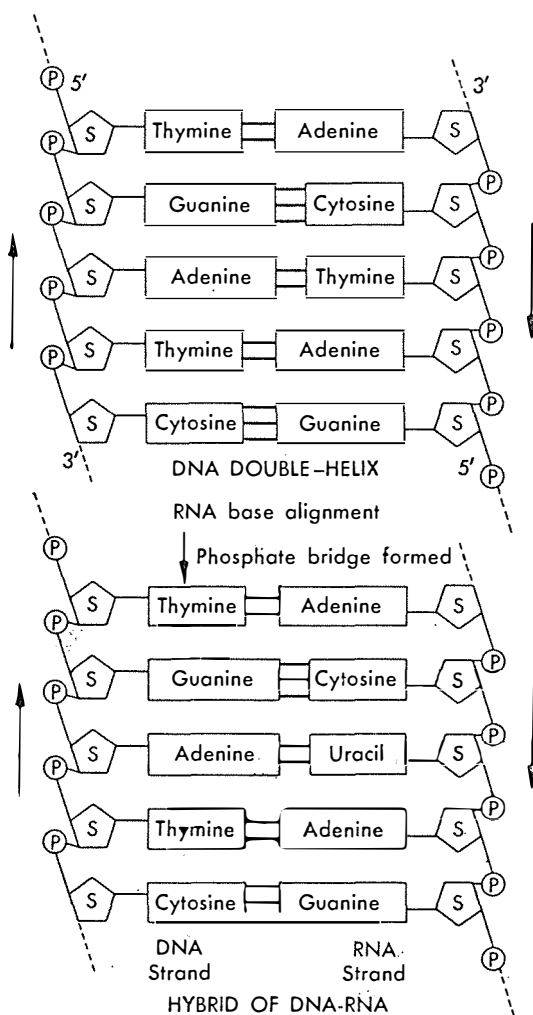
B. UTICAJ NOVIH DOSTIGNUĆA OSTVARENIH U MOLEKULARNOJ BIOLOGIJI NA ISTRAŽIVANJA U OBLASTI RADIOBIOLOGIJE

Noviji koncepti molekularne biologije stimuliraju dalja istraživanja u oblasti biologije zračenja. Osnovna postavka na kojoj se zasnivaju savremena istraživanja u radiobiologiji predpostavlja, da svako oštećenje u strukturi DNK — genom — izazvano, bilo direktnim ili indirektnim delovanjem zračenja, može: a) — ili inhibirati autoreplikaciju DNK; b) — ili ta strukturalna alteracija može u procesu autoreplikacije biti reprodukovana kroz generacije kao definitivna greška u strukturi DNK (mutacija). To znači da zračenje, pa i drugi hemijski agensi (mutageni i kancerogeni). mogu izazvati trajne promene u genetskoj konstituciji živog sistema tj. u hemijskoj strukturi njegove DNK. Ako se te promene odigraju u strukturi funkcionalnih (operativnih) gena, onda će se one prepisati u gradju informacione RNK, pa će se u procesu translacije prevesti kao male »greške« u strukturu molekula proteina. Ovo se može, ali ne mora uvek, odraziti na specifične procese metabolizma. Najčešće takvi molekuli proteina gube parcijalno ili potpuno svoju funkciju. Ako dodje do formiranja »nonsense«-nog »kodona«; UAA, UAG i UGA, u strukturi nekog funkcionalnog strukturalnog gena, onda dolazi do prematurirane terminacije translacije tj. do sinteze nepotpunog peptidnog lanca, odnosno nefunkcionalnog molekula proteina. Nedostatak nekih molekula proteina — enzima — naročito onih uključenih u fundamentalne životne procese može biti letalan.

val = valin
his = histidin
leu = leucin
tre = treonin

pro = prolin
glut = glutaminska kislina
liz = lizin

G = guanin A = adenin C = citozin T = timin U = uracil

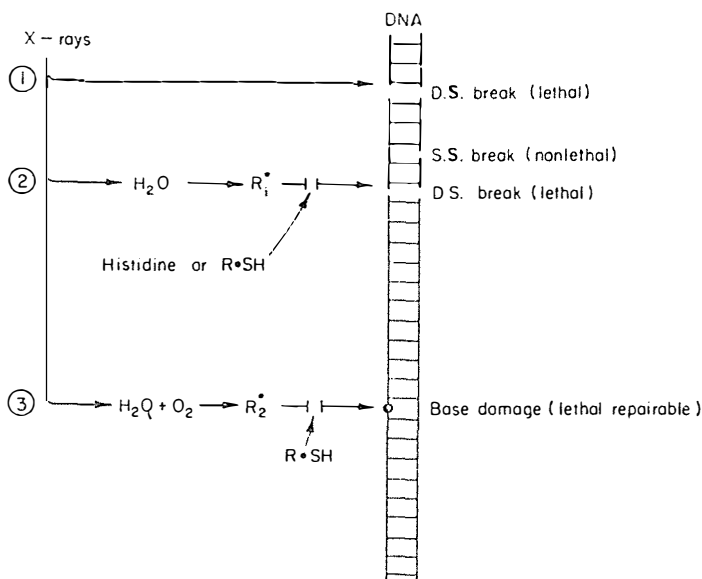


Slika 2. Na slici je prikazan fragment strukture molekula DNK. Lanci su komplementarni, adenin se vezuje za timin dvema hidrogen-skim vezama, a citozin za guanin sa tri hidrogenske veze. S-deoksiriboza, P-fosforna kiselina. — Na slici je prestavljen i mehanizam transkripcije. Jedan lanac molekula DNK služi kao program za sintezu RNK

Fizičko-hemijske promene indukovane zračenjem u strukturi DNK

Posle absorbovanja energije zračenja u ćelijama može doći zbog direktnog ili indirektnog delovanja zračenja, do depolimerizacije DNK tj. do smanjenja njene molekulske težine; do prekida u lancima makromolekula i to do prekida ili u jednom ili u oba lanca (slika 4). Ti prekidi nastaju usled cepanja veza između baza i pentoza; ili pentoze i fosfata u lancima DNK, jer te veze drže povezane baze u polunukleinske lance (slika 1 i 2). Može doći, takođe, i do strukturalnog oštećenja same baze; dezaminacija, demetilacija, oksidacija itd. Sve te pomenute promene mogu biti izazvane bilo direktnim dejstvom zračenja bilo, pak, indirektnim tj. dejstvom organskih peroksida i slobodnih radikala koji nastaju dejstvom zračenja na organska jedinjenja i molekule vode. Na pitanje kakav je biološki

značaj ovih fizičko-hemijskih oštećenja u strukturi DNK još je uvek teško dati potpun i precizan odgovor. Pretpostavlja se da sve gore pomenute strukturalne alteracije DNK mogu, ukoliko ih »repair sistem« ne koriguje, uticati na dve bitne funkcije genoma: na procese autoreplikacije i transkripcije genoma. Smrt izazvana zračenjem je najčešće posledica definitivne inhibicije procesa autoreplikacije i transkripcije genetskih informacija, a uzrok smrti su neispravljenе, »definitivne« greške u strukturi DNK. Ukoliko su doze zračenja veće i intenzivnije utoliko su veće šanse da bude oštećen i multienzimski »repair« mehanizam.



Slika 4. Šematski prikaz 3 različita tipa oštećenja strukture DNK koja se mogu indukovati direktnim i indirektnim dejstvom zračenja.

D. S. — dupli prekid u lancima DNK, letalan; S. S.-prekid u jednom lancu DNK, nije letalan. Strukturalno oštećenje baze, može, ako ne bude ispravljeno, biti letalno

Dejstvo zračenja na procese autoreplikacije

Noviji eksperimentalni podaci pokazuju da zračenje inhibira privremeno ili definitivno procese autoreplikacije DNK, iako mehanizam delovanja zračenja nije potpuno objašnjen. Dejstvo zračenja na replikaciju DNK je najbolje izučeno u virusa, bakterija i sisarskih ćelija u kulturi. U virusa je moguće napraviti direktnu korelaciju između oštećenja u strukturi DNK i bioloških svojstava virusa: proliferacije i sazrevanja virusa. Tako je utvrđeno da je dvostruki prekid tj. istovremeni naspramni prekidi u oba lanca DNK i oštećenje baze — timina (pirimidin) letalno. Posle tih oštećenja DNK virus gubi moć multiplikacije. Prekidi u jednom lancu nisu letalni jer ih »repair« sistem ispravlja i rekonstruiše primarnu gradnju

DNK. U virusa su, dakle, »defekti« u strukturi DNK, ukoliko nisu korišćeni, uzročnici gubitka proliferativne moći t. j. smrti virusa. U bakterija biološke posledice radiacionog oštećenja strukture DNK zavise od efikasnosti »repair« sistema, ali i u ovom živom sistemu: smrt bakterija (letalne mutacije) i mutacije koje se eksprimiraju fenotipski kao »auksotrofija« su posledice strukturalnog oštećenja DNK.

Podaci koji se odnose na sisarske ćelije (u kulturi) pokazuju, da je smrt indukovana zračenjem najverovatnije posledica bilo strukturalnog oštećenja DNK, ili DNK-proteinskog kompleksa hromozoma, bilo, pak, posledica inaktivacije »repair« sistema. Ako zračenje inaktivira »repair« sistem, onda se strukturalna oštećenja DNK »prepisuju« i »provode« u strukturu enzima (specifičnih proteina), a posledice tih promena mogu biti funkcionalni poremećaj u metabolizmu kao na pr.: produženje interfaze, interfazna smrt tj. smrt ćelije pre nego što ćelija udje u deobu, i smrt ćelije posle manjega broja deoba (reproduktivna smrt).

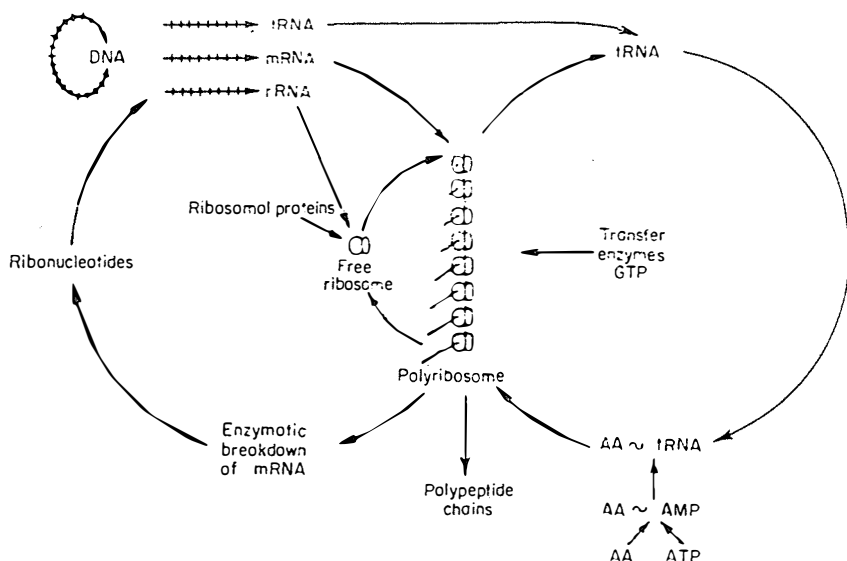
Rezultati koji se odnose na dejstvo zračenja na više organizme pokazuju da smrt sisara nastaje najčešće zbog toga što zračenja indukuju smrt ćelija intestinalnoga trakta i hematopoetskoga tkiva. Smrt tih ćelija nije još uvek dovoljno egzaktno objašnjena s obzirom na činjenicu, da se posle letalnih i subletalnih doza zračenja u ćelijama ozračenih organizama odigravaju mnogostruke biohemijske promene. Problem je utoliko složeniji što u tim organizmima posle zračenja može doći do repopulacije organa i tkiva. Do te repopulacije dolazi bilo zbog efikasnog »repair« sistema, bilo, pak, zbog brže deobe preživelih ćelija, ili zbog migracije ćelija. Razume se, da posle totalnog ozračivanja neke životinje ili čoveka nije oštećen samo jedan molekul ili jedan tip molekula u ćelijama, svi molekuli mogu biti oštećeni, jer ne postoji nikakvo selektivno delovanje jonizujućih zračenja na pojedine vrste makromolekula, ali ovde treba odmah istaći, da biološke posledice ne moraju biti iste. Iz onoga što je dosada rečeno jasno se vidi, da svako oštećenje strukture DNK može biti kritično za funkciju ćelije, dok na primer oštećenje molekula polisaharida, fosfolipida ne more biti kritično. Sve dotle dok genom nije oštećen postoji efikasan sistem koji je u stanju da obnovi hemijski sadržaj ćelije. To znači, ako je funkcija gena neoštećena, onda će i hemijski sastav ozračene ćelije biti vrlo brzo obnovljen. Prema tome, za preživljavanje nekog ozračenog sistema nije bitan broj i vrsta oštećenih molekula već specifičnost funkcije oštećenih molekula. Ono što ovde treba istaći, to je, da među mnogobrojnim poremećajima koja zračenja izazivaju u živoj ćeliji inhibicija sinteze DNK u brzo proliferirajućim ćelijama (creva, koštane srže) i ćelijama drugih organa je fenomen koji se posle zračenja najranije zapaža. Izgleda, da to oštećenje DNK predstavlja univerzalni fenomen odnosno posledicu delovanja raznih vrsta zračenja, i da se zapaža u svim živim sistemima bez obzira na kompleksnost ozračenog organizma. Takvo zapažanje nameće tri pitanja: šta je to što prouzrokuje inhibiciju sinteze DNK? Kakva je DNK što se sintetiše u ćelijama ozračenog organizma? Da li je oštećenje izazvano zračenjem u strukturi DNK »reparabilno« ili ne?

Inhibicija sinteze DNK zapaža se, već nekoliko sati posle ozračivanja letalnim i subletalnim dozama. Ona se ne može pripisati aktivnosti nukleaza (enzima koji katalizuju hidrolizu DNK) jer se aktivnost tih enzima

u vremenskim intervalima kada se zapaža inhibicija sinteze DNK ne menja, niti se ta inhibicija može pripisati nekrozi ćelija, ili promenama u populaciji ćelija u organizmima ozračenih životinja. Sve su ovo promene koje se daleko kasnije zapažaju nego što se uočava inhibicija sinteze DNK. To znači, da su verovatno drugi faktori odgovorni za ovaj fenomen. Tako bi na primer promene u količini prekursora — manjih molekula — neophodnih za sintezu DNK, ili smanjena fosforilativna oksidacija mogle da uspire ili blokiraju sintezu DNK. Međutim, isto tako uzrok toj inhibiciji sinteze DNK mogla bi da budu i strukturalna oštećenja samog molekula DNK ili pak oštećenja u strukturi enzima — polimeraza. Eksperimentalni rezultati govore u prilog pretpostavke da je uzrok sporijoj ili potpuno inhibiranoj replikaciji DNK u ćelijama ozračenih životinja najverovatnije promena elektronske konfiguracije duž samog makromolekula DNK, što sekundarno dovodi do prekida u lancu DNK, ili nekog trajnog oštećenja purinske ili pirimidinske baze, a sve ove promene mogu inhibirati aktivnost DNK — polimeraze tj. procese autoreplikacije DNK. Imajući u vidu te novije podatke nije danas potrebno, kao što se to nekada ranije činilo, pretpostavljati, da u raznim organizmima i organizmima postoje specifični i različiti mehanizmi delovanja zračenja, već se može pretpostaviti, da se verovatno radi o jednom jedinstvenom i univerzalnom mehanizmu bez obzira na genetsku i morfološku složenost i komplikovanost živih bića. Naime, s pravom se može pretpostaviti, da je to univerzalno oštećenje u stvari oštećenje primarne gradje molekula DNK, odnosno strukture genoma, a da biološke posledice mogu biti različite. Razume se, da bi se ta strukturalna oštećenja genoma fenotipski eksprimirala potrebno je, da se prepišu i prevedu u strukturu molekula specifičnih proteina. Kada se diskutuje ovaj problem mora se stalno imati u vidu i činjenica, da su molekuli DNK u sisarskoj ćeliji i ćeliji čoveka vezani za molekule baznih proteina (histona) i molekule kiselih proteina tj. da hromozomi nisu ništa drugo nego složeni kompleksi nukleoproteina i da proteini u takvoj kompleksnoj strukturi mogu imati »protektivnu« ulogu, tj. mogu zaštititi molekule DNK od direktnog i indirektnog dejstva zračenja. Međutim, ono što ovde treba istaći to je da oštećenja izazvana zračenjem u strukturi proteina koji čine nukleoproteinski kompleks, (a ta oštećenja mogu biti na primer oksidacija tiol-grupa histonske F-3 frakcije ili inhibicija fosforilacije histona bogatih lizinom), mogu prouzrokovati promene u konformaciji DNK sadržane u hromozomima, a ove mogu sprečiti procese autoreplikacije i transkripcije tj. mogu sprečiti normalne funkcije genoma.

Dejstvo zračenja na transkripciju

Novija istraživanja u oblasti molekularne biologije pokazuju da jonizujuća kao i ultravioleto zračenje inhibiraju sintezu »de novo« proteina, odnosno inducibilnih enzima. Ovo se objašnjavalo usporenom ili inhibiranom transkripcijom i translacijom. Zna se, da je RNK direktni produkt transkripcije gena. Poznato je, takodje, da postoji više klasa ribonukleinskih kiselina: informaciona RNK (m RNK), ribozomalna RNK (r RNK) i transfer RNK (t RNK). Sve ove klase učestvuju u procesima »prevodjenja« genetskog programa u gradju molekula proteina tj. u procesima biosinteze proteina.



Slika 3. Šematski prikaz translacije-biosinteze proteina. Sve različite klase ribonukleinskih kiselina se sintetiziraju putem transkripcije. m-RNK je informacijska RNK, sadrži program za sintezu proteina. Ribozomi se vezuju za m-RNK (polizomi) i omogućuju polimerizaciju aminokiselina u specifične polipeptidne lance. Kodoni sadržani u m-RNK određuju mesto svake amino kiseline. t-RNK-transfer RNK, za svaku aminokiselinu postoji odgovarajuća specifična t-RNK-. Aminokiselina se vezuje za odgovarajuću t-RNK i preko nje prepoznaje odgovarajući kodon. Ribozomi se pomeraju duž m-RNK od kodona do kodona, a na svakom novom kodonu jedna određena aminokiselina se vezuje za nascentni peptidni lanac

Za svaku vrstu ribonukleinske kiseline postoje odgovarajući geni. Prema tome struktura ribonukleinske kiseline nije ništa drugo nego »otisak«, »slika« gradje odgovarajućeg strukturalnog gena. Program gena tj. redosled purina i pirimidina se transkribuje u procesus koji je sličan autoreplikaciji DNK i prepisuje u specifičan redosled purinskih i pirimidinskih baza određene RNK čiju sintezu kontroliše dotični gen. Prema tome treba očekivati, da će se svaka greška u strukturi DNK prepisati u gradju neke vrste ribonukleinske kiseline, a to onda može dovesti do grešaka u samoj sintezi proteina, jer smo već ranije pomenuli, da u tom procesus učestvuju sve klase ribonukleinskih kiselina (slika 3).

Postoje eksperimentalni podaci koji pokazuju, da je sinteza informacionih i ribosomalnih RNK usporena u bakterija posle ozračivanja, a u virusu je utvrđeno, da se posle zračenja sintetiziraju »abnormalne« informacione RNK. Slično je, zapaženo i u sisarskim ćelijama u kulturi. Izgleda, dakle, da je transkripcija usporena i da su informacione RNK (m RNK), koje se sintetiziraju posle zračenja, nestabilnije (kraćeg veka). Ova nestabilnost se može pripisati »greškama« u strukturi RNK.

