

304.447

VII

BIOLÓGIAI KÖZLEMÉNYEK

A MAGYAR BIOLÓGIAI TÁRSASÁG
ÁLTALÁNOS BIOLÓGIAI SZAKOSZTÁLYÁNAK FOLYÓIRATA

Szerkesztő
FALUDI BÉLA

XIV. kötet

I. füzet



AKADÉMIAI KIADÓ, BUDAPEST 1966

2

A Biológiai Közlemények a Magyar Biológiai Társaság Általános Biológiai Szakosztályának folyóirata. Megjelenik évente két füzetben. Közli a Szakosztály tárgykörébe tartozó (szármasztan, fejlődéstan, genetika, kísérleti biológia) dolgozatokat. A kéziratokat

Biológiai Közlemények Szerkesztősége
Budapest VIII., Múzeum krt. 4/a

címre kérjük beküldeni.

A kéziratok elkészítéséhez a Szerkesztőség — előzetes kérésre — *Útmutatót* bocsát a szerzők rendelkezésére. **Felhívjuk t. Szerzőink figyelmét, hogy 1960 januártól lapunkat új, korszerűbb szabvány szerint szerkesztjük.** Folyóiratunk egységes technikai kivitelezése érdekében *kizárólag az útmutató figyelembevételével készült munkákat fogadhatunk el.*

A Biológiai Közleményekben megjelent cikkekért minden szerzőt 100 különlenyomat és ívenként 400 Ft tiszteletdíj illet meg.

BIOLÓGIAI KÖZLEMÉNYEK

A MAGYAR BIOLÓGIAI TÁRSASÁG
ÁLTALÁNOS BIOLÓGIAI SZAKOSZTÁLYÁNAK FOLYÓIRATA

Szerkesztő
FALUDI BÉLA

XIV. kötet

I. füzet



AKADÉMIAI KIADÓ, BUDAPEST 1966

MAGYAR
MUDOMÁNYOS AKADÉMIA
KÖNYVTÁRA

Szerkesztő bizottság:

GUBA FERENC, GYÓRFFY BARNA, HORVÁTH JÁNOS
KISZELY GYÖRGY, TÖRÖK LÁSZLÓ

Technikai szerkesztő:

BALÁZS ANDRÁS

A HARÁNTCSÍKOLT IZOM MIOFIBRILLUMAI ULTRASTRUKTÚRÁJÁNAK VÁLTOZÁSAI A FEHÉRJÉK SZELEKTÍV KIOLDÁSA SORÁN

GUBA FERENC, HARSÁNYI VERONIKA, VAJDA ERZSÉBET

(Technikai munkatársak: JAKAB GYÖRGYI, JÁKY PIROSKA, SZIVESSY KLÁRA)

(MTA Kémiai-Szerkezeti Kutató Laboratórium, Budapest)

Beérkezett: 1965 december 15-én

Bevezetés

Az anyageloszlás inhomogenitása a miofibrillumokban már régóta ismert, fény- és elektronmikroszkópos módszerekkel behatóan tanulmányozott kérdés.

A miofibrillum anyagainak lokalizációját — izolált miofibrillumokon — részletesen vizsgálta Huxley és Hanson [13] interferencia mikroszkóppal, majd vizsgálataikat a fehérjék kioldásával kapcsolták össze [14]. Ezen vizsgálataikból vonták le azt a következtetést, hogy a miozin az A szegmentumban helyezkedik el, és az aktin eltávolításával a fehérjék nagy többsége kioldódik. A visszamaradó csekély anyagmennyiséget tartalmazó szerkezetet a Z membrán tartja össze. Saját — izolált miofibrillumokon végzett — régebbi elektronmikroszkópos vizsgálataink is megerősítették azt az elképzelést, hogy a miozin fő tömegében az A szegmentumban van [5].

