

*A Szegei Orvostudományi Egyetem Szemészeti Klinikájának
(igazgató: Kahán Ágost egyetemi tanár)
és II. Belgyógyászati Klinikájának
(igazgató: Cserhádi István egyetemi tanár) közleménye*

A hyalocyták macrophag tulajdonságainak vizsgálata

HAMMER HELGA, NYIRI SÁNDOR
és ZÖLLEI MAGDOLNA

Az üvegtest kérgi részén homogén populációt alkotó hyalocyták morphologiai, biokémiai és funkcionális tulajdonságait *Balázs* és *mtsai* vizsgálták a legrészletesebben [1, 10, 11]. E sejteket ma általában microglia eredetűnek tartják, és így a mesenchymalis-macrophag rendszerből származtatják [7, 12]. *Freeman* és *mtsai* izotóppal jelölt macromolekulák segítségével végzett vizsgálatai szerint a hyalocyták egyik legfontosabb feladata a hialuronsav, a szulfatált glükozaminoglikánok, a glükoproteinek és a nukleinsavak lebontása [2].

A legutóbbi időben *Grabner* és *mtsai* autopsiás anyagból származó humán hyalocyták biokémiai és membrán tulajdonságainak a vizsgálata alapján ezeket a sejteket az érett mononuclearis phagocytá rendszerhez sorolták [3].

A jelen munka során szarvasmarha üvegtestből izoláltunk hyalocytákat, és a monocytá-macrophag sejtekre jellemző cytotokémiai és immunológiai sajátosságait vizsgáltuk.

Módszerek

Hyalocytá preparálás

Vizsgálatainkhoz alkalmanként 20 marhaszemből preparáltunk hyalocytákat. Az állatokat közvetlenül a leölés után enucleáltuk, és a szemeket azonnal a laboratóriumba szállítottuk. A bulbust sagittalisan felmetszettük, és a sclera, a chorioidea, valamint a retina eltávolítása után az üvegtest corticalis részét használtuk fel. Az így nyert üvegtestet azonos mennyiségű fiziológiás sóoldatban mágneses keverővel 30 percig roncoltuk. Ezt követően a suspensiót Ficoll-Uromiro gradiensre [9,56 g Ficoll (Pharmacia; Uppsala), 80 ml Uromiro (Bracco; Milánó), 130,4 ml deszt. víz] rétegeztük, és 20 percig szobahőmérsékleten 800 g-vel centrifugáltuk. A közti fázist leszívtuk, a benne található sejteket fiziológiás sóoldattal mostuk, majd 20 percig szobahőmérsékleten Petri-csészében üleptítettük. A nem üveg adherens sejteket elöntöttük, az üveghez tapadó hyalocytákat pedig 0,01 mol EDTA-t tartalmazó foszfát pufferrel felszabadítottuk, majd mostuk. Vizsgálatainkhoz az így nyert sejt suspensiót használtuk. A sejtek életképességét tripán kék exklúziós teszt segítségével vizsgáltuk. Végül 2×10^7 /ml hyalocytát tartalmazó suspensiót készítettünk.

Cytokémiai vizsgálatok

A fenti hyalocytá suspensióból kenetet készítettünk, amelyek egy részét PAS-festéssel megfestettük [8], másik részének pedig aspecifikus észteráz (alfanaftilacetát észteráz) aktivitását vizsgáltuk [9].

A nitrobluetetrazolium (NBT) redukció vizsgálata

Az NBT redukciós aktivitást a *Kaplan* és *Finch* által leírt módon vizsgáltuk [5]. A hyalocytákat zimozánnal stimuláltuk, a reakció során keletkező for-

mazánt kloroform-metanollal extraháltuk, és a színintenzitást fotometriásan mértük.

A phagocytosis vizsgálata

A phagocytosist a *Lehrer* és *Cline* által leírt módon vizsgáltuk [6]. A hyalocyta suspensióhoz *Candida albicans*t és kevert humán szérumot adtunk, és 1 órás inkubálás után mikroszkóp alatt számláltuk a phagocytált élesztő sejteket.