Izučavano je takodje i dejstvo zračenja na transkripciju u organizmima viših organizama. Model sistem je: jetra odraslog pacova (jetra u miro-

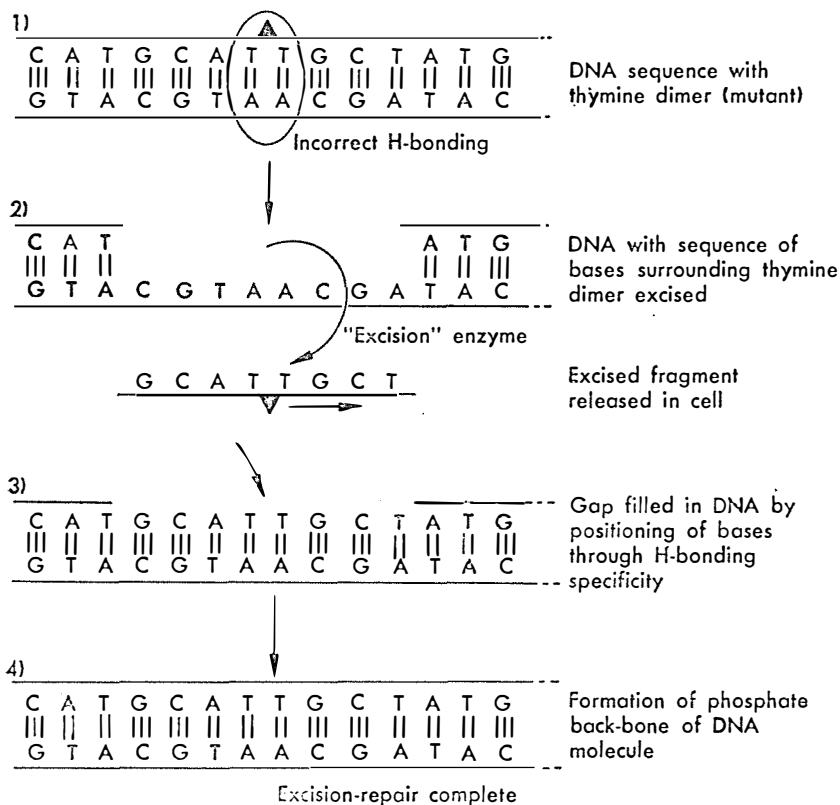
vanju); jetra u proliferaciji posle hepatektomije; i jetra u toku embrionalnog i fetalnog razvića. Ta istraživanja su pokazala da subletalne doze zračenja usporavaju procese transkripcije tj. procese sinteze svih vrsta RNK i da je stepen inhibicije proporcionalan dozi zračenja. Izgleda, da je izmenjena i struktura RNK molekula sintetizovanih posle zračenja, a to znači, da je modifikovan i genetski program sadržan u takvim RNK-molekulima. Ispitivanja strukture informacionih RNK sintetizovanih u jetri embriona pacova posle zračenja pokazuju, da je sastav tih RNK znatno izmenjen. Slične promene su zapažene i ćelijama hepatoma. Svi ovi podaci jasno pokazuju, da jonizujuća zračenja modifikuju procese transkripcije, i da se strukturalna oštećenja izazvana zračenjem u genomu ćelije prepisuju u gradju RNK.

Ekspresija funkcije gena odvija se i u ćelijama viših živih bića putem transkripcije i translacije. Medjutim, pored spoljnih faktora ovu ekspresiju kontrolišu i endogeni faktori tj. u viših organizama postoji i neurohormonalna kontrola genetske ekspresije. Hormoni mogu da aktiviraju gene tj. mogu da uključe u funkciju neke inaktivirane gene ili pak da isključe iz funkcije neke aktivne gene. Hormoni utiču na gensku ekspresiju preko procesa transkripcije i translacije. Prema tome, izučavanje mehanizama dejstva zračenja u ćelijama viših bića, je daleko kompleksnije nego u jednoćelijskih organizama.

Sumirajući dosada pomenute podatke moglo bi se ukratko zaključiti, da se oštećenja u strukturi DNK preko procesa transkripcije i translacije prevode u strukturu molekula enzima i drugih specifičnih regulatornih proteina. Ovo može da prouzrokuje poremećaje u metabolizmu koji se mogu manifestovati kao brže starenje, kancerogeneza ili kao nesposobnost organizma, da se fiziološki, a čovek i psihički prilagodi sredini, tj. kod čoveka se te alteracije u metabolizmu mogu eksprimirati i kao psihoze.

C. UKLANJANJE RADIACIONOG OŠTEĆENJA IZ STRUKTURE DNK I REKONSTRUKCIJA ORIGINALNOG GENETSKOG PROGRAMA. ULOGA I FUNKCIJA »REPAIR« MEHANIZMA

Novija istraživanja pokazuju da verovatno u svakoj živoj ćeliji postoji multienzimski sistem koji uklanja strukturalne greške i rekonstruiše prvobitnu strukturu DNK. U tom mehanizmu učestvuje više različitih enzima: jedna grupa enzima prepoznaje grešku u strukturi DNK i iseca taj fragment DNK, a drugi enzimi posle isecanja izvrše parcijalnu sintezu tog isečenog dela jednog lanca DNK, kao program za resintezu služi odgovarajući deo u komplementarnom lancu. Prema tome, »repair«, mehanizam, posle parcijalne degradacije onog dela lanca koji sadrži grešku, izvrši parcijalnu resintezu — rekonstrukciju — prvobitnog genetskog programa (Cut-and-patch-mechanism) (slika 4). Pošto je to multienzimski sistem, to znači, da postoje geni u svakoj ćeliji koji kontrolišu intaktnost, invarijabilnog genetskog programa. Ovaj mehanizam stalno smanjuje količinu strukturalnih oštećenja DNK, t. j. frekvencu mutabilnosti pa prema tome smanjuje i mogućnost fenotipske ekspresije primarnog radiacionog oštećenja. Ako je zračenje tako intenzivno da inaktivira »repair« mehanizam,



Slika 5. Šematski prikaz aktivnosti multienzimskog repair-mehanizma. Oštećenje u strukturi DNK, dimer timina, prepoznaje repair-mehanizam, ekscizijski enzimi isecaju taj deo jednog lanca DNK, a prekid u lancu koji nastaje zbog isecanja se ispunjava postepeno putem parcijalne resinteze dotičnog fragmenta, kao program za tu sintezu služi odgovarajući fragment komplementarnog lanca. Tu sintezu katalizuje enzim repair-replikaza, a kada se sinteza završi krajeve novonastalog fragmenta sa krajevima lanca povezuju enzimi ligaze, tako se u više etapa završi rekonstrukcija primarne građe gena, odnosno genetskog programa

onda su posledice strukturalnog oštećenja DNK letalne tj. ćelija odnosno organizam su osuđeni na smrt. U prilog ove pretpostavke govore i podaci koji se odnose na jednu bolest čovečije kože poznate pod imenom xeroderma pigmentosum. To je nasledno oboljenje, a do njega dolazi zbog toga što je u ćelijama tih bolesnika »repair« mehanizam inaktivan. Te ćelije nisu u stanju, da uklone »greške« iz strukture DNK izazvane UV-ili X-zračenjem, a biološka posledica tih oštećenja je rak ćelija kože. Zapaženo je, takodje, da ti bolesnici prematurno stare. Ovo je vrlo lep primer iz humane medicine koji govori u prilog radne hipoteze, da su biološke i patološke manifestacije zapažene posle zračenja posledica strukturalnih oštećenja DNK i inefikasnosti »repair« sistema.

sekunde. Te primarne fizičko-hemijske promene dovode do stabilnih i trajnih strukturalnih hemijskih promena u gradnji DNK, kao što su na pr. prekid u lancu, oksidacija pentoze, desaminacija i dehidroksilacija baza, nastajanje organskih peroksida itd. Te promene mogu biti indukovane bilo direktnim ili indirektnim dejstvom zračenja. Prisustvo tih strukturalnih »defekata« može da aktivira »repair« sistem. Ona oštećenja koja »repair« mehanizam ne ispravi mogu inhibirati transkripciju ili ako do ove dodje onda nastaje »defektan« genetski program koji dovodi do sinteze nefunkcionalnih molekula specifičnih proteina — enzima. Na te rane biohemijske procese koji se odigravaju neposredno posle zračenja mogu uticati ekso-gen i endogeni faktori (na pr. hormoni). Ako je »repair« mehanizam efikasan, onda može doći do potpune »reparacije« radiacionog oštećenja i rekonstrukcije prvobitnog genetskog programa, a to znači da će živi sistem proživeti. Ako je pak »repair« sistem inefikasan (spor) ili je oštećen zračenjem onda će živi sistem biti osuđen na bržu ili sporiju smrt što zavisi od doze zračenja. Posledica tih oštećenja u strukturi DNK može biti i mutacija i to najčešće štetna mutacija, što znači da se organizam može održati u životu samo ako se spolja zadovolje neke njegove životne potrebe.

Na kraju treba istaći, da još uvek ne postoje direktni dokazi za potvrdu ove hipoteze, ali postoje eksperimentalni podaci koji direktno potvrđuju osnovne principe ove hipoteze. Razume se, da predložena hipoteza iziskuje dalju eksperimentalnu proveru. Iako još uvek nepotpuna predložena radna hipoteza ima za cilj, da postakne dalja osnovna istraživanja u oblasti radiobiologije i da ukaže na značaj već postignutih rezultata koji bi trebalo da posluže kao naučna osnova za dalju primenu zračenja u terapiji.

Bibliografija

1. R. A. McGrth and R. W. Williams, *Nature* 212, 534, 1966.
2. H. S. Kaplan, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.* 55, 1442, 1966.
3. J. J. Weiss, *Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol.*, 3. 103, 1964.
4. D. Kanazir and M. Errera, *Cold Spring Harbor Simp.*, 21, 19, 1956.
5. N. P. Dubinin, *Molekularnaja genetika i destvije izlučeni na nasledstvenost*, Gosatomizdat, Moskva, 1963.
6. R. H. Haynes, *Physical processes in radiation biology*, p. 51., Academic Press, New York, 1964.
7. D. T. Kanazir, *Radiation induced alterations in the structure of deoxyribonucleic acid and their biological consequences*, *Prog. Nucleic Acid Res Mol. Biology*, 9, 117, 1969.

Adresa avtora: Prof. dr. D. Kanazir, Institut za nuklearne nauke »B. Kidrič«, Vinča, Beograd, NR Srbija.

DEPARTMENT OF BIOCHEMISTRY, JOŽEF STEFAN INSTITUTE,
UNIVERSITY OF LJUBLJANA, LJUBLJANA, YUGOSLAVIA

PROTEOLYTIC ACTIVITY OF PERIPHERAL LEUCOCYTES IN IRRADIATED RABBITS AFTER INFUSION OF LEUCOCYTES

Kopitar M., V. Cotič, D. Lebez

UDK: 616-001.28-08:612.419.084

Cathepsins are known as an important factor in intracellular degradation of proteins in irradiated organisms (1—6). In irradiated leucocytes is released catheptic activity (7, 8). With the same dose this effect is much more pronounced in lymphocytes than with polymorphonuclears (9—11).

The survival of lethally irradiated animals following treatment with bone marrow has been adequately described as well (12, 13).

Several authors (14—17) have studied survival of irradiated animals treated with autologous, homologous and isologous leucocytes, homogenates of normal spleens and subcellular fractionations of normal spleen cells.

In this paper we would like to show the changes in catheptic activity of peripheral leucocytes of whole-body irradiated rabbits compared with animals irradiated with the same dose and then infused with fresh homologous leucocytes.

Material and methods

Chinchilla rabbits about one year old were used for the experiments. All animals were irradiated with 800 r — gamma irradiation. Co⁶⁰ (600 r/min) was used as the source of irradiation.

One group of rabbits was treated with $5 - 8 \times 10^7$ leucocytes of non irradiated donors by intravenous infusion, exactly 30 min after irradiation.

For the determination of total number of leucocytes we used Bürker-Türk counting chamber and the cells were stained with Türk's solution. Differential blood picture was determined according to technique of Giemsa-Romanowsky.

Preparation of leucocyte suspension

For each determination of enzyme activity 30 ml of blood were taken. Peripheral leucocytes were isolated with dextran flotation by the method of Skoog and Beck (18). The leucocytes were then concentrated by centrifugation and resuspended in Hank's buffer (pH 7.4) and homogenized with teflon pestle homogenizer. The homogenate was centrifuged at 10 000 g for 30 min at 0°C in a Sorvall refrigerated centrifuge.

Determination of catheptic activity

Catheptic activity was measured by the modified Anson method, using Folin Ciocalteu reagent (BDH). Optical density was measured at 750 m μ . 0.4 ml of enzyme and 2 ml of 2% substrate were incubated 4 hrs at 37°. Controls were always incubated in parallel. The following substrates were used: hemoglobin at pH 3.5 and 7.0 (prepared in laboratory), bovine serum albumin at pH 7.0 (Sigma). 0.1 M acetate buffer were used for pH 3.5 and 0.15 M phosphate buffer for pH 7.0. Results are given as optical density at 750 m μ for pH 7.0 and as enzyme units per mg of nitrogen and per 10⁷ cells at pH 3.5.

Nitrogen was determined by a modified Kjeldahl method (19).

Determination of catheptic activity

In Table I. are given control (irradiated rabbits) values of catheptic activities, and compared later with catheptic activity of treated animals (irradiated and infused). In the 24 hr the catheptic activity per mg of nitrogen only slightly increased but a pronounced increase can be observed in the 48 hr after irradiation. On the 12th day is the catheptic activity down in the range of non irradiated values.

When catheptic activity is expressed per 10⁷ cells we noted a decrease in the 24th hr which is below of non irradiated value. In the 48th hr a pronounced increase was observed especially in the case when animal survived.

In the Table II. are given the results of animals infused with leucocytes. In this case is the catheptic activity per mg of nitrogen only slightly increased in the 24th hr and rather strongly in the 48th hr. The catheptic activity per 10⁷ cells strongly increased in the 48th hr only in the cases that survived. It is interesting to compare also the neutral activity measured on Hb and bovine serum albumin substrates. We can see that neutral proteinase is markedly increased.

The results of hematological analysis are given in Fig. 1. The total number of leucocytes is decreasing in both cases. In the 24th hr there is a relative increase of segmented cells and rapid decrease of lymphocytes, on the 12th day are both kinds of cells lowered.

In above mentioned cases infused normal leucocytes in a quantity of 5 — 8 $\times$ 10⁷ cells did not influence the survival of irradiated rabbits.

The most interesting fact is that when catheptic activity per cell unit was strongly increased in the 48th hr, rabbits survived and when this

Table I. Cathaptic activity of leucocytes from control — only irradiated animals

	Control				24 hrs				48 hrs				12 days			
	OD 750	Eu/mgN	Eu/10 ⁷ c		OD 750	Eu/mgN	Eu/10 ⁷ c		OD 750	Eu/mgN	Eu/10 ⁷ c		OD 750	Eu/mgN	Eu/10 ⁷ c	
1	Hb 3.5				0.380	5.67	0.42		0.191	8.29	0.31		0.160	8.23	0.52	
	Hb 7.0				0.030				0.022				0.044			
	BSA 7.0				0.008				0.022				0.011			
2*	Hb 3.5				0.310	4.59	0.32		0.144	7.73	0.26		0.057	6.61	0.35	
	Hb 7.0				0.036				0.043				0.038			
	BSA 7.0				0.006				0.020				0.011			
3	Hb 3.5				0.213	3.38	0.27		0.096	3.33	0.22		0.218	5.06	0.40	
	Hb 7.0				0.077				0.022				0.032			
	BSA 7.0				0.008				0.013				0.008			

Table II. Cathaptic activity of leucocytes from irradiated and with infusion treated animals

	Control				24 hrs				48 hrs				12 days			
	OD 750	Eu/mgN	Eu/10 ⁷ c		OD 750	Eu/mgN	Eu/10 ⁷ c		OD 750	Eu/mgN	Eu/10 ⁷ c		OD 750	Eu/mgN	Eu/10 ⁷ c	
1*	Hb 3.5				0.306	4.38	0.34		0.255	5.80	0.21		0.053	7.04	0.48	
	Hb 7.0				0.022				0.038				0.023			
	BSA 7.0				0.008				0.018				0.014			
2	Hb 3.5				0.304	4.50	0.38		0.160	5.50	0.53		0.068	6.66	0.95	
	Hb 7.0				0.017				0.022				0.024			
	BSA 7.0				0.007				0.014				0.008			
3*	Hb 3.5				0.312	4.42	0.34		0.154	7.46	0.19		0.228	7.12	0.54	
	Hb 7.0				0.023				0.042				0.034			
	BSA 7.0				0.004				0.014				0.018			
4	Hb 3.5				0.177	3.75	0.24		0.200	7.93	0.27		0.224	9.93	1.32	
	Hb 7.0				0.023				0.017				0.044			
	BSA 7.0				0.020				0.008				0.022			

*Animal died.

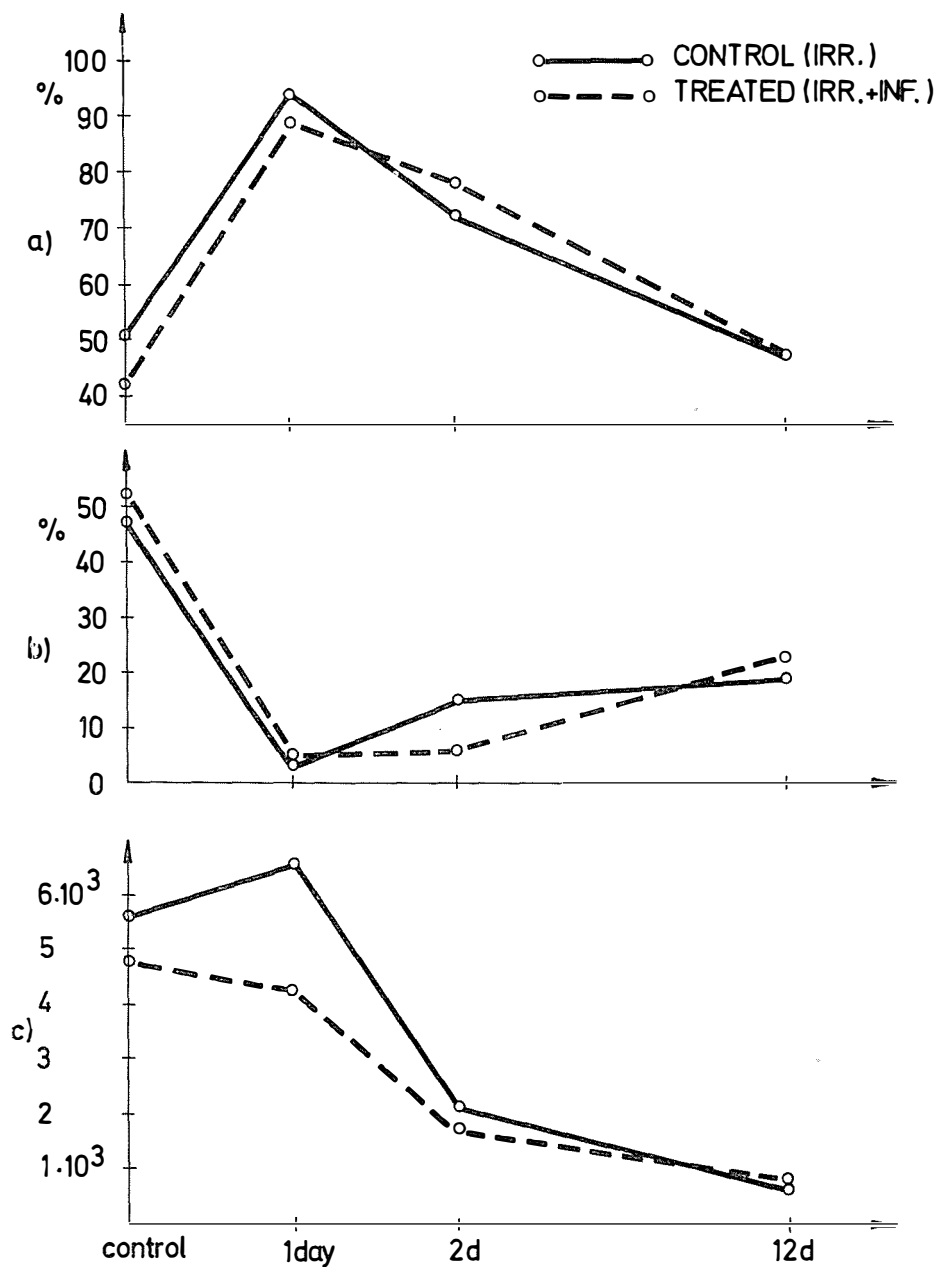


Fig. 1. White blood picture: a) segmented leucocytes (%), b) lymphocytes (%), c) total leucocyte cells/mm³

activity was more or less unchanged, they died within 15 days after irradiation. Similar phenomenon was observed in the behaviour of the catheptic activity per cell with cancer patients irradiated with therapeutical local doses (4). Also in these cases patients with unchanged catheptic activity of leucocytes died within the period of clinical observation.