A fehérje lokalizáció tanulmányozására más módszerek is alkalmasak. Antitestek megkötődése a miofibrillumon fáziskontraszt mikroszkóppal, ill. fluoreszcens antitestek alkalmazásával fluoreszcencia mikroszkóppal vizsgálható [23, 19, 1]. Az antitestbe beépített nehézfém segítségével a megkötődés elektronmikroszkóposan is követhető [17, 23]. Az antitestekkel végzett vizsgálatok alátámasztják az interferencia és elektronmikroszkópos megfigyeléseket, vagyis a miozin A szegmentumban való elhelyezkedését, valamint a mero-miozinok és az aktin lokalizációjára is következtetni engednek.

A kontrakció alkalmával bekövetkező anyagvándorlás antitestes módszerrel szintén követhető.

Elektronmikroszkópos hisztokémiai módszerekkel az ATP-áz aktivitás lokalizációját lehet tanulmányozni.

Ilyen irányú vizsgálatok történtek szívizmon [20], patkány diafragmán [16] és rovarszárnyizmon [21]. Ezen vizsgálatok szerint az ATP-áz aktivitás relaxált miofibrillumokban a H, I és Z szakaszokon nem mutatkozik, az A szakaszban jelentkezik, és pedig periodikusan [20], (365 Å), ill. a primér filamentumokból kiinduló haránthidokban [21]. Mikroincinerációs vizsgálattal a fémek elhelyezkedését tanulmányozzák. Így kimutatták az A szakasz relatív magas K^+ tartalmát [22], majd tanulmányozták az alkáli földfémek (Ca^{++} , Mg^{++}) eloszlását a relaxált és kontrahált állapotú miofibrillákban [4].

Mikrospektrofotométer segítségével az I szegmentumban foszfolipidet és nukleotidot mutattak ki [3].

Izolált fonalrendszereken és az izolált fehérjéken végzett összehasonlító vizsgálataikból Huxley [15], ill. Hanson és Lowy [11] azt a következtetést vonják le, hogy a primér fonalakat miozin, a szekundér fonalakat pedig aktin építi fel. A szekundér fonalakat tropomiozin jelenlétét lehetségesnek tartják. Az elektronmikroszkópos technika, különösen a fixálás, beágyazás és metszés technikájának nagyarányú fejlődése lehetővé tette, hogy szelektíven kioldott anyagokat metszetben lehessen vizsgálni.

A biokémiai kioldásoknál aprított izom vagy izolált miofibrillum szolgál kiindulási anyagként. Elektronmikroszkópos célra az anyagszükséglet csekély, de jól definiált és orientált mintára van szükség.

A kémiai vonatkozásban használt oldószer mennyiségek és a kioldás időtartamának megválasztását változtatni kell az elektronmikroszkópos preparációs technika kívánalmainak megfelelően.

Régebbi [12] szelektíven kioldott anyagaink elektronmikroszkópos vizsgálatából következtettünk arra, hogy a miozin és aktin kivonása után a teljes szarkoméren végigfutó fonalas szerkezet marad vissza [6]. E szerkezetben található fehérjét izoláltuk, fizikai-kémiai sajátságait jellemeztük [7, 8, 10] és fibrillinnek neveztük el, utalva az alapvető fonalas szerkezetben játszott szerepére.

Jelen közleményünkben a fibrillinnel kapcsolatos megállapításainkat támasztjuk alá és a fehérje-kioldás elektronmikroszkópos követésével következtetni igyekszünk a struktúrát felépítő fehérjék lokalizációjára.

Kísérleti anyagok és módszerek

Kísérleti anyagunk nyúl relaxált m. psoasa, glicerinezett psoas és izolált miofibrillum volt.

Az izomból 1–3 mm átmérőjű, 20–30 mm hosszú szeleteket vágunk és fapálcikákhoz rögzítettük.

A fehérjék kioldását a megfelelő oldószer 100×-os térfogatával különböző ideig végeztük, mágneses keverést biztosítva, 0–5 C° között.

1. Használt oldószer

Hasselbach—Schneider oldat: 0,47 M KCl, 0,01 M KH_2PO_4 , 0,01 M $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ pH = 6,1–6,3.

ATP-Aszkorbinsav: 0,2 mM ATP, 0,2 mM Aszkorbinsav, pH = 7,0–7,4,

0,4% NaHCO_3 .