A Candida killing aktivitás vizsgálata

A *Candida* killer aktivitást a *Lehrer* és *Cline* által leírt eljárást kissé módosítva vizsgáltuk [6]. A hyalocyta suspensióhoz élő *Candida albicans*t és kevert humán szérumot adtunk. Egy órás inkubálás után a hyalocytákat 1%-os Triton X100 oldattal feltártuk, majd az elölt élesztő sejteket metilén késsel megfestettük, és a festődő sejtek arányát mikroszkóp alatt számláltuk.

A C3 receptor hordozás vizsgálata

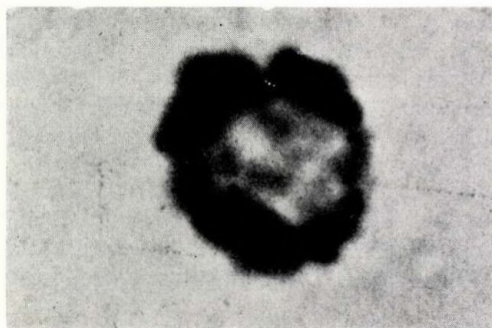
A C3 receptor hordozást komplementtel borított zimozán szemcsék segítségével, a *Huber* és *Wigzell* által leírt módon, rosetta eljárás segítségével mutattuk ki [4].

Az Fc-receptor hordozás vizsgálata

Az Fc-receptor hordozást nyúlban termelt haemolysinnel szenitizált birka vörösvértesteket alkalmazva, hagyományos rosetta technika segítségével mutattuk ki.

Eredmények

Az általunk alkalmazott eljárással 1—1 szemből átlagosan $5—10 \times 10^6$ hyalocytát preparáltunk, amelynek 90—96%-a tripán késsel nem festődő, élő sejtnak bizonyult. E sejtek PAS-pozitívak voltak, és aspecifikus észteráz aktivitással rendelkeztek (1. ábra).



1. ábra. Alfa-naftilacetát észteráz pozitív hyalocyta

A membrán marker tulajdonságok vizsgálatakor a hyalocyták C3 és Fc-receptor hordozó sejteknek bizonyultak. A funkcionális tulajdonságok vizsgálata alkalmával azt találtuk, hogy 100 sejt 75—84 opsonisált *Candida albicans*t phagocytál. Kísérleti körülményeink között a *Candida* killing index 32—39% volt, és a sejtek kifejezett NBT redukációs aktivitással rendelkeztek ($6,8 \times 10^{-15}$ mol formazán/hyalocyta).

A macrophag-monocyta rendszer sejtjei a keringésen kívül a májban, a lépben, a nyirokszervekben, a thymusban, a csontvelőben, a vesében, a szívben és a bőrben egyaránt megtalálhatók. Legismertebb funkciójuk a microorganismusok, a corpusculumok és az immunocomplexek phagocytosisa. Az utóbbi években tisztázódott, hogy emellett nélkülözhetetlenek az immunreakciók megindításában, a T-lymphocyták aktiválásában és az immunregulációban.

Vizsgálataink során a marhaszemből izolált hyalocyták PAS és alfa-naftilacetát észteráz pozitív sejteknek bizonyultak, amelyek C3 és Fc-receptorral rendelkeznek, képesek az élesztő sejteket phagocytálni és a felvett *Candida albicans*t oxidációs mechanizmusok segítségével elpusztítani, azaz jellegzetes macrophag tulajdonságokkal rendelkeznek. Eredményeink az enzim aktivitás és a felszíni receptorok vonatkozásában teljesen megegyeznek Grabner és mtsai humán autopsiás szemből izolált hyalocytákon végzett vizsgálatainak az eredményével, a *Candida albicans* phagocytosist és a felvett microorganismus intracellularis elpusztítását azonban ők nem vizsgálták [7].