Recent investigations (6) in the field of cancer therapy pointed out the importance of activation of lysosomal system, according to hydrolytic enzymes degrading cytoplasmatic structures and leading to the cell death. The mechanism of activation or inactivation of lysosomal hydrolases is not known yet.

Very important are also investigations of low molecular weight neutral proteinases from leucocytes (20). They are known to inhibit the growth of Yoshida sarcoma cells and therefore increase the survival of tested subjects.

Summary

1. Peripheral leucocytes of control (irradiated) and treated (irradiated and infused) rabbits were isolated by the method of Skoog and Beck.

2. Proteolytic activity of leucocytes and hematological picture of control and treated animals was followed. The effect of 800 r gamma irradiation on the release of cathepsins was studied just before irradiation and 24, 48 hr and 12 day. A pronounced increase of catheptic activity per cell unit (10^7 cells) was observed especially in subjects that survived.

3. The infused dose of cells $5 - 8 \times 10^7$ have no effect on survival of irradiated animals. By our opinion it was too low.

Zaključki

1. Levkociti periferne krvi kontrol (obsevanih) in poskusne serije (obsevanih in infundiranih) zajcev so bili izolirani po metodi Skooga in Becka.

2. Opazovali so proteolizno aktivnost levkocitov in hematološko sliko kontrol in živali v poskusu. Učinek obsevanja z 800 r/na sprostitvev katepsinov so določali tik pred obsevanjem in 24, 48 uro ter dvanajsti dan. Zaznaven porast katepsinske aktivnosti (na 10^7 celic) je bil opažen posebno pri primerih, ki so preživeli.

3. Perfundirana doza celic $5 - 8 \times 10^7$ celic ni pokazala efekta na preživetje obsevanih živali. Izgleda, da je bila doza prenizka.

Acknowledgement

The authors thank Mrs. J. Komar for her skilful technical assistance. This work was supported by Boris Kidrič Foundation SRS, Contract No. 106/44-71.

References

1. D. Lebez, M. Furlan, M. Antonijević and M. Kopitar: Abstr. IInd Int. Congress Radiat. Res., Harrogate, England, p. 206, 1962.
2. U. Hagen: *Strahlentherapie* 116, 2 5(1962).
3. M. W. Bouma, M. Gruber: *Biochim. Biophys. Acta* 89, 545 (1964).

4. M. Kopitar, J. Škrk, L. Šavnik, D. Lebez and T. Poniž: *Strahlentherapie* 129, 596 (1966).
5. E. D. Wills and A. E. Wilkinson: *Biochem. J.* 99, 657 (1966).
6. W. A. Filov: *Vopr. Onkol.* 16, 94 (1970).
7. M. Kopitar, D. Lebez: *Strahlentherapie* 133, 132 (1967).
8. J. Stefanovič, Š. Kišon and O. Absolonova: *Folia Mikrobiol.* 13, 424 (1968).
9. M. Kopitar, V. Cotič, V. Turk and D. Lebez: *Strahlentherapie* 135, 714 (1968).
10. M. Kopitar, V. Cotič, V. Turk and D. Lebez: *ibid.* 136, 496 (1968).
11. M. Kopitar, V. Cotič, V. Turk and D. Lebez: *ibid.* 136, 621 (1968).
12. C. C. Congdon: *Progr. Haematol.* 2, 21 (1959).
13. A. M. Papas, V. P. Perry, T. E. Wheeler and G. W. Hyatt: *Milit. Med.* 126, 347 (1961).
14. V. P. Perry, T. I. Malinin, C. C. Kerby and M. F. Dolan: *Cryobiol.* 1, 233 (1965).
15. J. W. Goodman and G. S. Hodgson: *Blood* 19, 703 (1962).
16. T. M. Fliedner, E. Herbst, M. J. Phile, W. Calvo and K. P. Schnappauf: *Abstr. 8th Ann. Meeting Europ. Soc. Radiat. Biol.* p. 44, 1971. Baško polje, Yugoslavia.
17. L. C. Ford, D. M. Donaldson, A. L. Allen: *Soc. Exp. Biol. Med.* 127, 286 (1968).
18. W. A. Skoog, W. S. Beck: *Blood* 11, 436 (1956).
19. C. Dumazert, Y. Marcelet: *Bull. Soc. Chim. Biol.* 20, 212 (1938).
20. N. Allegretti, I. Andreis and M. Kopitar; D. Lebez: *Nature New Biol.* 229, 180 (1971).

Author's address: Dr. M. Kopitar, Jožef Stefan Institute, Jamova cesta, 61000 Ljubljana, Yugoslavia.

DEPARTMENT OF IMMUNOLOGY, ST. MARY'S HOSPITAL
MEDICAL SCHOOL, LONDON

TREATMENT OF LETHALLY IRRADIATED MICE WITH BONE MARROW CELLS FROM PREIRRADIATED DONORS

V. S. Šljivić

UDK: 618.146-006.6-085.849.1

Introduction

Many attempts have been concentrated on the problem of suppressing the secondary disease in lethally irradiated animals treated with foreign haematopoietic cells. One possible approach is the suppression of the immunological activity of donor cells by irradiation. Cudkowicz (9) reported that preirradiation of donor mice with a single sublethal dose decreased the incidence of secondary disease among allogeneic recipients of their bone marrow. The same author reported later (10) that a similar effect could be obtained by *in vitro* irradiation of allogeneic bone marrow and spleen cells. Cole and Davis (7) found that late mortality was much reduced in lethally irradiated mice injected with bone marrow cells from allogeneic donors which had been exposed to a single sublethal dose of radiation 12 to 16 days earlier. In a somewhat different system Argyris (3) found that preirradiation of spleen cell donors can reduce the incidence of runt disease without reducing substantially the capacity of these cells to induce tolerance. Other authors were unable to confirm the beneficial effect of the preirradiation of bone marrow donors (1, 13).

It is well known that continuous irradiation at a sufficiently high dose-rate causes a marked depression of antibody formation. This was reported by Stoner and Hale (23, 24) for antitoxin formation in mice and by Draper (11, 12) for haemolysin formation in rabbits. Similarly, daily irradiation with 50 R produced a marked depression of the haemolysin-forming capacity in rats (20).

On the other hand, some data indicate that the haematopoietic activity is not severely affected in animals irradiated for a long time with similar doses. Lamerton et al. (16, 17) reported that the peripheral blood counts are maintained for a long time at nearly normal levels in rats exposed

continuously to 50 rad/day. More damage was caused, however, by 50 rad given daily as divided doses: after three weeks the level of polymorphonuclear leucocytes in the blood was normal, but the mononuclear cell count was substantially reduced (19).

On the basis of the above information it seemed worth investigating whether daily irradiation of prospective donor animals would reduce the activity of immunologically competent cells in the bone marrow without substantially affecting the haematopoietic activity and whether such treatment would result in a better late survival of lethally irradiated recipients.

Materials and methods

Animals. — Male CBA/H mice, aged 4—4½ months were used as recipients. Female albino rats and male C57BL mice aged 3 and 3½ months respectively at the beginning of the experiment were used as bone marrow donors.

Design of the experiments. — Each of the four groups of lethally irradiated CBA mice was reconstituted with bone marrow cells from one of the following sources: a) unirradiated rats, b) irradiated rats, c) unirradiated, and d) irradiated C57BL mice. Recipient mice were observed for mortality and changes in body weight, and after death the relevant tissues were examined histologically. Each of the four groups of prospective donor animals was divided into three subgroups at the end of the period of daily irradiations: one subgroup was used as bone marrow donors, while the other two were used to assess the state of their humoral (response to rabbit erythrocytes — RBC) and cellular (rejection of CBA skin grafts) immunity.

Radiation Procedure. — A Siemens radiotherapy-type X-ray machine was used as a source of radiation and was operated at 250 kV, 14 mA, with 0.25 mm Cu filter, h. v. l. 1.2 mm Cu, target distance 60 cm and a dose-rate of about 72.5 rad/min. Mice were irradiated from below to the whole body, five at a time in their living aluminium cages. Rats were irradiated two at a time in similar cages and under same conditions.

Recipient mice were irradiated with a single 1000 rad dose. Prospective bone marrow donors were irradiated in 24 exposures with a total dose of 1200 rad (50 rad per exposure). The exposure schedule was as follows: Monday to Thursday 50 rad daily, Friday two exposures of 50 rad each (in the morning and in the evening), Saturday and Sunday no exposures. The irradiation was started on a Thursday and was finished on a Wednesday, the overall irradiation period being 28 days.

Bone marrow injection. — Bone marrow cell suspensions from irradiated rats and C57BL mice were prepared in Tyrode solution 24 hours after the last exposure and were injected intravenously into two groups of lethally irradiated CBA mice within 4 hours of their exposure. Another two groups of recipients were injected with bone marrow cells from corresponding unirradiated donors. The number of nucleated cells injected per mouse was 10×10^6 .

Skin grafting. — Both normal and irradiated rats and C57BL mice (5 animals in each of the 4 groups) were grafted with CBA skin using pinch fitted grafts (6). Irradiated animals were grafted two days after the last exposure to 50 rad. Dressings were removed 12 days later and grafts examined.

Serology. — Irradiated rats were immunized with an intravenous injection of 1 ml of 1% RBC suspension two days after the last exposure. Serum samples were obtained by cardiac puncture under ether anaesthesia on days 3, 6, 11, and 19. Irradiated C57BL mice were immunized with an intraperitoneal injection of 1 ml of 1% RBC suspension two days after the last exposure and were bled six days later. Control unirradiated rats and mice were immunized and bled in the same way.

Sera were kept at -20°C until titration. They were inactivated for 30 min at 56°C and serial twofold dilutions of sera were made in saline containing 0.3% bovine serum albumin, starting from the initial $1/2$ dilution. To each test tube containing 0.2 ml of serum dilution one drop of 1% RBC suspension was added. The tubes were left overnight at room temperature and the pattern of haemagglutination on the bottom of the tubes was determined (22). The highest serum dilution giving positive haemagglutination was used as the end-point and the titres were expressed as $\log_2$ of the reciprocal of the dilution. The negative reaction in the first tube was recorded as titre 1.

Grafted mice, both normal and preirradiated, were bled 19 days after grafting and their sera tested for isohaemagglutinins using the dextran-human serum technique of Gorer and Mikulska (14). Serial twofold dilutions (in 2% Dextran in physiological saline) were made from an initial $1/2$ dilution. To each tube containing 2 drops of serum dilution one drop of 2% suspension of CBA-strain erythrocytes in human serum-saline (1:1) was added. The test tubes were incubated for $1\frac{1}{2}$ hour at 37°C and agglutination was read macroscopically and microscopically. The titre was defined as the $\log_2$ reciprocal titre.

Results

Observations on donor animals irradiated with 24×50 rad. — During and after the period of repeated irradiations observations were made concerning the pathological and functional status of rats and mice used as bone marrow donors.

1. **General.** — Rats and mice were weighed twice a week during the irradiation period. The average body weights changed little during that period (Fig. 1). In mice the body weight decreased very slightly, while in rats it generally increased. The fluctuation of the average body weight was more marked in rats and was dependent on the irradiation schedule, declining during the five-day periods of irradiation and increasing during the weekends.

Results of the white blood cell counts in bone marrow donors are given in Table 1. The figures indicate that the dose of 1200 rad distributed

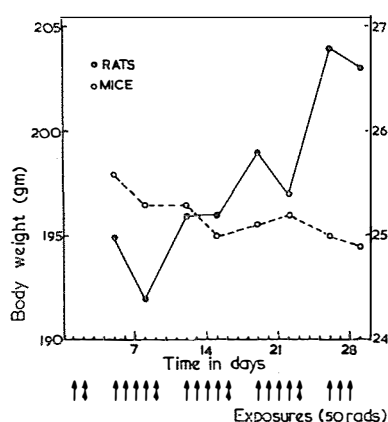


Fig. 1. — Changes of average body weights of rats (12 animals) and C57BL mice (20 animals) during repeated exposures to 50 rad of X-rays

over a period of 28 days produced a profound decrease in the number of white cells in the peripheral blood.

Histological examination of various tissues of repeatedly irradiated donor animals revealed major changes in lymphoid tissues and the bone marrow. In rats the thymus, Peyer's patches, subcutaneous and mesenteric lymph nodes contained few lymphocytes. In the spleen the lymphoid follicles were much reduced in size and contained only small numbers of lymphocytes. The sinuses were dilated and much haemosiderin was seen in the red pulp. There were no visible signs of extramedullary haematopoiesis. The sternal marrow was depleted and congested. Although no attempts were made to do the differential counts, it was noticed that the relative number of granulopoietic elements versus erythropoietic ones was smaller in irradiated rats than in controls.

Changes in the lymph nodes and thymus of irradiated C57BL mice were similar to those in rats. The spleen was congested with few small lymphoid follicles containing small numbers of lymphocytes. Foci of active haematopoiesis were numerous. Sternal marrow was partially depleted and congested.

Table 1. — White blood cell count/mm³ in donor animals.*

Unirradiated donors		Irradiated (24 × 50 rad) donors	
Rats	Mice	Rats	Mice
14,000	27,400	1,860	2,660
13,600	21,400	5,000	3,000
	21,000	3,260	2,460
	17,800	3,660	2,400
Means:			
13,800	21,900	3,445	2,630

* Counts made on tail blood 24 hours after the last exposure to 50 rad.

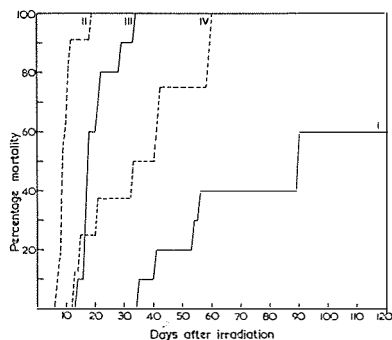


Fig. 2. — Cumulative mortality of CBA mice lethally irradiated and injected i. v. with bone marrow cells from: I normal rats, II preirradiated rats, III normal C57BL mice, and IV preirradiated C57BL mice. The number of mice in each group is given in Fig. 3

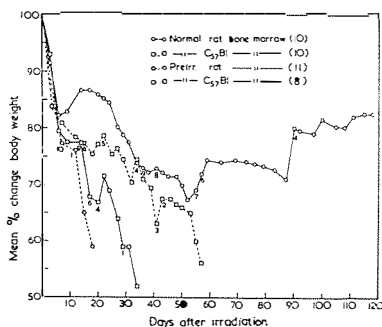


Fig. 3. — Changes in body weights among CBA mice lethally irradiated and injected i. v. with bone marrow cells from normal or preirradiated rats and C57BL mice. Numbers in parenthesis refer to numbers of CBA mice in each group while numbers below points indicate the number of survivors

2. Immunological responsiveness. — The haemagglutinin response to RBC in both rats and mice exposed repeatedly to 50 rad of X-rays was found to be markedly depressed (Table 2). In both irradiated rats and mice grafted with CBA-strain skin the shedding-times were not different from those in corresponding controls. Titration of isohaemagglutinins did not reveal any significant difference between irradiated and unirradiated C57BL mice. The mean $\log_2$ titre of five animals was 6.4 for the former and 6.0 for the latter.

Observations on recipient animals. — Cumulative mortality of lethally irradiated CBA mice injected with bone marrow cells from normal or preirradiated rats or C57BL mice is shown in Fig. 2, and changes in their body weights in Fig. 3. Mice injected with normal rat bone marrow cells

Table 2. — Effect of repeated X-irradiation (24×50 rad) on haemagglutinin formation in donor animals.*

Animals	Treatment	Days after immunization			
		3	6	11	19
Rats	Irradiated	1.0 ± 0.0	1.0 ± 0.0	1.25 ± 0.25	1.25 ± 0.25
	Control	4.40 ± 0.25	9.75 ± 0.78	5.33 ± 0.33	4.00 ± 0.58
Mice	Irradiated	—	4.00 ± 0.75	—	—
	Control	—	7.60 ± 0.25	—	—

* All values are means $\pm$ standard errors of haemagglutinin $\log_2$ titres for five animals. All differences between values for irradiated and control animals are statistically highly significant ($P < 0.01$).

were completely protected from acute radiation death and their body weight increased in the second week after treatment. In the third week they started to lose in weight and first deaths occurred during the fifth week postirradiation. Between 30 and 90 days 60 % of these animals died and the others survived more than 160 days. When the same number of bone marrow cells from rats which had been irradiated with 24×50 rad was injected into lethally irradiated mice they all died within 19 days.

Lethally irradiated CBA mice injected with bone marrow cells from unirradiated C57BL mice all died within 34 days postirradiation. When bone marrow cells from preirradiated C57BL donors had been used lethally irradiated recipients died at a slower rate. Less than 40 % died before the 30th day and all other died before the 60th day (Fig. 2).

Post mortem histological examination of the sternal bone marrow, spleen and mesenteric lymph nodes from recipient CBA mice treated with bone marrow cells from preirradiated rats showed severe aplasia of both haematopoietic and lymphoid tissues. On the other hand in recipients of bone marrow cells from preirradiated C57BL mice, as well as from unirradiated rats and C57BL mice, active haematopoiesis was found in the bone marrow and the spleen. Lymphoid aplasia in the spleen and mesenteric lymph nodes was accompanied by a large number of plasma cells in the latter.

Discussion

The tests performed on preirradiated donor animals have shown some substantial changes in their pathological and functional status at the time when their haematopoietic cells were injected into lethally irradiated recipients. With repeated exposures to 50 rad their bone marrow became depleted which was also reflected by the drop in nucleated cell counts in the peripheral blood. The lymphoid tissue was severely damaged and appeared to be more so in rats than in C57BL mice. This lymphoid tissue damage is the most likely reason for the poor haemagglutinin response in animals challenged with rabbit erythrocytes. The suppression of haemagglutinin formation in rats in the present experiment is very comparable to the suppression of haemolysin formation in similarly irradiated rats (20). The difference in radiosensitivity of haemagglutinin formation between rats and mice could be due to species difference or route of antigen injection. The better antibody response in mice could also be the result of smaller damage to the lymphoid tissues seen in these animals.

The irradiation schedule in the present experiments, which significantly inhibited humoral antibody responses, did not seem to interfere with transplantation immunity. No difference in the shedding times of skin grafts was observed between repeatedly irradiated and control animals. Even if such a slight difference had existed between the two groups it would have been difficult to notice it because the dressings were removed only 12 days after grafting. The fact that titres of isohaemagglutinins in grafted C57BL mice were not lower in irradiated than in unirradiated animals supports the idea that the rejection of skin grafts was but slightly if at all prolonged, since it has been demonstrated (18) that the formation of

circulating isohaemagglutinins is more easily suppressed by radiation than the reaction of graft rejection. The question arises why in irradiated mice there was a clear cut suppression of haemagglutinin formation following the injection of rabbit erythrocytes, while the formation of isohaemagglutinins following skin-grafting was not diminished. The most likely explanation is that the grafted skin, as a source of antigen, started to stimulate the immune mechanism of recipients later and lasted for a longer time than injected erythrocytes, thus allowing the immune mechanism to recover from the damage produced by irradiation. The above data indicate that the immunological competence of irradiated donor animals was partially suppressed.