KJ: 1,0 M KJ, 0,01 M $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$, 0,01 M Na_2HPO_4 , 0,01 M ATP. pH = 7,5.

2. Elektronmikroszkópos preparálás

A fixálás 2 órán át glutaraldehyd 3%-os oldatával (1/15 M foszfát puffer pH = 7,2–7,4), majd 2%-os OsO_4 oldattal (0,1 M veronál-acetát puffer pH = 7,0–7,2) történt szobahőmérsékleten, 1 óra hosszat.

A dehidrációt alkohollal végeztük, majd a propilénoxidos előkezelés után epon gyanta keverékbe ágyaztunk be. A kioldott izomszeletek fixálása után a

beágyazást orientáltan tudtuk elvégezni. Izolált miofibrillumokkal végzett kioldások után azokat centrifugálással tömörítettük, majd az előbbieket szerint preparáltuk, az orientáció biztosítása nélkül.

A metszést részben házi készítésű ultramikrotommal, részben Sorvall Porter—Blum MT—2-es ultramikrotommal végeztük. A metszeteket vagy Pb-citráttal festettük Reynolds [18] szerint, vagy kettős UO_2 -acetát, Pb-acetát festést alkalmaztunk. Az elektronmikroszkópos vizsgálatokat Hitachi HU—10 elektronmikroszkóppal, 75 kV gyorsító feszültség mellett végeztük. A negatív anyag Agfa diapositív Hart-lemez volt. A nagyítás mérés kalibrálását 1880 Å-s polistirollal végeztük.

3. Fehérje kimutatás

A miozin kioldását a kioldott fehérje és a visszamaradó anyag ATP-áz aktivitásának mérésével követtük. (A miozin aktivitásának megőrzésére a használt sóoldatok 10^{-4} M merkapto-etanolt tartalmaztak.)

A visszamaradó ATP-áz aktivitást a pálcákra kötött anyaggal, valamint az anyag egy részének pálcáról való leválasztása, majd blendorozása után követtük. A kétféleképpen végzett ATP-áz aktivitás mérése közt lényeges eltérés nem mutatkozott.

Az aktin eltávolításának ellenőrzésére a kioldás után visszamaradt anyagból NaHCO_3 -s és dv-es mosás után acetonnal szárász port készítettünk, és ebből kivonható fehérjét vizsgáltuk. Az aktin az izomstruktúrából rendkívül nehezen távolítható el, nyomokban még sokszor ismételt kivonás után is visszamarad. Glicerinnel kezelt izomból a kivonást hasonlóan végeztük el, de ugyanazt a kioldási hatást itt rövidebb idő alatt értük el, mivel az oldószer nagyobb áthatoló képessége biztosított az előkezelés miatt.

Kísérleti eredmények

A kioldás hatását a miofibrillum szerkezetére mindig a kontrollanyaghoz képest vizsgáltuk. Az 1. ábrán bemutatjuk a kontroll relaxált miofibrillumok harántmetszeti képét. A relaxált miofibrillumok hosszmetseti képe a 2. ábrán látható. A kezeletlen relaxált izom ultrastruktúrájára vonatkozó észrevételeinket más helyen már részleteztük [9].

1. A miozin kioldásának hatása

Az I. táblázat tartalmazza a H-S oldattal történt fehérje-kivonások miozinra vonatkozó adatait. A miozin a harántcsíkolt izom összfehérjéinek 38%-át teszi ki.

A miozin kioldásának előrehaladásával az A szegmentum elektronszóró képessége fokozatosan csökken, a primér és szekundér fonalrendszer elkülöníthetősége megszűnik. A 3. ábrán látható, hogy végigfutó fonalrendszer marad. Úgy látszik, hogy a Z membránból — mely a kioldásokkal szemben a legnagyobb ellenállást mutatja — a szarkomér közepe felé mindkét irányba fonalak indulnak ki. A Z membrán mint középső rész rögzíti a kéveszerű képződményeket.