A hyalocyták microorganismust phagocytáló és azokat elpusztító képessége, valamint az aggregált IgG Fc-fragmentjét és a C3 komplement komponenst felismerő receptorának a létezése azt bizonyítja, hogy ezek a sejtek nemcsak az üvegtest katabolizmusában vesznek részt, hanem minden valószínűség szerint szerepük van az üvegtestbe jutó kórokozók és corpuscularis elemek elpusztításában, illetve a megfelelő immunologiai folyamatok megindításában.

Az immunopharmacologia rohamos fejlődése következtében a macrophag funkciók befolyásolása talán már nem a távoli jövő reménye. Ez pedig új utat jelenthet az üvegtest betegségei vagy az üvegtestet is érintő kóros folyamatok terápiája szempontjából.

Összefoglalás

A szerzők marhaszemből hyalocytákat izoláltak. A hyalocyták PAS pozitív sejteknek bizonyultak, amelyek a nitrobluetetrazoliumot redukálják, alfa-naftilacetát észteráz aktivitással rendelkeznek, Fc és C3-receptort hordoznak, in vitro phagocytálják a *Candida albicans*t és a phagocytált élesztő sejteket intracellularisan elpusztítják.

IRODALOM: 1. Balázs, E. A., Toth, L. Z., Eckl, E. A. és Mitchell, A. P.: Exp. Eye Res. 3, 57 (1964). — 2. Freeman, M. I., Jacobson, B. és Balázs, E. A.: Exp. Eye Res. 29, 479 (1979). — 3. Grabner, G., Boltz, G. és Förster, O.: Invest. Ophth. Vis. Sci. 19, 333 (1980). — 4. Huber, Ch. és Wigzell, H.: Eur. J. Immunol. 5, 432 (1975). — 5. Kaplan, S. S. és Finch, S.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 134, 287 (1970). — 6. Lehrer, R. I. és Cline, M. J.: J. Bacteriol. 98, 996 (1969). — 7. Lopez, E. M. és Costero, I.: Bol. Soc. Espan Hist. Natural. 31, 425 (1931). — 8. Pearse, A. G. E.: Histochemistry. Theoretical and applied. New York, 1968. Churchill Livingstone, p. 307. — 9. Schmalzl, F. és Braunsteiner, H.: Klin. Wschr. 46, 642 (1968). — 10. Szirmai, J. A. és Balázs, E. A.: Arch. Ophthalmol. 59, 34 (1958). — 11. Toth, L. Z., Balázs, E. A. és Eckl, E. A.: Am. J. Ophthalmol. 47, 101 (1959). — 12. Vrabee, F.: Ann. Oculist (Paris) 202, 561 (1969).

X. Хаммер, Ш. Нири, М. Зёллеи: Изучение макрофагных свойств гиалоцитов

Авторы изолировали гиалоциты из глаз крупного рогатого скота. Гиалоциты оказались PAS-положительными клетками, которые редуцируют нитро-синий тетразолин, обладают активностью альфа-нафтилацетатной эстеразы, являются носителями Fc- и C3-рецепторов, in vitro фагоцитируют *Candida albicans* и внутриклеточно уничтожают фагоцитированные дрожжевые клетки.

Hammer H., Nyiri S., Zöllei M.: *Examination of the macrophag properties of hyalocytes*

The hyalocytes were isolated from bovine eyes. The cells proved to be PAS positive, and were reducing nitro-blue tetrazolium—possessed alpha-naphthyl-acetate esterase activity, and Fc and F₃ receptors—were phagocytizing in vitro *Candida albicans* and were destroying the phagocytized yeast cells.

Helga Hammer, S. Nyiri und Magdolna Zöllei: *Untersuchung der Makrophageigenschaften der Hyalozyten*

Die aus Rindenaugen isolierten Hyalozyten erwiesen sich als PAS-positive Zellen; durch diese, über eine Naphthylazetat-Esteraseaktivität verfügende, Fc- und C3-Rezeptoren tragende Zellen werden das Nitroblue-Tetrazolium reduziert, die *Candida albicans* in vitro phagozitiert und die phagozitierten Hefezellen intrazellulär zerstört.