The survival of lethally irradiated CBA mice was very dependent upon whether bone marrow from irradiated or from normal C57BL mice or rats was used. When bone marrow from normal rats had been injected CBA mice were completely protected from the acute radiation death but a large percentage died thereafter of secondary disease. When, however, CBA mice had been injected with the same number of bone marrow cells from preirradiated rats they all died within 20 days. This indicates that the injected cells had no capacity to restore even temporarily the lethally irradiated recipients. The inefficiency of bone marrow cells from irradiated rats can be most readily attributed to the radiation damage of restorative haematopoietic stem-cells. These cells had presumably accumulated enough radiation damage to prevent them from functioning and/or multiplying in a normal way.

Lethally irradiated CBA mice which, in the present experiments, had been injected with bone marrow cells from normal C57BL donors all died during the third, fourth and fifth week postirradiation. Since there is a strong H-2 histocompatibility difference between these two strains of mice one might suppose that the mortality of recipients was due to an early graft-versus-host reaction. This is supported by the histological examination of these animals which showed good repopulation of their bone marrow. A similar graft-versus-host activity which resulted in an early secondary syndrome and mortality has been observed by a number of authors. Lethally irradiated primates treated with allogeneic bone marrow succumb to the secondary disease usually within the first month (8, 25). Amiel et al. (2) found that the early mortality of lethally irradiated mice increased with the dose of allogeneic bone marrow cells. A similar observation was made by Barnes (4) who found that the 30-day mortality of CBA mice increased as the number of injected C57BL bone marrow cells had been increased from 10^6 to 10^7 and to 10^8 . Having all that in mind, the decreased rate of death of recipients of bone marrow from preirradiated C57BL mice can be interpreted as a result of a lowered number of functionally capable immunologically competent cells.

The finding that recipients of bone marrow cells from preirradiated C57BL mice survived much longer than recipients of cells from preirradiated rats can be best explained by the well established fact that the minimal number of xenogeneic cells which can restore lethally irradiated mice is several times greater than the corresponding minimal number of allogeneic cells (5). Preirradiation of rats in the present experiments must have reduc-

ed the number of haematopoietic stem-cells below the minimum required for restoration of recipients. The same number of bone marrow cells from preirradiated C57BL mice was however sufficient to afford a much greater protection during the acute postirradiation period, although the number of functionally intact stem-cells was presumably equally reduced.

The onset and severity of the secondary disease in mice treated with bone marrow from unirradiated C57BL mice differed markedly from those in mice treated with the same number of bone marrow cells from unirradiated rats. This finding is compatible with Jerne's concept of allo-aggression (15) which is based on a number of observations showing that the capacity to respond to histocompatibility allo-antigens is greater than to xeno-antigens.

In conclusion, the results of the present experiments support neither the idea of greater radiosensitivity of immunologically competent cells as opposed to haematopoietic stem-cells, nor the possibility of their selective inactivation and/or elimination in the bone marrow by preirradiation of donor animals. Although no allowance is being made for a possible differential effect of fractionated irradiation with respect to the renewal capacity of the two cell lines, this conclusion is supported by the similar radiosensitivity of haematopoietic stem-cells and immunologically competent cells after single exposures (21).

Summary

Rats and C57BL mice were irradiated six times a week with 50 rad up to the total dose of 1200 rad. At the end of the irradiation period they were either tested for their immunological capacity or used as bone marrow donors to restore lethally irradiated CBA mice.

While the haemagglutinin formation to rabbit erythrocytes in both rats and mice was significantly suppressed, the shedding-times for grafted CBA skin were not affected. Isohaemagglutinin formation in irradiated C57BL mice grafted with CBA skin was not suppressed either.

The survival of lethally irradiated CBA mice injected with bone marrow cells from preirradiated rats or C57BL mice does not support the concept of selective inactivation and/or elimination of immunologically competent cells in the bone marrow by preirradiation of donor animals in order to reduce the severity of secondary disease.

Rezime

Pacovi i C57BL miševi ozračivani su šest puta nedeljno sa 50 rad do ukupne doze od 1200 rad. Nakon završenog ozračivanja ispitana je imunološka sposobnost ovih životinja, a istovremeno su slično ozračene životinje upotrebljene kao davaoci koštane srži za zaštitu letalno ozračenih CBA miševa.

I pored toga što je stvaranje hemaglutinina protiv eritrocita kunića bilo znatno umanjeno kako u miševa tako i u pacova, vreme potrebno za odbacivanje kalema kože CBA soja nije bilo produženo. Stvaranje isohemaglutinina nije bilo smanjeno u ozračenih C57BL miševa kojima je stavljen kalem kože CBA soja.

Preživljavanje letalno ozračenih CBA miševa kojima su ubrizgane ćelije koštane srži od predhodno ozračenih pacova i C57BL miševa nije potvrdilo ranije tvrdnje da se ozračivanjem davalaca može da postigne selektivno eliminisanje ili inaktivisanje imunološki reaktivnih ćelija u koštanoj srži u cilju smanjivanja učestanosti sekundarne bolesti.

References

1. Amiel, J.-L., Seman, G., Matsukura, M., et Mathé, G.: Essais de prévention du syndrome secondaire des radio-chimères hematopoiétiques par l'irradiation des donneurs incompatibles, *Rev. Franc. Etud. Clin. Biol.*, **7**: 974—977, 1962.
2. Amiel, J.-L., Tenenbaum, R. Méry, A. M., Matsukura, M., et Mathé, G.: Protection des animaux irradiés par la moelle osseuse allogénique selon le nombre des cellules, *Rev. Franc. Etud. Clin. Biol.*, **7**: 970—973, 1962.
3. Argyris, B. F.: Elimination of runt disease and induction of acquired tolerance by X-irradiated spleen cells, *Transplantation Bull.*, **29**: 10—12, 1962.
4. Barnes, D. W. H., Personal Communication.
5. Bekkum, D. W. van and Vries, M. J., de: *Radiation chimaeras*, Logos Press and Academic Press, London 1967.
6. Billingham, R. E.: Free skin grafting in mammals. In: *Transplantation of tissues and cells*, Ed., by R. E. Billingham and W. K. Silvers, The Wistar Institute Press, Philadelphia, 1961, pp 1—29.
7. Cole, L. J. and Davis, W. E. Jr: Early development of specific graft-to-host tolerance in lymphoid and marrow radiation chimaeras, *Transplantation Bull.*, **29**: 79—83, 1962.
8. Crouch, B. G., Putten, L. M. van, Bekkum, D. W. van, and Vries, M. J. de: Treatment of total-body X-irradiated monkeys with autologous and homologous bone marrow, *J. Nat. Cancer Inst.*, **27**: 50—65 1961.
9. Cudkowicz, G.: Supression of the foreign bone marrow reaction by pre-irradiation of donor mice, *Proc Soc. Exp. Biol. Med.* **107**: 821—824, 1961.
10. Cudkowicz, G.: Suppression of the foreign marrow reaction in mouse chimaeras by preirradiation of donor cells, Reported by D. W. H. Barnes In: *Radiation effects in physics, chemistry, and biology*, Proc 2nd Internat. Congress Radiation Research, Harrogate, 1962: Ed: by M. Ebert and A. Howard, North-Holland Publ. Co., Amsterdam, 1963, pp 352—371.
11. Draper, L. R.: The hemolysin response in rabbits immunized during low-level cobalt-60 gamma irradiation, *J. Infect. Dis.*, **107**: 34—42, 1960.
12. Draper, L. R.: The effects of prolonged irradiation on the immune response, In: *The effects of Ionizing Radiations on Immune Processes*, Ed. by C. A. Leone, Gordon and Breach Science Publ., New York, 1962, pp. 221—224.
13. Goodman, J. W., and Bender, M. A.: Irradiation of donor bone marrow: effects on survival and on chromosomal aberrations in the marrow of recipient mice, *Transplantation*, **2**: 334—342, 1964.
14. Gorer, P. A., and Mikulska, Z. B.: The antibody response to tumor inoculation. Improved methods of antibody detection, *Cancer Res.*, **14**: 651—655, 1954.
15. Jerne, N. K.: The somatic generation of immune recognition, *Eur. J. Immunol.*, **1**: 1—9, 1971.
16. Lamerton, L. F., Pontifex, A. H., Blackett, N. M., and Adams, K.: Effects of protracted irradiation on the blood-forming organs of the rat. Part 1: continuous exposure. *Brit. J. Radiol.*, **33**: 287—301, 1960.
17. Lamerton, L. F.: The response of blood-forming tissues of the rat to continuous irradiation at various dose rates, In: *Some Aspects of Internal Irradiation*, Ed. by T. F. Dougherty, W. S. S. Jee, C. W. Mays and B. J. Stover, Pergamon Press, Oxford, 1962, pp. 269—287.
18. Micklem, H. S., and Brown, J. A. H.: Rejection of skin grafts and production of specific iso-haemagglutinins by normal and X-irradiated mice, *Immunology*, **4**: 318—328, 1961.
19. Pontifex, A. H. and Lamerton, L. F.: Effects of protracted irradiation on the blood-forming organs of the rat. Part 11: divided dosed. *Brit. J. Radiol.* **33**: 736—747, 1960.
20. Šljivić, V. S.: Uticaj nekih biofizičkih faktora na stvaranje antitela kod ozračenih životinja, *Disertacija*, Beograd, 1963.

21. Smith, L. H., and Vos, O.: Radiation sensitivity of mouse lymph node cells relative to their proliferative capacity in vivo. *Radiat. Res.* 19: 485—491, 1963.
22. Stavitsky, A. B.: Micromethods for the study of proteins and antibodies. I. Procedure and general applications of hemagglutinations and hemagglutination-inhibition reactions with tannic acid and protein-treated red blood cells, *J. Immunol.*, 72: 360—367, 1954.
23. Stoner, R. D., and Hale, W. M.: The depressant effect of continuous cobalt-60 radiation on the secondary tetanus antitoxin response in mice, *Radiat. Res.*, 8: 438—448, 1958.
24. Stoner, R. D., and Hale, W. M.: Radiation effects on primary and secondary antibody responses, In: *The Effects of Ionizing Radiations on Immune Processes*, Ed. by C. A. Leone, Gordon and Breach Science Publ., New York, 1962, pp. 183—219.
25. Vries, M. J. de, Crouch, B. G., Putten, L. M. van, and Bekkum, D. W. van: Pathologic changes in irradiated monkeys treated with bone marrow, *J. Nat. Cancer Inst.*, 27: 67—97, 1961.

Author's address: Vojin S. Šljivić, M. D., Ph. D., Department of Immunology, St. Mary's Hospital Medical School, Paddington, London W. 2., England.

O NEKATERIH FAKTORJIH, KI VPLIVAJO NA POVEČANJE PEPSINOGENA V ŽELODČNI SLUZNICI BELE PODGANE

Klemenc-Šebek S.,¹ P. Schauer²

UDK: 618.15-089.844:611.819.5

V naših prejšnjih poskusih na obsevanih podganah z dozo 750 r, smo ugotovili znatno povečanje množine pepsinogena v želodčni sluznici.

Povečanje nastopa v vseh časih opazovanja, tj. od 1. do 72. ure po obsevanju. Povečanje je najvišje po 24. urah (1).

Pepsinogen v želodčni sluznici so določali razni avtorji pri normalnih (2—5), hipofizektomiranih (6—7), adenalektomiranih živalih (2, 7, 8) ter živalih z insuficienco suprarenalk (9, 10).

Pomembno vlogo pri vzdrževanju strukturne in funkcionalne integritete želodčne sluznice igrata hipofiza (6, 7) in korteks suprarenalk (2, 6, 7, 9). Adrenalna insuficienca ima pri belih podganah za posledico involucijo glavnih celic želodčne sluznice (6, 8, 10), še močneje pa je ta vpliv izražen pri adenalektomiranih živalih (7). Glavna vloga adrenalnega korteksa pri sintezi pepsinogena v glavnih celicah je trofična (11, 12), po drugih avtorjih pa je stimulatívna (13).

Prav tako pa vpliva na sintezo pepsinogena v želodčni sluznici vagus.

Želeli smo ugotoviti vpliv sevanja na želodčno sluznico v primerih, ko so vagus in humoralni faktorji izključeni. V ta namen smo obsevali ekstirpiran želodec in pa homogenate želodčne sluznice. Ugotovili smo, da obsevanje pod temi pogoji nima nikakega vpliva na množino pepsinogena v sluznici. Zato smo v naslednjih poskusih študirali vpliv vagusa in humoralnih faktorjev.

Material in metode

Za poskuse smo uporabili samce podgan Wistar rase, težke do 250 g. Živali smo obsevali totalno s 750 r (13,3 r/min) iz kobaltovega izvora (Co⁶⁰, 300 C, bazenski tip).

¹ Onkološki inštitut, Ljubljana.

² Inštitut za mikrobiologijo Medicinske fakultete, Ljubljana.

Priprava homogenata želodčne sluznice. Sluznico smo postrgali ter homogenizirali v 2 ml destilirane vode s teflonskim homogenizerjem. Homogenat smo zatem štirikrat zapored zmrzovali v tekočem dušiku in talili.

Vagotomija želodca. Po anesteziji z evipan-natrijem (140 mg/kg telesne teže) smo naredili na trebušni steni kratek rez in na ezofagusu prepirirali in zatem prerezali vagus. Deset dni po tem posegu smo žival uporabili za poskus.

Parabioza. Anestezirani živali smo odprli trebušno steno in preparirali del aorte nad mestom, kjer se odceplja arterija femoralis. Na enak način smo pripravili obsevane žival. Nato smo pri prvi živali kanulirali proksimalni del aorte ter ga takoj zvezali z distalnim delom aorte druge živali. Neposredno zatem smo ponovili isto še na drugi živali. Cevi za povezavo so bile gumijaste s kanilama na obeh koncih. V ceveh se je nahajal 0,1 % heparin v fiziološki raztopini po Krebs-Henseleitu (14). Živali smo pustili v parabiozi dve uri. V teku poskusa smo jih segrevali z infrardečo žarnico in jih navlaževali s fiziološko raztopino.

V homogenatu sluznice vagotomiranih živali in živali v parabiozi smo določali pepsinsko aktivnost po Ansonovi metodi (15) ter dušik po mikro-Kjeldahl metodi (16).

Rezultati in diskusija

Poskusi z vagotomijo so pokazali, da imajo vagotomirane neobsevane živali manjšo količino pepsinogena v želodčni sluznici kakor nevagotomirane neobsevane živali. Iz tabel I in II se vidi, da vagotomija zmanjša vpliv sevanja na želodčno sluznico, vendar ga ne prepreči. Potek naraščanja pepsinske aktivnosti po obsevanju je enak kot pri nevagotomiranih živalih, z razliko, da je v prvi uri celotna aktivnost v mejah normal. Iz teh poskusov vidimo, da vagus igra neko vlogo pri povišanju množine pepsinogena po obsevanju (slika 1).

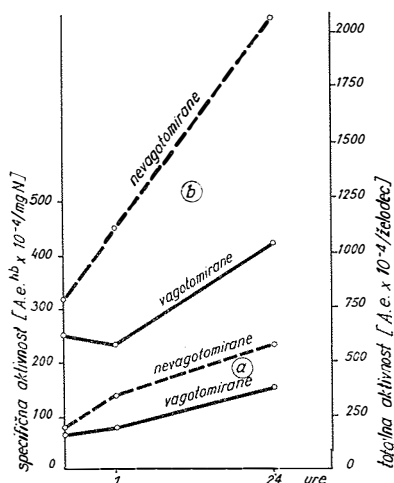
Tabela I. — Specifična in totalna aktivnost pepsina pri vagotomiranih podganah po totalnem obsevanju s 750 r (povprečne vrednosti 8 poskusov)

Čas po obsevanju	Spec. aktivnost (A.E.x10 ⁻⁴ /mg N)	% odstop. od normal	Total. aktivnost (A.E.x10 ⁻⁴ /žel)	% odstop. od normal
Normale	69	—	461	—
1 ura	76	+10	589	—8
24 ur	148	+114	1034	+61

Tabela II. — Dušik in teža želodčne sluznice vagotomiranih živali po totalnem obsevanju s 750 r (povprečna vrednost 8 poskusov)

Čas po obsevanju	Mikrogr. N/ml homogenata	% odstop. od normal	Teža sluznice (g)	% odstop. od normal
Normale	3873	—	0,316	—
1 ura	3362	—14	0,266	—16
24 ur	3061	—21	0,246	—21

Sliak 1. — Vpliv vagotomije na pepsinogen v želodčni sluznici po totalnem obsevanju s 750 r, primerjava s nevagotomiranimi živalmi. — a) specifična aktivnost, b) celotna aktivnost



Poskusi, pri katerih smo napravili parabiozo med obsevano in neobsevano živaljo kažejo, da se nahajajo v krvi nekateri faktorji, ki povzročajo v neobsevani živali porast pepsinogena v želodčni sluznici.

Tabela III. — Vpliv humoralnih faktorjev iz totalno obsevanih živali (750 r) na količino pepsinogena v neobsevanih živalih, ki so bile v parabiozi z obsevanimi. (Ansonove enote $\times 10^{-4}$, poprečne vrednosti 6 poskusov)

Čas po obsev.	Neobsevane živali				Obsevane živali			
	Spec. akt.	% od-stop.	Total. akt.	% od-stop.	Spec. akt.	% od-stop.	Total. akt.	% od-stop.
Normala	86	—	685	—	—	—	—	—
1 ura	64	—26	579	—15	107	+24	749	+9
24 ur	102	+19	866	+27	181	+110	1534	+124

Tabela IV. — Teža in množina dušika v želodčni sluznici živali v parabiozi (poprečje 6 poskusov)

čas po obsev.	Neobsevane živali				Obsevane živali			
	homogenata mikrogr. N/ml	% od-stop.	teža sluz. g.	% od-stop.	mikrogr. N/ml homogenata	% od-stop.	teža sluz. g.	% od-stop.
Normale	3360	—	0,269	—	—	—	—	—
1 ura	3580	+7	0,349	+29	3033	—10	0,306	+3
24 ur	4099	+22	0,345	+30	3556	+6	0,307	+4

V prvi uri nismo mogli opaziti nikakega vpliva na neobsevano žival v parabiozi. (Tabeli III in IV). Zato domnevamo, da mora doseči njihova koncentracija v neobsevani živali neko določeno stopnjo, da lahko učinkujejo. V prvi uri po obsevanju je njihova koncentracija tako nizka, da nismo mogli ugotoviti v tem času nobenega vpliva na pepsinogen v sluznici. Pač pa je ta učinek dobro viden v 24. uri po obsevanju, kjer smo v relativno kratkem času (2 uri parabioze) opazili močno povišanje speci-

fične in totalne aktivnosti, čeprav se njihova koncentracija zaradi parabioze zmanjša na polovico.

Za kontrolo smo predhodno opravili poskuse, kjer smo določali pepsinogen v sluznici obsevanih ekstirpiranih želodcev. S tem smo izključili indirektne vplive in ugotovili, da se količina pepsinogena znatno ne spremeni.

Rezultati naših raziskav so pokazali, da imajo pri povišanju količine pepsinogena v želodčni sluznici obsevane podgane določeno vlogo humoralni faktorji, ki se po obsevanju sprostijo v krvni obtok, prav tako pa tudi parasimpatični del avtonomnega živčevja (vagus).