I. táblázat

A miozin kivonásának adatai

Fehérje kivonás	Miozin mennyisége a kioldott összfehérje %-ában	A rendszerben visszamaradt miozin % (össz. miozin %-ában)
H-S I.	31,5	17,0
H-S II.	5,0	4,0
H-S III.	1,0	1,0
H-S IV.	0,5	0,0
összesen:	38,0	—

Ezek hossza állandó érték, $1,2 \mu$ körül van. Bizonyos esetekben a kötegek fonalain $300-400 \text{ \AA}$ -s harántperiodicitás figyelhető meg.

A kéveszerű képződményeket egymástól a volt H-szakasz választja el, melyen különböző vastagságú fonalak haladnak át. Úgy látszik, hogy 2-féle filamentum van; egyik végigfut a teljes szarkoméren, a másik végződik a kötegek szélén (4. ábra). A kéveszerű képződményeket egymástól elválasztó rész mérete a szarkomér hosszával változik. Úgy tűnik, hogy ez a rész erősen nyújtható komponenst tartalmaz (4. ábra).

Az 5. ábrán és a 6. ábrán hossz-, illetve harántmetszeti képen szemlél-tetjük a Z membrán stabilitását a miozin kioldására használt oldószerekkel szemben.

A miozin kivonása után visszamaradt anyag harántmetszeti képein megfigyelhető a kettős filamentáris rendszer felbomlása már a kioldás kezdeti szakaszában is (7. ábra).

További kioldás változást okoz a filamentumok méretében. A primér fonalak elvékonyodnak, eredeti vastagságukat csak a volt H szakaszban tartják meg. Találunk olyan szakaszokat, melyek csak vékonyabb fonalakat tartalmaznak (8. ábra). A vastagabb fonalak a szarkomér középső részén találhatóak. Itt a fonalak $1 \mu^2$ -ra eső száma 650 SD 50, egymástól való távolságuk 400 SD 50 \AA . A fonalak átmérője $100-170 \text{ \AA}$ között változik. A fonalak valószínűleg összetettek, azonban a kezeletlen izomban nyilvánvaló tubuláris elrendeződésük és szubfilamentáris szerkezetük kevésbé ismerhető fel.

A vékonyabb fonalrendszer $1 \mu^2$ -ra vonatkoztatott száma 2000 SD 200. Elrendeződésük emlékeztet a kontrollanyag A-I átmeneti szakaszára. A fonalak átmérője kb. 60 \AA .

2. Az aktin kioldásának hatása

A II. táblázat tartalmazza a kioldott aktin, ill. a rendszerben a kioldás után visszamaradt aktin mennyiségét.

Az aktin részleges vagy teljes kivonása (ATP-aszkorbinsav, ill. $0,1 \text{ M}$ KCl oldattal) nem jár a hosszanti fonalas szerkezet felbomlásával, de a kont-rasztosság további csökkenését eredményezi.

A Z membrántól kiinduló fonalak a szarkomér közepén vastagabb (kb. 100 \AA) fonalakba mennek át, amelyek vékonyabbakból összetettnek látszanak (9. ábra). Az aktin teljes kivonása után rendkívül vékony (kb. 40 \AA átmé-

II. táblázat

Az aktin kivonásának adatai

Fehérje kivonás	Aktin mennyisége a kioldott összfehérje %-ában	A rendszerben visszamaradt aktin % (össz. aktin %-ában)
ATP-aszk.-savas blend.I	3,0	80,0
ATP-aszk.-savas blend. II.	8,0	27,0
0,1 M KCl	1,0	20,0
összesen:	12,0	20,0

rőjű) fonalakkból álló, de a teljes szarkoméren végigfutó fonalas rendszer marad vissza. Ezek a fonalak rendkívül nehezen festődnek.

A harántmetszeti kép is a fonalrendszerek közötti különbség fokozatos eltűnését mutatja (11. ábra).

A fonalak eloszlása a szarkomér egyes részein nem egyenletes, ezért felülethez közelebb eső számuk meghatározhatósága bizonytalan.

3. A fibrillin kioldása

További KJ oldattal történő fehérje-kioldás következtében a rendezett struktúra teljesen felbomlik.

Megbeszélés

A kioldás változást hozhat létre a struktúrában és az eredeti felépítés megbontása miatt átrendeződés következhet be.

Ezért a fehérjék lokalizációjára és a makromolekuláris szerkezet kialakításában betöltött szerepükre vonatkozó megállapításainkat igen óvatosan kell megtennünk.

Vizsgálataink tehát összehasonlító jellegűek.

Meg kell jegyeznünk, hogy a kiindulási anyag fehérjetartalma magas, a rendelkezésre álló teret teljesen kitölti (9).

A kioldások következtében a rendszer fehérjetartalma csökken, emiatt a térszerkezet megváltozása is valószínű.

Tekintetbe kell venni a fonalrendszereket felépítő fehérjék különböző anyagi minőségét is.

A fehérje-kioldás miatt tehát részben más szerkezetű, részben más minőségű anyag kerül fixálásra (ez a fehérje kicsapásával egyértelmű), majd beágyazásra és metszésre.

Említett szempontokat figyelembe véve vizsgálatainkból az alábbiakat következtetjük:

1. A fehérjék kioldása az egész miofibrilláris szerkezet kontrasztosságának fokozatos csökkenésével jár, és nem okozza egyes szerkezeti elemek eltűnését. Ez arra mutat, hogy a szerkezet kialakításában a fehérjék egymással összekapcsolódva, bonyolult módon vesznek részt.

2. A struktúrfehérjék között legnagyobb mennyiségben előforduló miozin kioldása a szerkezetben mélyreható változásokat okoz. A hexagonális

elrendeződés felbomlása már a kioldások kezdeti szakaszán annak bizonyítéka, hogy a kezeletlen izomban található hexagonális elrendeződés a miofibrilláris fehérjék teljes térkitöltésének következménye.

Irodalmi adatokkal egyezően az A szegmentum kontrasztossága csökken, a szarkomér középső része (volt H szakasz) a legkisebb anyagtartalmú lesz. Ez a rész nagyfokú nyújthatóságot mutat.

A Z membrán két oldalán található kéveszerű képződmény az izolált I szegmentumokkal nagy hasonlóságot mutat (15) és adott méretűnek látszik. A Z membrán mellett mindkét oldalon gyakran 1—1 csík látható, mely a kéveszerű képződményhez képest több anyagot tartalmaz (3. ábra).

Harántmetszeti képeken — ha a primér fonalak csupán miozinból épülnének fel — a miozin kivonása után a primér fonalaknak hiányozniuk kellene a szerkezetből. A képeken azonban találunk „primér fonal” átmetszeteket a miozin kivonása után is. A fonalak egymástól való távolsága nagyobb, mint a nem kioldott szerkezetben. Elrendeződésük a hexagonálisból inkább tetragonálissá alakul át (7. ábra). Festhetőségük csökkent. Ezt a szerkezetet feltehetően a kéveszerű képződmény szélső részének átmetszetei mutatják.

A harántmetszeti képen találunk olyan részeket is, ahol egységes méretű fonalak átmetszete látható (8. ábra). A fonalátmérő az eredeti primér és szekundér fonalak átmérője közé eső adat.

A felületegységre eső fonalszám a csak vastagabb fonalakat tartalmazó helyekhez képest kb. háromszoros.

A miozin kioldásával tehát a primér fonalak nem tűnnek el a szerkezetből, hanem fellazulnak és denzitásuk csökken. A szekundér fonalak fellazulása és denzitás-csökkenése szintén megfigyelhető.

3. Az aktin kivonása sem szünteti meg a filamentáris struktúrát. Egyenletes, a teljes szarkoméren végigfutó fonalas rendszer marad vissza. Az elektronmikroszkópos festhetőség tovább csökken. A fonalak felületegységre eső számának meghatározása sajnos bizonytalanra válik. További kísérletek szükségesek ennek megállapítására, ui. a számadat feleletet adhat arra a kérdésre, hogy a fibrillin melyik eredeti filamentáris szerkezettel van szorosabb kapcsolatban. A festődési viszonyok arra látszanak utalni, hogy a primér fonalak nehezen festődő magját alkothatja. Ez összhangban lenne azzal, hogy az elektronmikroszkópban látható primér fonalak nem szakadnak meg az A—1 szegmentum határon (2, 9).