Povzetek

V prejšnjih poskusih smo ugotovili, da se po obsevanju s 750 r poveča sekrecija pepsinogena in njegova količina v želodčni sluznici belih podgan.

V tukaj obravnavanih poskusih pa smo ugotovili, da imata pomembno vlogo pri spremembah količine pepsinogena v želodčni sluznici parasimpatični živčni sistem in neki humoralni faktorji.

Summary

In earlier experiments we established increased secretion and the amount of the pepsinogen in the gastric mucosa after whole-body irradiation of white rats with 750 r.

In following observations we ascertained the important role of the parasympathetic nervous system (vagus) and some humoral factors in the changes of the amount of pepsinogen in gastric mucosa.

Literatura

1. Schauer, P., S. Šebek: Biol. Vestn., 14, 17—20, 1966.
2. Bowie, D. J.: Anat. Rev. 78, 9, 1940.
3. Gitlitz, A., G. R. Cowgill: Am. J. Dig. Dis. Nutr., 3, 756, 1936.
4. Hirschowitz, B. J., W. G. Underhill: Am. J. Physiol., 196, 837, 1959.
5. Hirschowitz, B. J., D. K. O'Leary, I. U. Marks: Am. J. Physiol., 27, 462, 1960.
6. Baker, B. L., G. D. Abrams: Am. J. Physiol., 177, 409, 1959.
7. Hirschowitz, B. J., D. H. C. Streeten, H. M. Pollard: Endocrinol., 59, 418, 1956.
8. Baker, B. L., R. M. Bridgman: Am. J. Anat., 94, 363, 1954.
9. Abrams, G. D., B. L. Baker: Gastroenterol., 27, 462, 1960.
10. Bowie, D. J., A. M. Vineberg jr., J. Quater: J. Exper. Physiol., 25, 247, 1935.
11. Hirschowitz, B. J., H. S. Wiggins, J. A. London, H. M. Pollard: J. clin. Invest., 35, 711, 1956.
12. Tuerkischer, E., E. J. Wertheimer: Endocrinol., 4, 143, 1945.
13. Villard, R., W. F. Goning, S. J. Gray: Am. J. Physiol., 183, 485, 1955.
14. Krebs, H. A., K. Henseleit: Hoppe-Seyler's Zeitschr. Physiol. Chem., 210, 33, 1932.
15. Anson, M. L.: J. Gen. Physiol., 22, 79, 1934.
16. Dumazert, C., Y. Marcelet: Bull. Soc. Chim. Biol., 20, 212, 1938.

Naslov avtorja: Mgr. ing. S. Šebek, Onkološki inštitut, Vrazov trg 4, 61000 Ljubljana.

**EKSPERIMENTALNA I KLINIČKA STUDIJA SA LIOFILIZIRANOM
DUROM KAO PRODUŽETAK SUPTOTALNO RESECIRANE VAGINE
NAKON WERTHEIMOVIH OPERACIJA — Preliminarno saopćenje**

Havliček, S.,¹ V. Simčič,² S. Plesničar,³ I. Lenart,⁴ L. Kos⁵

UDK: 612.323.2.084

Kod proširenih Wertheimovih operacija zbog raka na grliću materice sa izvesnim raširenjem prema forniksima vagine treba da se u izvesnim prilikama operativno odstrani i do dve trećine vagine. Mladim ženama kojima mnogo znači normalan seksualni život, a od kojega zavisi i njihova bračna harmonija i bračno postojanje, vagina se zamenila sa reseciranim debelim ili tankim crevom. Produživanje vagine sa vlastitim cevastim organima daje ortotopno zadovoljavajuće rezultate sa većom ili manjom stenozom u vagini na mestu šivenja dvaju različitih organa. Nedostatak kod takvih operacija je **produživanje** operativnog zahvata i **riziko postoperativne dehiscencije**.

Zadatak naše eksperimentalne studije je bio da na eksperimentalnim životinjama isečemo prednju vaginalnu stenku i da je zamenimo sa komadićem liofilizirane čovečje dure mater.*

Eksperimentalne radove obavili smo kod dve grupe eksperimentalnih životinja (nemački pas ovčar):

grupa I (3 psa — supstitucija vagine sa LČDM bez zračenja),

grupa II (5 pasa sa supstitucijom LČDM i postoperativnim zračenjem).

Težina eksperimentalnih životinja kretala se između 8 i 28 kg, a prosečna starost bila je 3 godine. Sve životinje su bile operisane posle pripreme i uvođenja i. v. narkotika Kemithal u endotrahealnoj narkozi.

¹ Dr. Stojan Havliček, Onkološki inštitut, Ljubljana.

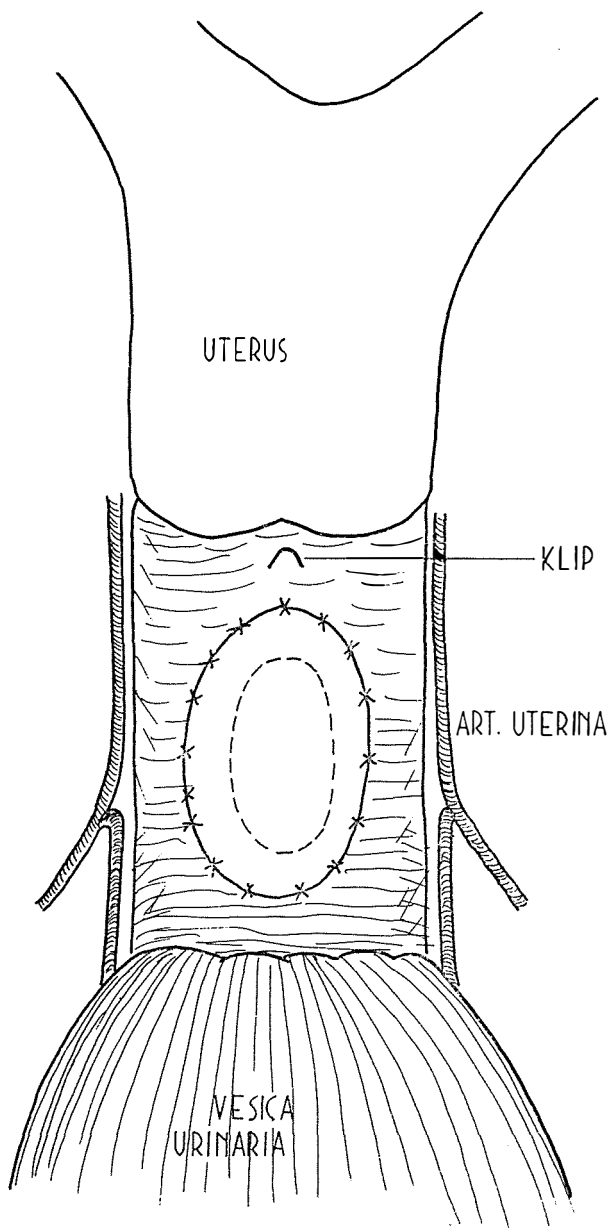
² Doc. dr. sc. vet. Vekoslav Simčič, Veterinarska bolnišnica, Ljubljana.

³ Prof. dr. sc. dr. med. Stojan Plesničar, Onkološki inštitut, Ljubljana.

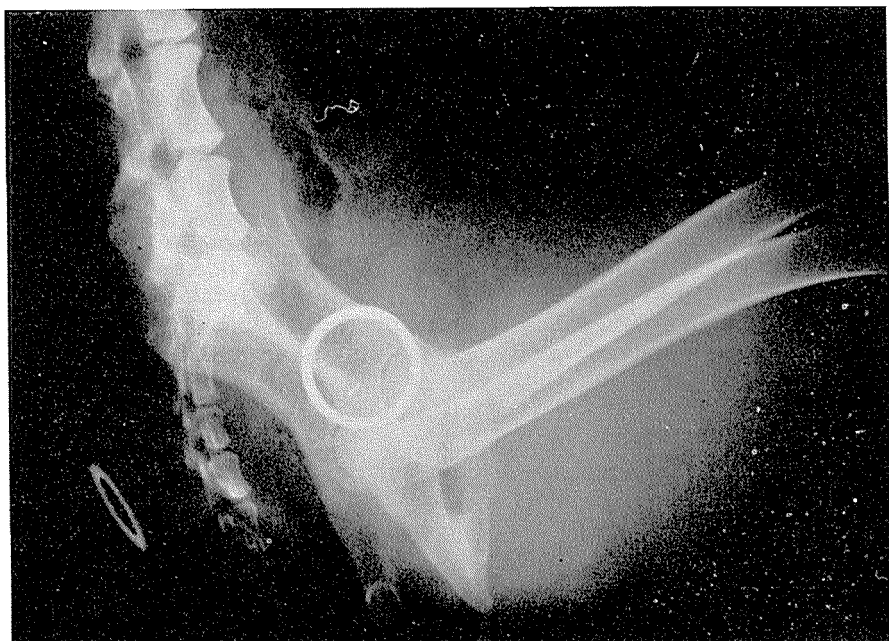
⁴ Prof. dr. sc. dr. med. Ivan Lenart, Inštitut za patološko morfolgiju, Ljubljana.

⁵ As. dr. med. Leon Kos, Klinika za ženske bolesti in porodništvo, Ljubljana.

* LČDM = liofilizirana čovečja dura mater (Firma B. Braun, Melsungen, SR Nemačka).



Slika br. 1. Shematski prikaz uštvne LČDM (liofilizirana čovečja dura mater) na prednji zid vagine iznad stvorenog defekta sa klipom za markaciju ispod grlića materice.



Slika br. 2. Rentgenski stranski snimak psa sa usađenim klipom za markaciju. Na kožu je stavljen metalni kolutić za centrirano zračenje vagine

Kod operativnih zahvata svih eksperimentalnih životinja ekscidirali smo prednju vaginalnu stenku ispod visine vaginalnog dela grlića materice u ovalnom obliku veličine približno 3×2 cm (slika br. 1).

Na defekat vagine stavili smo nekoliko veći dio liofilizirane LČDM tako da je sa peritonealne strane pokrivaio vaginu.

Liofiliziranu ČDM šili smo sa 2,0 hromkatgutom. Eksperimentalne životinje nakon takvih operativnih zahvata brzo su se oporavile. Postoperativnih temperatura nije bilo. U narednih dva meseca nakon opisanih operativnih zahvata nismo primetili bilo kakav iscedak ili fetor iz vagine.

Drugoj grupi eksperimentalnih životinja stavili smo iznad operativnog zahvata na vagini sa peritonealne strane jedan srebrni klip kao markaciju za postoperativno zračenje (slika br. 2).

Drugu grupu operisanih životinja podvrgli smo postoperativnom zračenju na Teratronu CO-⁶⁰ nakon dva meseca posle operativnih zahvata. Veličina zračenog polja iznosila je 7×7 cm. Ukupna organska doza zračenja iznosila je 4500 rada u 18 dana time, što se zračilo po 1500 rada svakih 6 dana. Zračenje je bilo obavljeno u i. v. narkozi. Mesec dana nakon zračenja polagano je počela deepilacija kože na zračenim mestima. Kod životinja manjih težina posle zračenja nastupila je inapetencija i anoreksija. Životinje većih težina bile su bez tih simptoma.

Sve životinje podvrgnute su bile ponovnom operativnom zahvatu nakon pet meseci posle prve operacije. Kod druge operacije odstranili smo svu vaginu i dio grlića materice.

Kod postoperativno nezračenih životinja nije bilo iznad plastičnog prekrivnaja vaginalnog defekta sa LČDM nikakvih adhezivnih primena, dok je kod svih postoperativno zračenih životinja došlo do adhezija između LČDM plastike i zadnjeg zida bešike. Adhezije su se mogle lepo razrešiti u sloju.

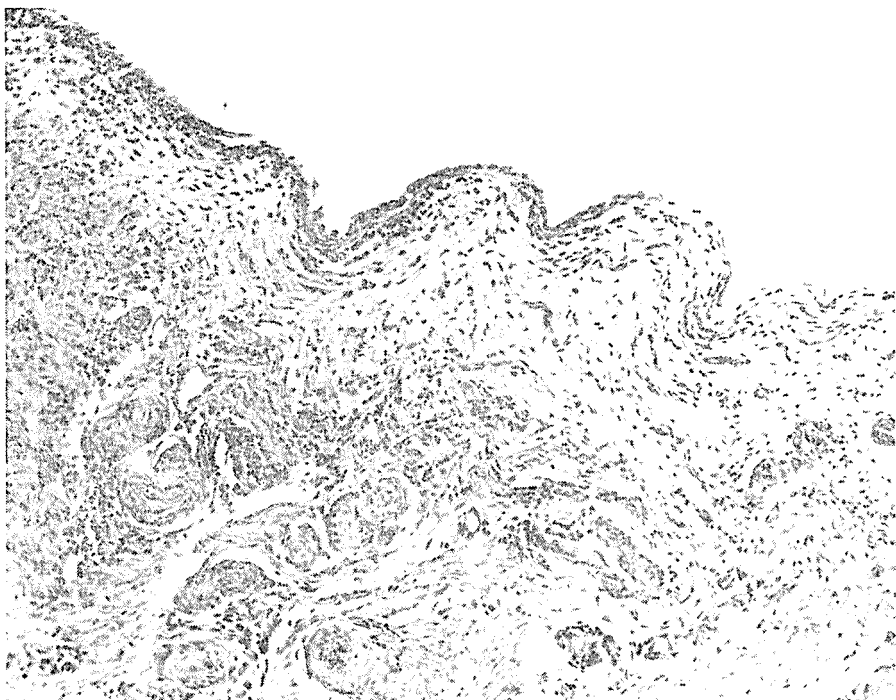
Na unutrašnjem zidu vagine nezračenih životinja makroskopsko nije bilo videti nikakvih promena. Površina unutrašnjeg zida novo stvorene vagine bila je jedino nekoliko glatkija i svetlija od ostalog zida vagine. Debljina vagine nije bila promenjena. Unutrašnja stenka vagine kod postoperativno zračenih životinja bila je nekoliko smežuranija, a u dva slučaja video se i vrlo mali ulkus ispod srebrnog klipa. Debljina vaginalne stenke postoperativno zračenih životinja bila je nekoliko deblja u poređenju sa nezračenim životinjama.

Svi dobiveni preparati bili su mikroskopski analizirani (slika br. 3, 4).

Na histomorfološkoj slici lioduralni implantat kod zračenih životinja pokazuje umerene znake periferne resorpcije sa uraščivanjem granulacijskog tkiva, ustrojenog od kapilarnih izdanaka, limfocita i plazmatki. Jača reakcija sa tvorbom granuloma kaže se oko katgut šavova. Metalne kopče — klipi stvorili su koji puta i ulceraciju vaginalne sluzokože. U svim slučajevima vidi se tvorba novog vaginalnog veziva između vagine i liodure. Novostvoreno vezivo prekriva ortotopni epitelj iz okoline.

U našoj eksperimentalnoj studiji došli smo do zaključka da nam liofilizirana ČDM služi ako aloplastičan materijal za svrhom prekrivanja veštački stvorenih defekata na stenci vagine bez sužavanja unutrašnjeg zida vagine. Liodura se ponaša kao inertan uložak kojeg postupno upije granulacijsko tkivo eksperimentalnih životinja. Isčezavanje liodure postepeno prelazi, jer se mogu naći znaci resorpcije na periferiji još pet meseci nakon transplantacije. Možemo reći da liodura služi kao vodilo regenerativnim procesima i da za vreme dugotrajne resorpcije daje i materijal za prehranu. Polagano usisavanje sprečava brzo smanjivanje okolne vaginalne stenke, njezino sužavanje i stvaranje neadekvatne stenoze vagine.

Eksperimentalna studija dala nama je potsticaj za uvođenje naše metode u klinički rad. Posle resekcije dve trećine vagine potrebno je bilo da se kao zamena napravi iz LČDM vaginalnim prilikama podešen model. Tako je sašiven model u obliku pokrivачa mekano kuvanog jaja. Za naš prvi rad izabrali smo mladu pacijentkinju (Š. D., 2275/71, 32 god.), primljenu na lečenje zbog ca colli uteri I. b. Radikalnu operaciju po Wertheim-Meigs-Novak metodi sa odstranjivanjem više od dve trećine vagine, izvršili smo 19. 7. 1971. Nakon operacije ušili smo sterilan liofilizirani model vagine na 1 cm preostataka vagine. Abdominalni deo operacije izvršili smo brižljivim peritoniziranjem tako da je liofilizirani model vagine ostao ekstraperitonealno. U stvorenu vaginalnu duplju stavili smo endovaginalnu protezu koju smo u postoperativnom dobu svakodnevno zamenjivali. Prema bakteriološkom nalazu ascendentnu infekciju u vaginalnoj duplji premazivali smo sa odgovarajućim antibiotikom u obliku masti zajedno s estrogenskom mašću. U toku mesec dana bila je zapažena obimna



Slika br. 3. Na novo stvorena stenka vagine psa, 5 meseci nakon operacije i zračenja. Novo stvoreni epitel vagine, ispod njega novo stvoreno vezivo i ostaci implantata LČDM. Na krvnim sudovima znaci hroničkog produktivnog endangi-tisa. (PTAH. 240 X)

sekrecija. Nakon šest nedelja iza operacije stvorila se potpuno neovagina iz preostalog ortotopnog ostatka vagine. Sašiveni delovi liodure stvarali su obimnu granulocitarnu reakciju. Pet meseci nakon transplantacije liodure, stvorila se 8 cm dugačka neovagina normalne širine, bez stenoze na mestu ušivenja transplantata. Makroskopski izgledala je neovagina na površini sijajna, glatka i nešto svetlija od ostatka vagine. Citohormonalni bris kazao je normalnu sliku acidobazofilnih ćelija vagine. Palpatorni ginekološki nalaz odgovara stanju nakon jedne normalne histerektomije. Parakolpium je mekan, a na vršku neovagine i u ostacima parametrijuma nema patoloških promena. Pacijentkinja sada ima normalan snošaj uz psihoseksualno zadovoljstvo oba partnera.

Zaključak

Autori iznose preliminarno saopćenje eksperimentalnog i kliničkog rada sa liofiliziranom čovečjom durom mater kao prelazeći materijal za transplantaciju nastalog vaginalnog defekta. Svoje radove izvode na nezračenim i zračenim eksperimentalnim životinjama, kod kojih su veštački

stvorene vaginalne defekte prekrivali sa liofiliziranom durom. Vaginalna stenka eksperimentalnih životinja polagano resorbuje liofilizirani inplantat sa stvaranjem neovagine iz ortotopnog veziva i epitelijske.

Nakon eksperimentalnu fazu naučnog rada nadovezali su klinički rad na jednome primeru uz odličan završni rezultat novostvorene vagine nakon suptotalne resekcije vagine kod Wertheimove operacije. Klinički primer autorima daje ohrabrujuće nade za dalji eksperimentalni i klinički naučni rad.

Zusammenfassung

Die Autoren berichten präliminar über die experimentelle und klinische Arbeit mit lyophilisierender menschlicher Dura mater, die sie als Übergangsmaterial für Transplantation zur Verlängerung der Vagina und Vaginaldefekte genommen haben. Die Versuche wurden an Schäferhündinnen in Narkose ausgeführt. Die Vaginalvorderwand wurde ungefähr 3×2 cm ausgeschnitten und der künstliche Vaginaldefekt mit Lyodura gedeckt. Einige Tiere wurden vier Wochen nach der Operation mit Theratron Co^{60} bestrahlt. Organdosis betrug in 18 Tage 4500 rad, wobei Experimenttiere alle 6 Tage mit 1500 rad bestrahlt wurden. Hautdepilation tritt erst 4—6 Wochen nach der Bestrahlung an. Nach 5 Monate wurde Vagina total extirpiert. Makroskopisch ist die Vaginalwand bei nicht bestrahlten Tiere weich und glatt, bei Nachbestrahlten aber etwas härter und verschrumpft. Mikroskopisch sieht man verlangsamte Resorption der Lyodura durch Neubildung der Vaginalwand aus eigenem zurück gelassenen ortotopischen Bindegewebe und Epithelium. Beim klinischen Versuch wurde bis jetzt nur eine junge Patientin mit Kollumkarzinom I-b nach Wertheim-Meigs-Novak operiert, wobei $\frac{2}{3}$ Vaginalwand reseziert wurde. In dem entstehenden Vaginaldefekt haben Lyodura in der Form eines weichgekochtes Eihut eingenäht. Nach 8 Wochen wurde die neugebildete Vagina völlig epithelisiert. Die Autoren führen die Versuche weiter und hoffen, dass sie die Verlängerung der Vagina mit Lyodura ohne Schrumpfung an der Nahtstelle, bessere Ergebnisse als mit dem Dickdarmverlängerung erzielen können.