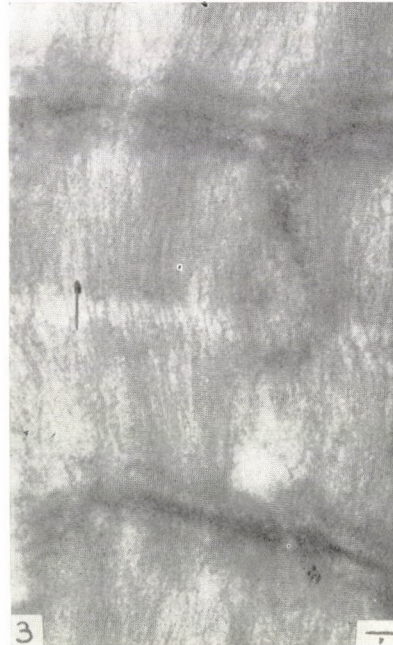
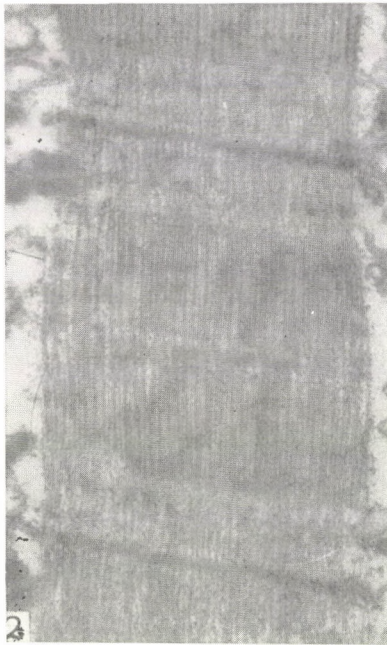
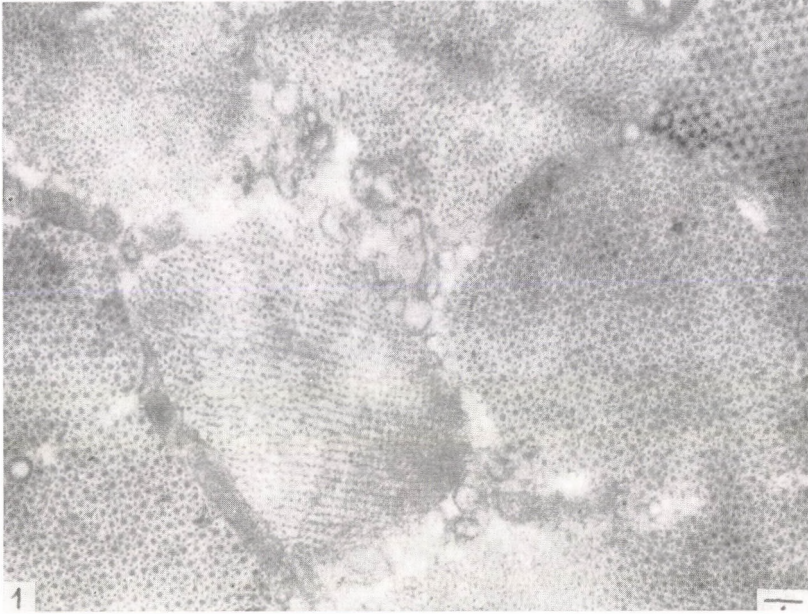
4. A fonalas rendszer a fibrillin kivonása után felbomlik.

Összefoglalás

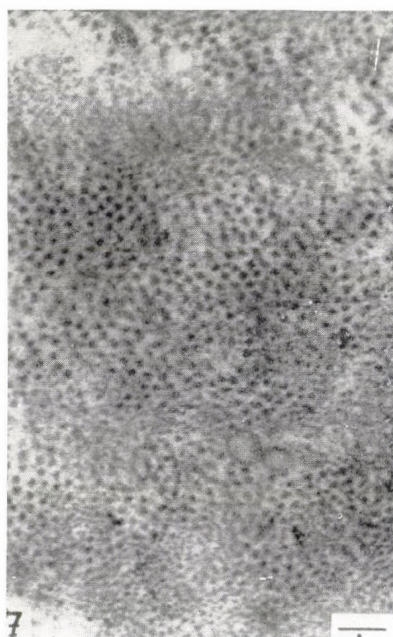
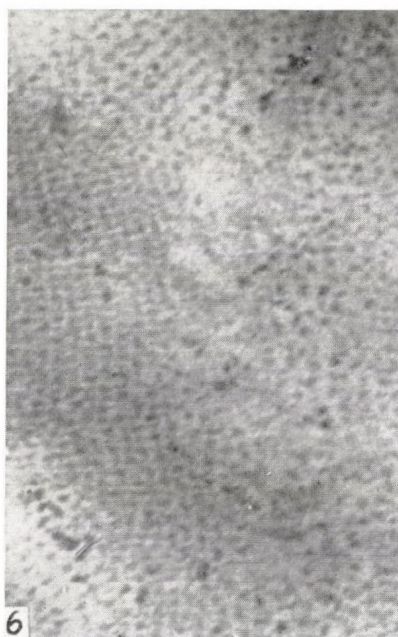
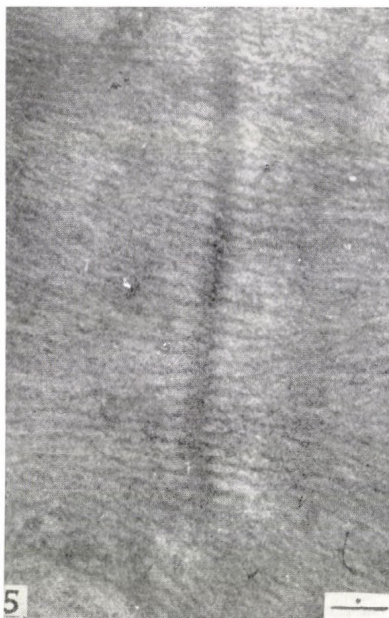
Fehérje-kioldási vizsgálataink elektronmikroszkópos követéséből arra következtethetünk, hogy a szarkoméren végigfutó filamentáris szerkezet alapját a fibrillin fehérje képezi.

Valószínűleg ehhez az elasztikus rendszerhez kapcsolódik a miozin az A szegmentumban.

Az aktint tartalmazó fonalak a Z membrántól kiindulva kéveszerű elrendeződést mutatnak a végigfutó fonalak között.



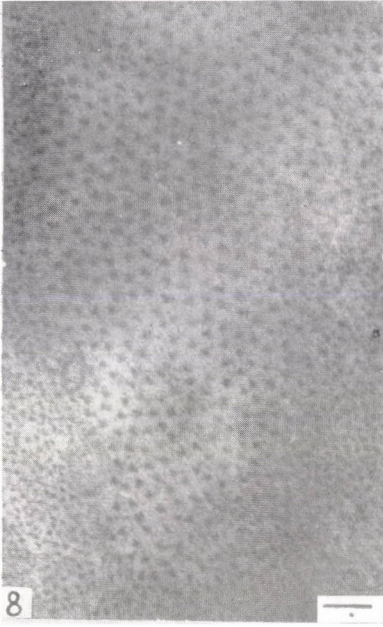
1. *ábra.* Kezeletlen, relaxált állapotú miofibrillum harántmetszete
2. *ábra.* Kezeletlen, relaxált állapotú miofibrillum hossz metszete
3. *ábra.* A miozin kivonása után kéveszerű képződmény és végigfutó filamentáris rendszer látható



4. ábra. A kéveszerű képződményeket egymástól a volt H szakasz választja el. E szakasz mérete a szarkomér hosszától függ és úgy látszik, hogy nagymértékben elasztikus komponenst tartalmaz