Literatura

1. Flemming, F.: Die Anwendungsmöglichkeiten konservierte Dura in der Wiederstellungschirurgie. Kettler u. Serfling, VEB Verlag, Volk u. Gesundheit. Berlin, 1965.
2. Kelâmi, A. et al.: Verschluss von Vesicovaginal- und Vesicorektalfisteln mit Teflonfilz. Der Urologe, 9, 52, 1970.
3. Kos, L.: Disertacija za doktorat znanosti, Ljubljana.
4. Rolle, J.: Zusammenfassung der Ergebnisse des ersten Symposiumtage. Med. Mitt. (Melsungen), 43, 253, 1969.
5. Weber, K. A., Knipping, J.: Erfahrungen mit lyophilisierter Dura in der Chirurgie. Zbl. Chir., 91, 682, 1966.

Naslov avtorja: Dr. S. Havliček, Onkološki inštitut, Vrazov trg 4, 61000 Ljubljana.

ONKOLOŠKI INŠTITUT V LJUBLJANI

STUDIJ POST-IRADIACIJSKIH SPREMEMB NA MALIGNIH CELICAH KARCINOMA VRATU MATERNICE

Fras, P., Marija Us-Krašovec

UDK: 577.3:539.12.04:612.112.084

Uvod

Eden izmed osnovnih problemov radioterapije je različna občutljivost tumorjev na iradiacijo, ki jo na današnji stopnji poznavanja biologije tumorjev ne moremo in ne znamo ugotoviti ne klinično, ne cito- oziroma histomorfološko pred obsevanjem ali neposredno po prvih obsevanjih. Tako kljub napredku radiobiologije sloni dandanes radioterapija še vedno pretežno na empiričnih izkušnjah.

Z namenom, da bi našli test za ugotavljanje radiosenzibilnosti, je več raziskovalcev proučevalo post-iradiacijske spremembe na malignih celicah preiskavi razmeroma lahko dostopnega karcinoma vratu maternice. Izčrpen pregled o teh raziskavah je podal v svoji knjigi Rubin (2). Raziskave so šle kot navaja Rubin v tri smeri: študij histoloških, citoloških in citokemičnih sprememb ter študij sprememb normalnih celic vaginalnega epitelijskega po obsevanju. V literaturi zasledimo kasneje poskuse najti tak test v citogenetskih raziskavah (1), v študiju okvare metabolizma DNA s tritiranim timidinom (4) ter v opazovanju sprememb fluorescentnih lastnosti malignih celic (3). Vendar za sedaj niti ena izmed teh študij ni dala dovolj zanesljivega in za rutinsko uporabo primerne testa.

Ker je ocena radiosenzibilnosti tumorjev velikega pomena in še vedno odprti problem, so upravičena vsa nadaljnja preučevanja v tej smeri.

Namen dela

Pred načrtovanjem prospektivne študije smo želeli ugotoviti kakšne spremembe kažejo maligne celice karcinoma vratu maternice po enkratni terapevtski dozi 3000 r na točko A, dani na ta predel z aplikacijo radija po manchesterski metodi. Predvsem nas je zanimala kakovost morfoloških sprememb, ali kažejo celice vedno enake spremembe in ali je intenziteta sprememb vedno enaka. Želeli smo tudi ugotoviti kateri način odzemanja oziroma priprave materiala je za ta opazovanja najbolj primeren.

Material in metode dela

Morfološke spremembe na malignih celicah vratu maternice po obsevanju smo opazovali v razmazih, ki smo jih naredili iz koščka tkiva, odveztega za histološko preiskavo ter z brisom površine tumorja z Ayreovim loparčkom. Material za citološko preiskavo smo odvzeli neposredno pred prvo in nato neposredno pred drugo aplikacijo radija. Razmaze smo sušili na zraku in barvali po metodi May-Grünwald-Giemsa ter fiksirali v alko-holetru aa in barvali po metodi Papanicolaou.

Izmed 220 bolnic s karcinomom na vratu maternice, karcinomom telesa maternice, karcinomom vulve in vagine, pri katerih smo izbirali material za proučevanje sprememb po terapiji, smo za podrobnejšo analizo izločili 21 primerov, ker so le-ti predstavljali razmeroma homogeno skupino glede na naslednje pogoje:

1. da je bil karcinom na vratu maternice;
2. da je bil karcinom histološko verificiran;
3. da pred brahiradioterapijo niso bili zdravljeni s kakšno drugo specifično onkološko terapijo;
4. da je bil odvzet material za preiskavo 9—16 dni po prvi aplikaciji radija.

V tej skupini bolnic je klinično šlo v 4 primerih za stadij I, v 14 primerih za stadij II in v 3 primerih za stadij III. Pri 15 bolnicah je histološka preiskava ugotovila epidermoidni karcinom s poroženevanjem, pri 4 epidermoidni karcinom brez poroževanja in pri dveh anepidermoidni karcinom. Poleg običajne histolške klasifikacije smo vse primere opredelili glede na velikost celic v tri skupine: velikocelični epidermoidni karcinom (3 primeri), malocelični epidermoidni karcinom (8 primerov) in epidermoidni karcinom z mešano celično populacijo (11 primerov).

Vsem bolnicam je bil apliciran radij po manchesterski metodi in sicer po shemi III—VII s TD 3000 r na točko A v 48 do 72 urah.

Rezultati

Po obsevanju smo ugotovili na malignih celicah naslednje spremembe, ki jih naštevamo po pogostnosti:

- povečanje celice;
- povečanje jedra samega, tako da je še bolj porušeno razmerje: jedro — citoplazma v korist jedru;
- okvara jedrne membrane — najpogosteje smo opazovali primere, kjer se je pretrgala jedrna membrana na enem mestu, tako da je prišlo do protruzije jedrnega kromatina v citoplazmo;
- gubanje jedrne membrane;
- spremembe v razporeditvi kromatina, ki je navadno zgrudan v različno velike, brezstrukturne gmote;
- blede obarvanje in propad nukleola ali pojav celic z velikimi in intenzivno obarvanimi nukleoli;
- pojav vakuol v citoplazmi, ki so solitarne, perinuklearno orientirane, ali številne, različno velike in razporejene po citoplazmi, ter pojav vakuol v jedru.

Poleg naštetih, smo v nekaterih primerih opazili v celicah še naslednje spremembe: polilobulacijo jeder, binuklearne celice, fagocitozo, izgubo barvnih kvalitete jedra, kariolizo, kariorekso.

Pogostnost pojavljanja naštetih sprememb v posameznih primerih smo ocenili s številčno vrednostjo od 1 do 4. Prisotnost nespremenjenih celic smo prav tako ocenili s številčno vrednostjo 1—4, vendar z negativnim predznakom. Če smo spremembo opazili le v nekaterih vidnih poljih, smo to ocenili z 1, če se je pojavljala v vsakem vidnem polju na posameznih celicah z 2, na več celicah s 3, in če je bila sprememba vidna na vseh celicah v vseh vidnih poljih pa s 4. Enako smo ocenili pojav nespremenjenih celic, npr. v posameznih vidnih poljih so le posamezne nespremenjene celice, z 1, v vseh vidnih poljih posamezne nespremenjene celice z 2, in tako naprej. Tako smo za vsako bolnico po pregledu razmazov po prvi aplikaciji radija ocenili pogostnost morfoloških sprememb, ki so se pojavile na malignih celicah kot posledica obsevanja.

Ugotovili smo, da je bila v opazovanih primerih najnižja številčna vrednost vsote morfoloških sprememb 6, najvišja pa 16. Razpon teh vrednosti smo poskušali primerjati s citološkim tipom z ozirom na velikost celic, pokazalo pa se je, da bistvenih razlik ni (tabela I.). Tudi, če smo poskušali primerjati dobljene vrednosti z ozirom na dan odvzema materiala, nismo ugotovili bistvenih razlik.

Čeprav namen študije ni bila opredelitev testa za oceno radiosenzibilnosti oziroma testa za oceno uspešnosti radioterapije, smo za grobo orientacijo ugotovljene vrednosti celičnih sprememb primerjali z enoletnim preživetjem bolnic. Pokazalo se je, da je bil razpon pogostnosti morfoloških sprememb celic pri bolnicah, ki so umrle pred 1 letom, 8—16, pri bolnicah, ki so živele več kot 1 leto pa 6—15. Razlika je zanemarljiva, sicer pa je glede na tako majhno število primerov kakršenkoli sklep glede tega nedopusten.

Tabela I. — Primerjava pojavljanja sprememb z ozirom na delitev malignih celic po velikosti

Citološki tip (po velikosti)	Velikocelični CA	Malocelični CA	CA s celicami mešanega tipa
Število primerov	3	8	11
Vsota sprememb	6—13	6—16	9—16

Razprava in sklepi

Orientacijska študija morfoloških sprememb celic karcinoma na vratu maternice po obsevanju z radijem je pokazala, da so razmazi, narejeni iz bioptičnega materiala, zelo primerni za opazovanje postiradiacijskih sprememb na teh celicah. Ti razmazi imajo namreč v primerjavi s standardnimi brisi to prednost, da je v njih manj spremljajočih celičnih elementov kot so npr. celice vaginalne sluznice in krvni elementi. Tako pripravljene preparate vsebujejo pretežno maligne celice, ki ne kažejo mehaničnih poškodb. Da smo lahko pripravili primerne preparate z direktnim odvzemom

materiala oziroma brisom porcije, smo morali postopek ponavljati, potrebna pa je bila izredno skrbna tehnična obdelava, da so bili razmazi z ozirom na zadostno število malignih celic uporabni (primerni za opazovanje).

Da ne bi bolnice preveč obremenjevali s preiskavami in da bi se izognili prepogostim mehanskim posegom v tumor, smo material za preiskavo odvzeli neposredno pred drugo aplikacijo radija. Naša opazovanja so pokazala, da je material, odvzet v intervalu 9—16 dni po prvi aplikaciji radija, primeren za študij postiradiacijskih sprememb.

V naših primerih so bile spremembe na malignih celicah raka na vratu maternice po obsevanju z radijem različne, tako glede na njihovo kvaliteto kot glede na njihovo intenzivnost. Prognostične vrednosti teh sprememb še ni možno oceniti. Ni izključeno, da se bo pokazalo, da so v nasprotju z dandanašnjimi pogledi, dobro izražene post-iradiacijske spremembe prognostično slab znak.

Summary

The purpose of this preliminary work was to study the morphological changes of malignant cells of the cervical cancer after the first intracavitary application of Radium (3000 r — point A — applied by Manchester method).

Morphological changes were studied on smears taken 9—16 days after the first application of radium. It was found that morphological changes were present but differed in intensity and quality. Smears made out of bioptic material were feasible for such examinations because of the abundance of malignant cells.

Literatura

1. Cox, L. W. et al.: Cytogenetic assesment of radiosensitivity of carcinoma of the uterine cervix. *Obst. Gynaec.* 33: 82—91, 1969.
2. Rubin, P., G. Casarett: *Clinical Radiation Pathology*. Saunders Company, Philadelphia 1968.
3. Vainer, L. L.: Luminiscent-microscopic indices of sensitivity of uterine cervix cancer cells to irradiation. *Vop. Onkol.* 12: 67—70, 1966.
4. Yanagita, T. et al.: Autoradiographic studies in cervical cancer before and after a test dose of irradiation. *A. J. Obst. Gynec.* 95: 1051—1058, 1966.

Naslov avtorja: Dr. P. Fras, Onkološki inštitut, Vrazov trg 4, 61000 Ljubljana.

EFFETS SURLETHALS DE LA RADIOTHERAPIE DU CANCER DU COL UTERIN

Popović, V., M. Bošković, R. Ilić

UDK: 616-006.6-091.8:612.014.481

Au cours des onze dernières années, de 1953 à 1963, 4914 malades du cancer du col utérin ont été traitées à l'Institut Radiologique. Sur ce nombre, nous avons éliminé 525 malades, à savoir:

— 267 dont l'analyse histologique a été négative ou le prélèvement n'a pas été effectué;

— 135 dont le traitement a été commencé mais n'a pas été terminé par suite d'un épuisement général dû à l'hémorragie ou à de mauvaises conditions techniques;

— 123 qui ne se sont plus présentées à l'Institut.

Le traitement des malades a été effectué de façon intracavitaire et transcutanée, c'est-à-dire par la curithérapie intracavitaire et par la radiothérapie transcutanée et, à partir de 1961, au moyen de la télécobaltthérapie. En ce qui concerne la thérapie intracavitaire, la dose a été de 3400 à 3600 mgh dans les applications vaginales, et de 3600 à 4000 mgh dans les applications utérines. La thérapie transcutanée a été effectuée au moyen de l'appareil Roentgen de 200 à 250 kV, ou au moyen du cobalt, le gamatron, de 3000-curies.

En ce qui concerne la thérapie Roentgen, l'irradiation a été effectuée avec quatre champs; chez les malades corpulentes, avec six champs, au moyen de la tumeur-dose de 3000 rads par paramétrie. La thérapie-télécobalt a été appliquée soit au moyen d'un filtre en pointe, avec deux champs 5000 rads tumeur dose soit avec 4 champs et une tumeur dose de 4000 à 4500 rads par paramétrie.

Il ressort du tableau I 50 que les cas de maladie traités ont été différents, de sorte que nous avons des malades des quatre stades, notamment:

- | | |
|--------------------------------------|-----------------|
| — 1er stade de la maladie | 7 % de malades |
| — 2ème stade de la maladie | 40 % de malades |
| — 3ème stade de la maladie | 52 % de malades |
| — 4ème stade de la maladie | 2 % de malades |

Les cas du 4ème stade de la maladie ont été traités, en règle générale, seulement par la thérapie transcutanée; chez certaines malades, nous avons ajouté, avec beaucoup de précaution, la thérapie intracavitaire quand les conditions techniques étaient satisfaisantes.

Il est compréhensible que sur un nombre si important de malades traitées, nous rencontrions, lors des irradiations, des réactions désagréables qui se manifestaient sous forme de réctite ou de cystite, quelques jours après l'application de la curiethérapie. Ces difficultés se manifestaient chez 24 % des malades traitées. Nous les éliminions lors des irradiations par voie médicamenteuse et par des soins, de sorte que le traitement par irradiation pouvait être achevé et les malades libérées en bon état de santé. Mais dans 5 % des cas traités, les réactions manifestées sur les parties irradiées (rectum, vagin, vessie et quelquefois colon sigmoïdien), ont été bien plus vives et suivies de vraies réctites, cystites et parfois de rectosygmoidites qui duraient plusieurs semaines. Plus tard, lors des contrôles effectués sur ces malades, nous avons pu constater, dans le vagin ou au rectum, des rétrécissements généralement stables et, de cette façon, ces malades vivaient 5, 10 et 15 ans sans sérieuses difficultés ou intervention chirurgicale.

Chez 69 malades, nous avons constaté, malheureusement, des fistules soit recto-vaginales 45 soit vésico-vaginales 9, ou bien les deux genres de fistules à la fois 4. Sur ce nombre, nous avons éliminé 11 malades avec fistules, leur stade de maladie ayant été le 4ème ou le 3ème b, qui mouraient généralement 1 ou 2 ans après la radiothérapie appliquée.

Dans ce rapport, nous allons donc analyser 58 malades 1,32 % avec fistules, qui appartenaient aux 1er, 2ème et 3ème stades de maladies. Ces fistules se manifestaient au bout de quelques mois jusqu'à 3 ou 4 ans après la radiothérapie effectuée. Elles ont été constatées lors des visites de contrôle exigées par les malades à cause de difficultés dans la défécation et la miction. Notre expérience au cours de ces longues années nous amène à conclure que la manifestation d'un effet suriétal doit être considérée tout de suite sérieusement, la malade hospitalisée sans délai et, plus tard, des contrôles réguliers effectués afin de diminuer les difficultés par des soins et empêcher la manifestation de la fistule recto ou vésico-vaginale; si la fistule se manifeste, réduire sa dimension afin d'éviter la nécessité éventuelle de l'ouverture d'un anus artificiel, ce que les malades refusent d'accepter, la majorité d'entre elles étant originaire des campagnes.

En analysant les résultats obtenus, nous avons pu constater avec satisfaction que sur 58 cas traités, 35 ont survécu 5 ans (60,3 %) mais étaient atteintes d'une fistule recto-vaginale. Les malades atteintes d'une fistule vésico-vaginale ou d'une fistule combinée recto et vésico-vaginale mouraient lors des premières années.

En ce qui concerne les sygmoidites, elles se manifestaient, en règle générale lors de l'application de grands champs (10 × 15 cm); elles sont de caractère passager, durent de 1 à 2 ans, leur perniciosité allant en fonction de la manière non conforme de nourriture.

Comme il a été exposé ci-dessus, le traitement par les appareils Roentgen avec irradiation de trois champs, provoquait des lésions du système osseux. Nous avons eu 10 malades de ce genre. Les lésions se manifestaient

généralement par des douleurs imprécises dans les hanches et par de légers troubles fonctionnels qui n'ont pu être détectés dès le début par la radiographie. Mais, malheureusement, plus tard, nous avons pu constater soit des fractures: du col fémoral, de l'os iliaque, des fissures et fractures de l'os pubien et de l'os iliaque. Les malades en question souffraient pendant la consolidation du procès et, plus tard, elles ne sentaient que des troubles fonctionnels.

Après l'application de la thérapie Ronetgen, nous avons constaté, chez certaines malades, sur la peau des parties irradiées, des durcissements de cette peau et des tissus sous-cutanés avec des téléangiectasies, changements qui provoquaient des troubles fonctionnels. Dans 12 cas de maladie traités, des radio necroses tardives, très pernicieuses ont été constatées; nous avons réussi à les soigner mais elles se sont manifestées de nouveau.

Les malades chez lesquelles la Cobalt-thérapie transcutanée avec filtre en pointe a été appliquée, ont été atteintes, dans certains cas, d'un durcissement infraombilical de la peau et des tissus sous-cutanés de la grandeur de la pauiue d'un enfant jusqu'à celle d'un poing de femme.

Conclusion

1. A l'Institut Radiologique de Belgrade, il a été traité, su cours des onze années 1953—1963, 4.389 malades du cancer du col utérin faisant partie des quatre stades de maladie.

Le nombre de malades traitées ayant survécu 5 ans est de 2.153 (49 %). Les 35 malades traitées, atteintes après l'irradiation de fistules vésico ou recto-vaginale sont comprises dans le nombre ci-dessus mentionne.

2. Sur 58 malades atteintes d'une fistule vésico ou recto-vaginale, 35 (soit 60,3 %) ont survécu 15 ans. A notre avis, toutes les malades atteintes de fistules doivent être hospitalisées et soumises à un régime d'hygiène et de diète ainsi qu'à un traitement médicamenteux.

3. L'ouverture d'un anus artificiel a été refusée par la majorite des malades traitées. Sur les 24 vivantes actuellement, 9 seulement ont un anus artificiel.

4. Les fistules vésico-vaginales ont eu, pour la plupart, au bout de à 3 ans, une fin fatale. Une intervention chirurgicale n'a pas été tantée.

5. Toutes les autres lésions: peau, rétrécissement du rectum, rétrécissement du vagin, sygmoïdites, cystites, ne présentent pas de graves problèmes ni par leur nombre ni par les troubles fonctionnels causés.

Nous sommes d'avis qu'il est nécessaire d'attacher plus d'attention aux lésions osseuses qui pourraient être évitées par l'application de la thérapie de super-tansion pour les irradiations transcutanées.

6. En analysant les cas de maladie traités, dans lesquels des fistules se sont manifestées, nous avons remarqué qu'elles ont été causées, le plus souvent, par la thérapie intracavitaire et tout particulièrement dans le cas de doses vaginales supérieures à 3.600 mgh; dans certains cas traités, les fistules ont été constatées même dans l'application de doses inférieures à 3.000 mgh.

R e s u m e

Les auteurs ont exposé complications causées par la thérapie intracavitaire et la thérapie Roentgen et gamatron transcutanée, constatées dans les cas de maladie traités à l'Institut Radiologique de Belgrade, de 1953 à 1963 inclus.

Au cours de la période considérée, il a été traité au total 4.389 malades du cancer du col utérin dont 2.153 (49 %) ont survécu 5 ans et 99 malades (soit 26,3 %) ont survécu 15 ans.

Les auteurs ont analysé les complications causées d'irradiation que la peau, au rectum, à la vessie, sur les os ainsi que dans le vagin et au col de l'utérus.

B i b l i o g r a p h i e

1° A. Chronopoulos: Les complications rectales du traitement radiothérapique de l'épithélioma du col de l'utérus. Bulletin du Cancer — Année 1956. p. p. 140—150.

2° Juliette Band: Les places respectives de la curiethérapie intra-utéro-vaginale et des irradiations péri-pelviennes dans le traitement des épithéliomas du col utérin: Atti del simposio sulla terapia del cancro dell'utero 1957 p. p. 170—176.

3° Juliette Band: Quelques réflexions a propos d'une statistique générale portant sur 3.327 cas d'épithélioma du col de l'utérus, traités par les radiations de 1919 à 1947 a la Fondation Curie. Gynécologie et Obstétrique — Tome 53, No. 4 — 1954 p. p. 408—416.

4° V. Popovitch: Notre expérience en matière de radiothérapie des cancers cervico-utérins, traités a l'Institut de radiologie de Belgrade de 1933 à 1943, La semaine gynécologique VII. Congr. Inter. de Radiol. Munich 1959.

5° V. Popovitch, M. Boškovitch et J. Lazitch: Nos expériences dans le traitement du cancer du col utérin obtenues uniquement par la radiothérapie a l'Institut Radiologique de Belgrade de 1953 à 1963. Radiologia Yougoslavica (1971).

Authors's address: T. V. Popović, Radiološki institut, Pasterova 14, Beograd.

OSVRTI

POROČILO O 8. REDNEM LETNEM SESTANKU EVROPSKEGA ZDRUŽENJA ZA RADIOBIOLOGIJO, KI SE JE VRŠIL V BAŠKEM POLJU OD 20.—23. 9. 1971

Sestanek se je vršil v rekreacijskem centru v Baškem polju blizu Makarske. Pokrovitelji sestanka so bili: Zvezna komisija za znanstveno raziskovanje, Združenje za znanstveno aktivnost republike Srbije, Raziskovalna skupnost republike Hrvaške, Internacionalna atomska komisija in Tovarna zdravil Pliva. Vsi našteti so nudili organizatorjem tudi izdatno finančno pomoč.

Na svečani otvoritvi je najprej navzoče pozdravil župan mesta Makarske, nato pa prof. Z. Dienstbier, predsednik evropskega združenja za radiobiologijo. V imenu organizacijskega odbora sestanka pa je navzoče pozdravil njegov predsednik prof. D. Kanazir.

Sestanka se je udeležilo preko 200 raziskovalcev iz evropskih in tudi neevropskih držav.

Zahodna Nemčija 35, Jugoslavija 32, Belgija 19, Sovjetska zveza 17, Češkoslovaška 15, Madžarska 15, Velika Britanija 14, Italija 14, Nizozemska 12, Romunijska 12, Francija 9, Poljska 4, Norveška 4, Združene države Amerike 3, Španija 3, Bolgarija 3, Danska 2, Švedska 2, Švica 2, Škotska 1, Avstrija 1, Indija 1, Kanada 1, Turčija 1, Grčija 1 in Vzhodna Nemčija 1.

Program sestanka so predstavljali plenarni sestanki kjer so imeli daljše referate priznani raziskovalci posameznih področij, razgovori za okroglo mizo in krajši referati po posameznih skupinah, istočasno v treh dvoranh in so obsegali nič manj kot 13 področij:

Področje	Št. referatov
Imunologija in transplatacija	23
Sinteza DNA in proteinov	25
Radiokemija	7
Poliferacija — rast in razvoj	8
Rastlinska radiobiologija	9
Obnova in mutageneza	32
Fiziologija, farmakologija in endokronologija .	23

Področje	Št. referatov
Učinki nevtronov in RBE študije	12
Modifikacije radiosensitivnosti	12
Pozni efekti	19
Hematologija	13
Obnova in zaščita	22
Notranji sevalci	10
Skupaj	215

S tem sem Vam želel samo okvirno prikazati obširnost in močno razvejanost programa, zato bi se omejil pri svojem poročilu le na vsebino plenarnih sestankov, ki imajo bolj vsestranski pomen. Povzetki referatov pa so na voljo v redakciji Radiologice Jugoslavice.

V prvem sestanku plenarne sekcije prvega dne je R. Latarjet (Fondation Curie, Institut du Radium, 26, rue d'Ulm, Paris 5 e; France) predaval o intrakciji sevalne energije z nukleinskimi kislinami. V predavanju je podal pregled do sedaj znanih sprememb, ki nastajajo pod vplivom sevanja na nukleinske kisline in njenih sestavnih delih, bodisi direktnega ali indirektnega značaja. Prikazal je tudi novejšje pristope za študij teh sprememb in posledic v smislu mutacij, kakor tudi v procesu translacije in transkripcije.

V drugem sestanku pa je D. V. Van Bekkum (Radiobiological Institute TNO, Rijswijk, ZH, The Netherlands) poročal o napredkih na področju transplantacije kostnega mozga. Znano je, da so bili prvi poskusi zdravljenja levkemij in anaplastičnih anemij brezuspešni zaradi fatalne akutne reakcije gosta proti gostitelju. Ugotavljanje histokompatibilnosti v novjšem času pa je zopet vzbudilo zanimanje v klinični praksi. Prav tako so se spremenile metode za pripravo pacienta in to namesto obsevanja celega telesa se uporablja kemoterapija ali predhodno tretiranje z antilimfocitnim serumom. Tako pripravljeni bolniki imajo boljše rezultate transplantacij in praktično ne pride do reakcij gosta in gostitelja. Obsevanje celega telesa se uporablja še vedno pri modelnih poskusih na eksperimentalnih živalih. Razvoj metodologije, ki so zagotovila izolacijo čistih hematopoetskih blastnih celic z uporabo antilimfocitnega seruma pa bo prav gotovo preprečila omenjene reakcije. Prve klinične informacije bo možno dobiti po mnenju avtorja pri zdravljenju imunskih obolenj, ki se bodo pazneje lahko uporabile pri zdravljenju levkemij.

Prvi sestanek v plenarni sekciji popoldne je vodil H. Kaplan (Department of Radiology, Stanford University School of Medicine, Stanford, California 94305, U.S.A.). Predaval je o ponovnem združevanju enostranskih prelomov na verigi DNA in zmožnostih sesalnih celic za obnovo po potencialni letalni poškodbi. Poskusi na hrčkovih celicah so pokazali, da zahteva enostranski prelom verige DNA 75 eV v aerobnih pogojih, obsevanih z žarki X pri 0° C in 155 eV pri 25° C. Rezultati njihovih raziskav so pokazali, da obstaja direkten odnos med sposobnostjo celic za obnovo pri potencialno letalni poškodbi in njeno zmožnostjo za rekonstrukcijo prelomov enojne verige DNA.

Na zadnjem plenarnem sestanku prvega dne je govoril M. A. Kuzin (Institute of Biophysics, Radiobiology Department, Academy of Sciences of U.S.S.R. Pushkino U.S.S.R.) o sevalnih učinkih na encimsko aktivnost. Encimi so lahko pod učinkom sevanja zavrti že na stopnji sinteze na področju gena, pozneje pa lahko opazujemo stimulacijski učinek oziroma porast njihove aktivnosti. Podrobneje je avtor poročal o DNA ligazi, ki lahko katalizira obnovo enoverižnega preloma DNA skupaj v endonukleazo I. Ta encim tvori del nehistsonskega proteina kromatina. Obsevanje DNA v raztopini s 500 r z dodatkom ligaze ekstrahirane iz kromatina kunčevih celic kostnega mozga pa obnovi 85 % prelomov.

Drugi dan je v prvem plenarnem sestanku govoril U. Hagen (Institut für Strahlenbiologie, Kernforschungszentrum, D 75 Karlsruhe, Federal Republic of Germany). Avtor je poudaril v svojem predavanju izredno radiosensitivnost translacijskega procesa, posebno pa funkcijo informativne RNA in ribosomov. Poudaril je, da se ti procesi uspešno raziskujejo v pogojih in vitro vendar z uporabo zelo zahtevnih laboratorijskih tehnik.

Drugi dan je v drugem sestanku poročal M. Errera (Laboratoire de Biophysique et Radiobiologie, Université libre de Bruxelles, Belgium) o obnovitvenem procesu na molekularnem nivoju. Pri enoceličarjih že poznamo tri načine obnovitvenega procesa DNA in sicer: fotoreaktivacija, ponovna vgraditev, ki je navadno pravilna in rekombinacija, ki navadno vodi v mutacijo. Obstojajo že eksperimentalni podatki, da prav taki procesi veljajo tudi za sesalno celico.

Popoldne je imel predavanje M. Quintilaini (Istituto Superiore di Sanità, Rome, Italy) o modifikaciji radiosensibilnosti. Obsevalna sensitivnost v bistvu pomeni relativno obsevalno dozo, ki ima za posledico določen opazovalni efekt. Glede na precej empirično interpretacijo lahko faktorje, ki vplivajo na sensitivnost bioloških sistemov klasificiramo na različne načine: lahko delujejo na nivoju transporta sevalne energije na kritične biološke strukture — kdaj je ta struktura bolj podvržena poškodbi — verižni procesi od primarnih poškodb, ki jih opazujemo. Torej ti faktorji delujejo na radiokemičnem, biokemičnem in fiziološkem nivoju. Ti procesi vsekakor prekrivajo drug drugega, bistveni kriterij pa je dogajanje v posameznih časovnih razdobjih, ki šele pravilno opredelijo določen spreminjevalni faktor. Le rezultati na molekularnem nivoju in v sistemu ene same celice (zelo enostaven sistem) bodo prinesli uporabne rezultate po mnenju predavatelja.

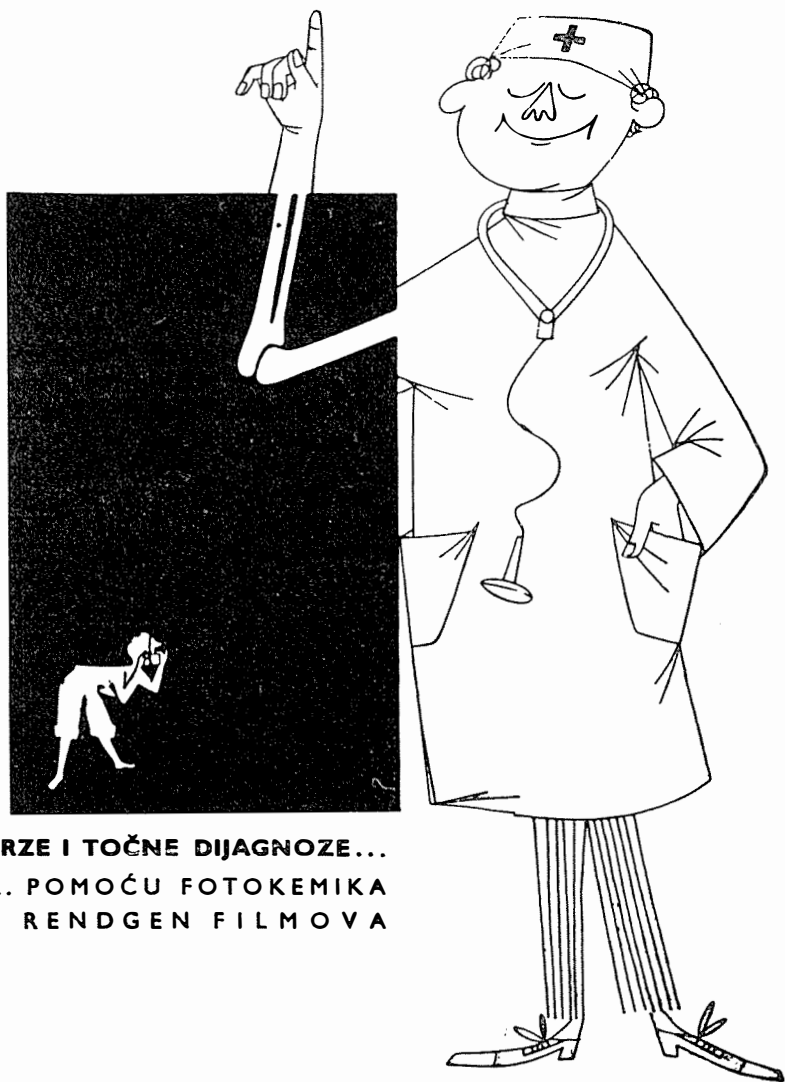
Zadnji dan je o odnosu med dozo sevanja in indukcijo karcinoma predaval R. H. Mole (Medical Research Council, Radiobiology Unit, Harwell, Berks., United Kingdom). Predpostavka za namene zaščite pred sevanjem je osnovana na linearnem odnosu med dozo sevanja, pa čeprav še tako majhna lahko povzroči klonično sterilizacijo, zato celice, ki niso sposobne nadaljnjih delitev ne morejo inducirati karcinoma. Če izhajamo iz te predpostavke, potem ne moremo opazovati linearnega odnosa med dozo sevanja in indukcijo karcinoma. Uporabili so številne eksperimentalne podatke in z uporabo statističnih metod skušali predstaviti, da odnos ni linearen, kar je potrebno še s poskusom preventi. Vsekakor pa predstavlja tak način interpretacije kancerogenze pod vplivom ionizirajočih žarkov v povsem novi luči.

V zaključnem govoru je Z. M. Basco (Laboratories of Radiobiology, Liège, Belgium) govoril o perspektivah radiobiologije. Poudaril je, da ni mesta za malodušja v razvoju na področju radiobiologije. Vsak dan se odpirajo nova področja (radioimunologija, molekularna radiobiologija) s čimer neopazno raste tudi število radiobiologov, zahvaljujoč vsemu tistemu, kar je preskrbela že klasična radiobiologija za raziskovanje osnovnih bioloških procesov. Do sedaj je ostalo skoraj še povsem neobdelano področje endokrinologije in sprememb na vaskularnem sistemu pod vplivom sevanja, kar pa bo predmet razprav na naslednjem sestanku evropskega združenja za radiobiologijo v Rimu.

Zaradi tega radiobiolog v sedanjosti deluje pod različnimi področnimi zastavami, kar potrjuje široko razvejanost in vsestransko uporabnost tako v bazičnih raziskavah, kakor tudi v aplikativne namene.

Mgr. J. Škrk

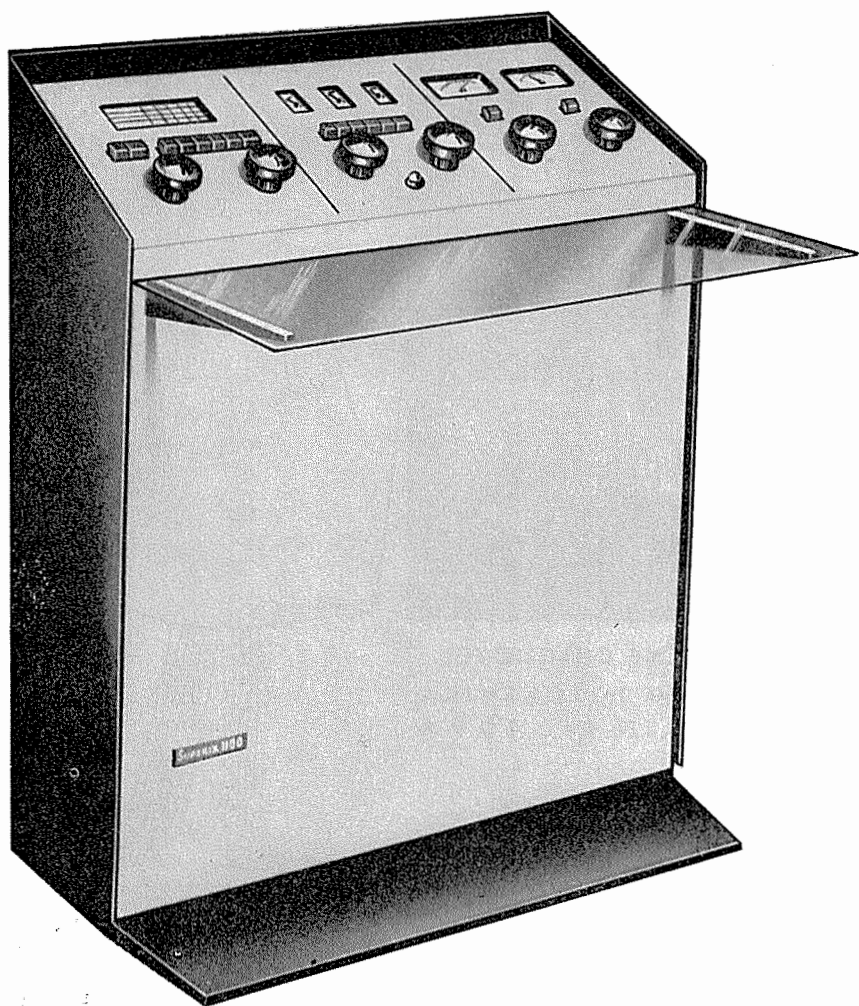
sanix



BRZE I TOČNE DIJAGNOZE...
... POMOĆU FOTOKEMIKA
RENDGEN FILMOVA

fotokemika
Z A G R E B

SUPERIX 1150





SUPERIX 1150

U SUPERIXU 1150 sve je usmereno ka jednom cilju: sigurno, bezbedno i jednostavno rukovanje uz dobijanje što je moguće kraćeg vremena snimanja. Trofazni generator sa šestoventilnim ispravljanjem, oblikom usmerenog napona, dozvoljava znatno veće opterećenje rendgenske cevi, kao i bolje rendgensko zračenje u odnosu na monofazne generatore. Napon u rendgenskoj cevi dostiže vrednost do 150 kV. Automatika aparata omogućuje kontinualno praćenje dozvoljenog opterećenja cevi što garantuje najkraće vreme snimanja bez opasnosti od preopterećenja. Duhovito zamišljena automatika aparata SUPERIX 1150 čini da se sa njim prosto i jednostavno radi.

Sve je na ploči komandnog stola pregledno, a dugmad za regulaciju i prekidači raspoređeni logičnim redom.

Podešavanje vrednosti za snimanje je veoma jednostavno. Treba izabrati samo kV i mAs, a automatski će se podesiti tok cevne struje i najpovoljnije vreme snimanja, koje će odgovarati karakteristici opterećenja cevi.

Za tomografska i druga slična snimanja usvojen je rad sa konstantnom strujom, koja se bira pritiskom na odgovarajući prekidač tastature.

Na raspoloženju stoje sledeće vrednosti cevniha struja: 10, 15, 25, 50, 75 i 150 mA. Jasnost i preglednost u konstrukciji ploče komandnog stola, razmeštaj najvažnijih komandi su u skladu sa njihovom funkcijom pa se rad sa ovim aparatom odvija logičnim redom zahvaljujući usvojenom rasporedu ispravljača i instrumenata.

Snaga aparata:

1000 mA pri 100 kV

600 mA pri 125 kV

300 mA pri 150 kV

Opseg napona:

Snimanje — kontinualna regulacija od 35 do 150 kV

Prosvetljavanje — kontinualna regulacija od 40 do 110 kV

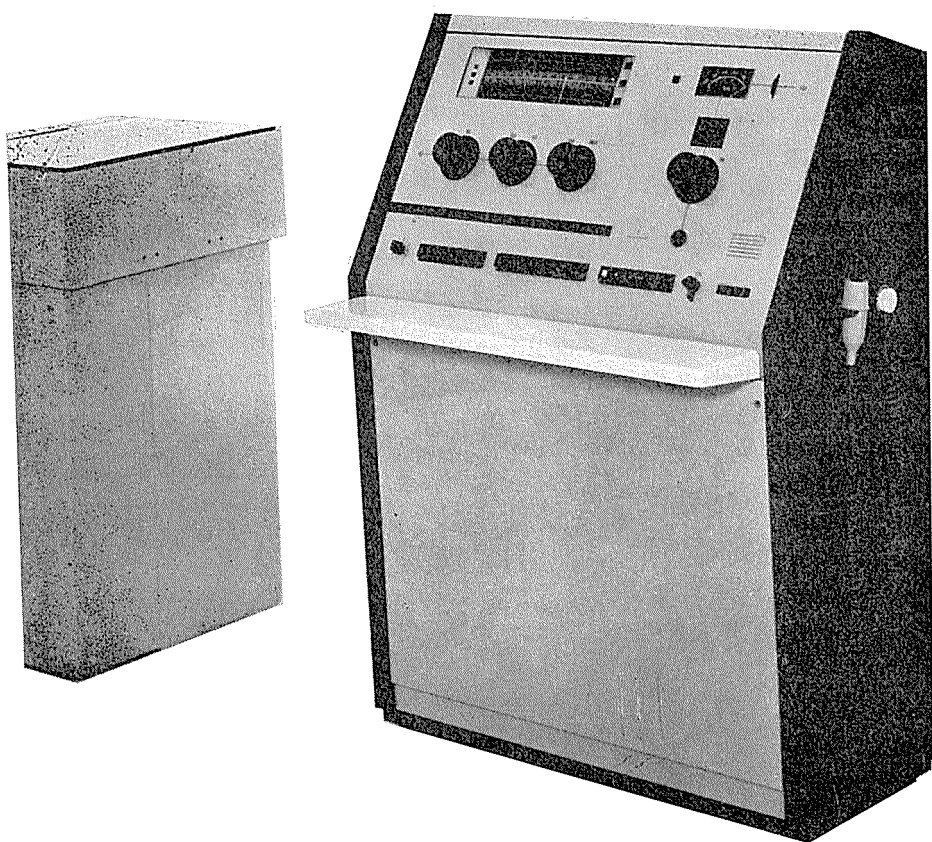


ELEKTRONSKA INDUSTRIJA

Grupacija medicinskih uređaja

i aparata — Sektor prodaje — Niš

SUPERIX 800





SUPERIX 800

Šesteventilni dijagnostički rendgen aparat sa trofaznim napajanjem, slobodnim izborom tehnike snimanja i automatikom za snimanje sa programskim komandovanjem, odgovara zahtevima savremene rendgen dijagnostike.

Rendgenolog ne može rešavati probleme rendgen dijagnostike opredeljujući se za jednu tehniku podešavanja, zato mu SUPERIX 800 pruža mogućnosti za:

podešavanje sa tri dugmeta,

podešavanje sa dva dugmeta,

podešavanje jednim dugmetom sa automatikom za snimanje pomoću programiranog komandovanja.

Savremena konstrukcija koja omogućava jednostavno rukovanje, veliku pogonsku sigurnost zbog upotreba Siemensovih selenskih ispravljača, karakterišu estetski oblikovan komandni sto Superix-a 800.

Ugrađen vremenski prekidač uključuje do osam snimaka u sekundi. Zbog toga postoji mogućnost za priključivanje uređaja za brzo serijsko snimanje. Na zahtev se može ugraditi i komandni sto birač broja slika koji služi zato da se pri serijskom snimanju ne prekorači dozvoljeno opterećenje cevi.

Automatska stabilizacija napona struje otklanja smetnje i kod većeg kolebanja napona. SUPERIX 800 je tako napravljen da kasnije mogu biti priključeni bez teškoća dodatni uređaji što osigurava njegovu budućnost.

Snaga aparata:

800 mA pri 60 kV

600 mA pri 100 kV

400 mA pri 125 kV

50 kW pri 100 kv

po DIN 6822

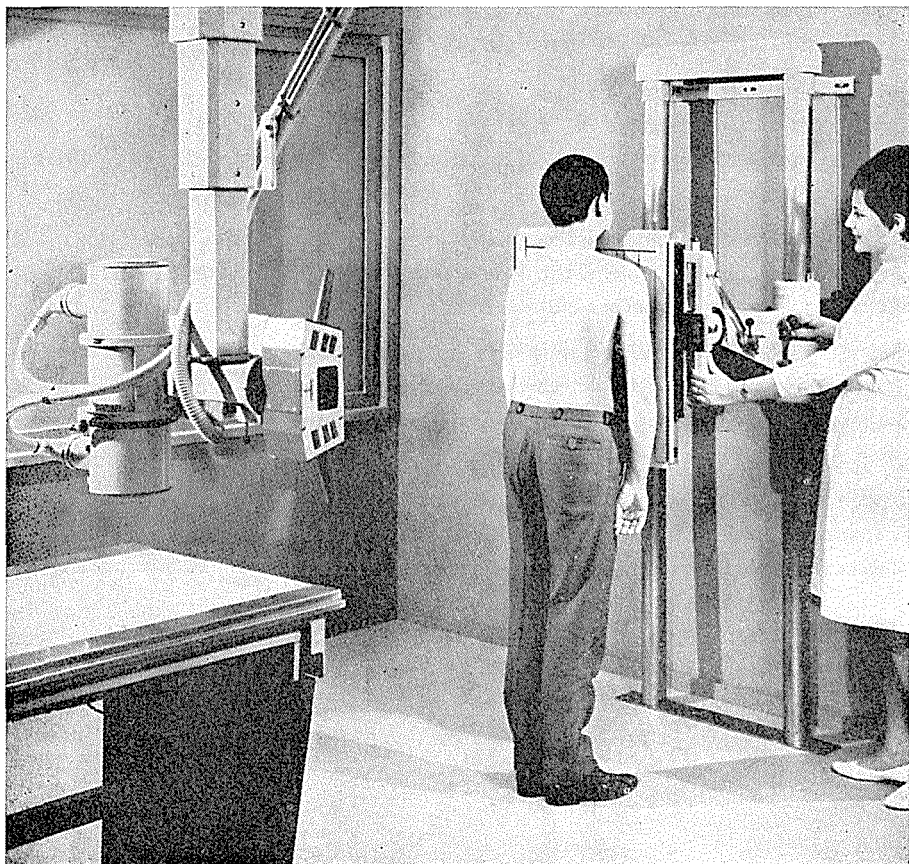


ELEKTRONSKA INDUSTRIJA

Grupacija medicinskih uređaja

i aparata — Sektor prodaje — Niš

PLAFOSTAT





PLAFOSTAT

Konstrukcijom PLAFOSTATA rešen je problem opsluživanja više radnih mesta jednim rendgen zračnikom. Osim toga njegova primena omogućava neprekidan tok rada, veću slobodu pomeranja aparata pri korišćenju prostorija i slobodan pod.

PLAFOSTAT se isporučuje i sklapa po principu ugradnih jedinica, zato je uvek moguće optimalno uklapanje.

Rendgen zračnik nosi četvorodelni teleskop koji omogućava vertikalni hod od 1,5 m ili 1,2 m.

Jednostavno izvlačenje teleskopske cevi osigurava kretanje bez potresa. Pokretljivost i zaokretljivost rendgen zračnika na ovakvom stativu omogućava svaki potreban pravac snimanja.

Svi elementi za rukovanje i prekidač pogodno su raspoređeni i mogu se upotrebiti i u najvišem položaju rendgen zračnika. Podešavanje zračnika na objekt snimanja i centriranje na katapult buki-blendu je brzo i jednostavno. Svetlosni vizir dubinske blende osvetljava puno polje snimanja i jednim krstom označava sredinu snopa zračenja. Plafonski stativ se može koristiti za angiografiju, u kombinaciji sa buki stolom za slojno i zonografsko snimanje, u kombinaciji sa buki statom kao što je prikazano na našoj fotografiji itd.

Maksimalan opseg korišćenja, sigurnost, jednostavno rukovanje i elegantan izgled odlike su novog aparata PLAFOSTAT koji proizvodi Elektronska industrija.



ELEKTRONSKA INDUSTRIJA

**Grupacija medicinskih uređaja
i aparata — Sektor prodaje — Niš**

**SNIMAJTE KOLOROM I KORISTITE GA ZA RAZONODU
I STRUČNU DOKUMENTACIJU!**

FK

COLOR FILM NM 19 NEGATIV MASK



ZA SLIKE U BOJI

smotani film 6×9

35 mm film (20 ekspozicija)

Razvijanje filma i dostava uključeni u cijenu filma.

**FOTOGRAFIJE U BOJI NA COLOR
FOTO-PAPIRU VELIČINE**

9×9 i 9×12 cm (samo sa FK color negativa)

FK

COLOR FILM RD 17 REVERSAL

ZA DIAPOZITIVE

35 mm (36 ekspozicija)

U cijenu filma uključeno je razvijanje, uramljivanje i dostava u praktičnoj kutiji.

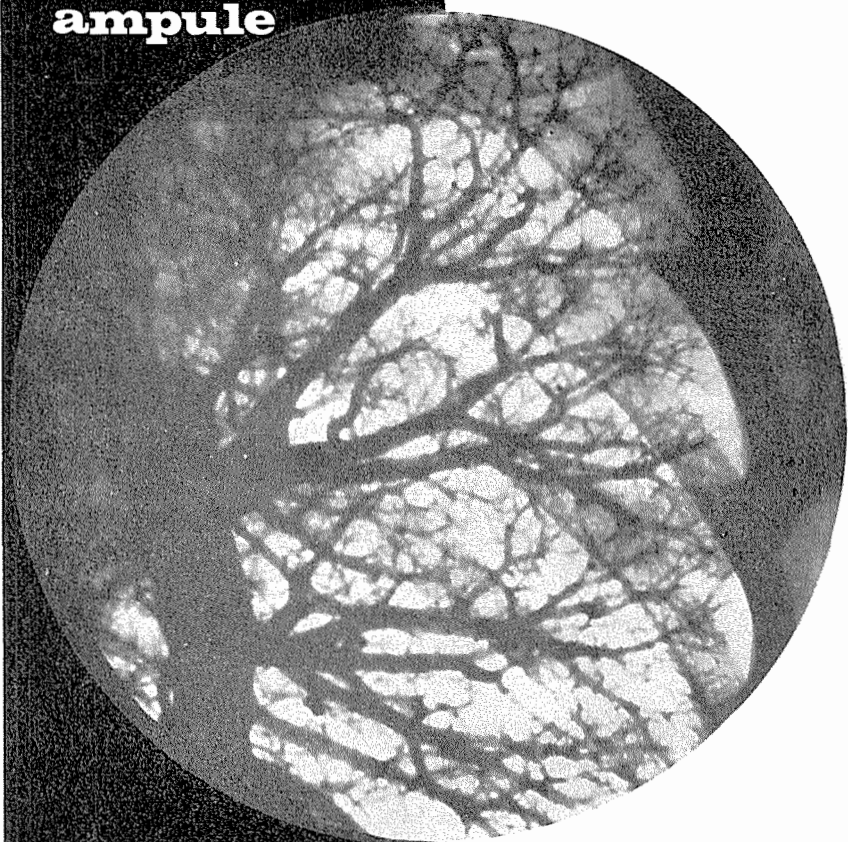
6×9 cm

U cijenu filma uključeno je razvijanje i dostava.

iodamid 300

iodamid 380

ampule



**trijodno kontrastno
sredstvo za parente-
ralnu i lokalnu
primjenu**

- intravenozna urografija
- pulmonalna angiografija
- cerebralna angiografija
- periferna arteriografija
- kavografija
- artrografija



KRKA · tovarna zdravil · Novo mesto

KREMA **DIANABOL**

DJELUJE ANTISEPTIČKI, ANABOLIČKI I NA TAJ NAČIN
UBRZAVA ZACJELJIVANJE RANA

KREMA **DIANABOL**

UBRZAVA ZARAŠTANJE POVRŠINSKIH OZLJEDA
I TVRDOKORNIH RANA

rane koje teško zarastaju
opekotine II i III stupnja
smrztotine II i III stupnja
rane nakon traumatiziranja (ogrebotine, laceracije...)
inficirani uglovi usta
ulkus kruris i dekubitus
oštećenja kože nastala nakon radioaktivna zračenja

OŽILJAK JE NAKON LIJEČENJA **DIANABOL** KREMOM
DOBRO ADAPTIRAN, KOZMETIČKI I ESTETSKI OBILI-
KOVAN.

TAJ USPJEH OSIGURAVAJU SPECIJALNO PRIPREMLJE-
NA PODLOGA I DJELOTVORNI SASTOJCI KREME

Najbolje je, da se Dianabol krema nanosi na ranu dva puta u
toku dana: ujutro i naveče. Obično je dovoljan sloj od pri-
bližno 2 mm debljine.

Proizvodi:



TOVARNA
FARMACEVTSKIH
IN KEMIČNIH
IZDELKOV

LEK
LJUBLJANA

v suradnji s CIBA-Geigy, Basel

N O V O

N O V O

**PREPARAT IZ VLASTITE PROIZVODNJE
TETRACIKLINSKIH ANTIBIOTIKA**

METACIKLIN

(METACIKLIN HIDROKLORID) KAPSULE

Široki antibakterijski spektar
produženo djelovanje

kod infekcija respiratornih organa, urogenitalnih organa, kože
i mekih tkiva, probavnih organa

O p r e m a :

16 i 100 kapsula po 150 mg

8 i 100 kapsula po 300 mg

P L I V A

ELEKTROMEDICINA

LJUBLJANA, KOMENSKEGA 12 — JUGOSLAVIJA

Tel.: hišna centrala 321 395, teh. sektor 310 762,
direktor 322 223

Telegram: Elektromedicina Ljubljana

Poštni predal 245

Podjetje za izdelavo ter popravila domačih in tujih
elektromedicinskih aparatov in instrumentov —
Zastopanje inozemskih firm — Opravljanje
zastopniških storitev

Proizvaja:

rentgen aparate s priborom in zaščito
aparate za fizioterapijo
aparate za laboratorije
aparate za dezinfekcijo in sterilizacijo

Vrši servis, remont in montaže:

rentgen aparatov in vseh drugih medicinskih aparatov

Zastopamo na področju SFRJ:

francosko firmo Thomson Medical Telco
92 — St Cloud (Paris)



ki proizvaja najmodernešje elektronske aparature
za zdravstvo:

- naprave za merjenje raznih parametrov pri
kontroli pacientov med operacijo pri
kateterizaciji srca in v drugih kritičnih trenutkih
- aparate sistema VIGIL za intenzivno nego
bolnika (tako imenovana elektronska medicinska
sestra)
- aparate sistema »CARDIOTOP« (sestav:
Kardioscop, Defibrilator in elektronski
kardiostimulator) za oživljanje pacientov na
mestu prometne nesreče, požara ipd.

Na željo vam pošiljamo prospekte in cenike,
dajemo navodila ter svetujemo pri nabavah
medicinskih aparatov

NAŠI STROKOVNJAKI SO VEDNO
PRIPRAVLJENI SODELOVATI Z VAMI

Podjetje za promet s farmacevtskim materialom

„Kemofarmacija“

Uvoz - izvoz

LJUBLJANA, Metelkova 7,

Poštni predal 143

Telefon: 312 333

Brzjav: Kemofarmacija, Ljubljana

Telex: Kemfar 31-334

Tekoči račun pri NB 501-1-221

Trguje na debelo z zdravili, obvezilnim materialom,
veterinarskimi pripomočki in kozmetiko

Izvršuje vse uvozne in izvozne posle: opremo za bolnišnice,
lekarne in laboratorije

KONTRASTNA SREDSTVA OD SCHERINGA
POJAM U ČITAVOM SVETU

BILOPTIN

za oralnu holecistangiografiju

UROVISON

ampule i gotov pribor za infuziju
za intravenoznu urografiju
za sve vrste angiografija:
niska viskoznost
kod visokog sadržaja joda

NOVO:

ANGIOGRAFIN

čista metilglukaminska so diatrizoata
za bolju podnošljivost kod angiografija

GASTROGRAFIN

za prikaz gastro-intestinalnog trakta
oralnim putem ili pomoću klizme

ENDOGRAFIN

za histerosalpingografiju,
fistulografiju i za prikaz šupljina

i već poznati preparati

BILIGRAFIN i

UROGRAFIN

Za pojedinosti kao što su sastav preparata, tehnika pregleda, kontra-indikacije i doziranje stoje na raspoloženju naši prospekti.

SCHERING AG BERLIN-BERGKAMEN

RADIOLOGIA IUGOSLAVICA

Časopis za rendgendiagnostiku, radioterapiju, nuklearnu medicinu,
radiobiologiju, radiofiziku i zaštitu od ionizantnog zračenja
Glasilo Udruženja za radiologiju i nuklearnu medicinu SFRJ
Izlazi četiri puta godišnje

Pretplata za ustanove 100 din, za ostale 30 din

I z d a v a č

Uprava udruženja za radiologiju i nuklearnu medicinu SFRJ
Adresa redakcije: Onkološki inštitut, Ljubljana, Vrazov trg br. 4
Broj čekovnog računa: 501-8-249/1

SDK — služba družbenega knjigovodstva — Ljubljana

Odgovorni urednik: prof. dr. Dimitar Tevčev,
Institut za radiologiju i onkologiju Klinička bolnica Skopje

Tiskarna Učnih delavnic Zavoda za slušno in govorno prizadete
v Ljubljani

120 RENDGEN FILMOVA RAZVITI, FIKSIRATI, ISPRATI I OSUŠITI U ROKU OD JEDNOG SATA

To možete lako postići rendgen aparatom za razvijanje PENTACON EAR. Ovaj automat, koji zahtijeva tek nešto više od $1/2 \text{ m}^2$ prostora stoji u osvetljenoj prostoriji, a svi elementi za rukovanje smješteni su na prednjoj ploči. Samo stražnji dio, za ulaganje, mora biti u tamnom prostoru. Redoslijed ulaganja je po želji tj. nije ovisan o veličini filma. Prednosti potpuno automatske obrade više su nego očite: veliki učinak po satu, rukovanje od strane jedne osobe, uvijek ujednačeno

dobri rezultati, potrebno malo prostora.

Rendgen automat za razvijanje PENTACON EAR za potpuno automatsku obradu mehanički čvrstih rendgen filmova u listovima — maksimalna širina filma 432, minimalna dužina 100 mm — automatsko zagrijavanje i regeneriranje kupki — dovod vode putem cijevnog priključka na kućni vod — električni priključak $3 \times 380 \text{ V}/50 \text{ Hz}$.

Nagrađeno zlatnom medaljom na Leipziškom proljetnom sajmu 1969 g.

PENTACON EAR