5. és 6. ábra. A Z membrán stabilitása a miozin kivonására használt oldószerekkel szemben látható hossz-, ill. harántmetszeti képen

7. ábra. A hexagonális elrendeződés és a fonalak méretkülönbségének elmosódása látható a miozin kivonása után



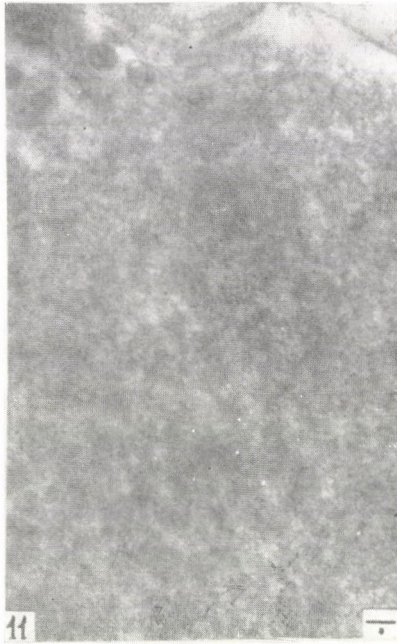
8



9



10



11

8. *ábra.* Miozin kivonás után találunk egyöntetűen vastagabb és vékonyabb fonalakat tartalmazó szakaszokat
9. *ábra.* Az aktin részleges eltávolítása után a Z membránból kiinduló fonalak a szarkomér középső részén megvastagodnak
10. *ábra.* Az aktin teljes kivonása után a szarkoméren végigfutó rendszer marad vissza, mely közelítőleg 40 Å átmérőjű fonalakból áll
11. *ábra.* Aktin kivonás utáni maradék harántmetszeti képe. A fonalak eloszlása egyenetlen

IRODALOM

1. ARONSON, J. F., (1965) The Use of Fluorescein Labelled HMM for the Cytological Demonstration of Actin. *J. Cell Biol.* 26. 293—298.
2. AUBER, J., és COUTEAUX, R., (1963) Ultrastructure de la Strie Z dans les Muscles des Dip-tères. *J. Microscopie.* 2. 309—324.
3. CASPERSSON, T., és THORELL, B. O., (1942) The Localization of the Adenylic Acids in Striated Muscle Fibers. *Acta Physiol. Scand.* 4. 97—108.
4. DRAPER, M. H., és HODGE, A. J., (1949) Studies on Muscle with the Electron Microscope. *Australian J. expl. Biol. Med. Sci.* 27. 465—482.
5. GUBA, F., Some Electron Microscopical Observations on Striated Muscle (1956) *Proc. Elmi. Conf. 1954. London.* Royal Microscopical Soc. London. 582.
6. GUBA, F., HARSÁNYI, V., és VAJDA, E., (1964) On the Basic Filamentous Structure of Striated Muscle. *Proc. Elmi. Conf. 1964. Prague. B. Publ. House of the Czechoslovak Acad. Sci. Prague.* 1964. 77.
7. GUBA F., és HARSÁNYI, V. (1964) A fibrillin, új miofibrilláris fehérje izolálása és kémiai vizsgálata. *Kísérletes Orvostud.* 16. 28—34.
8. GUBA F., HARSÁNYI, V., és KOVÁCS P., (1964) A lúgos ureával oldatba vitt fibrillin fiziko-kémiai vizsgálata. *Kísérletes Orvostud.* 16. 35—39.
9. GUBA F., HARSÁNYI V., és VAJDA E., (1965) Vizsgálatok a nyúl m. psoas miofibrillumai filamentáris szerkezetére vonatkozóan. I. II. *Biol. Közlemények.* 13. 75—94.
10. GUBA F., HARSÁNYI V., és VAJDA E., (1965) Újabb vizsgálatok a fibrillin izomfehérjével kapcsolatban. *Biol. Közlemények.* 13, 95—106.
11. HANSON, J., és LOWY, J., (1963) The Structure of F-Actin and of Actin Filaments Isolated from Muscle. *J. Mol. Biol.* 6. 46—60.
12. HARSÁNYI V., és GUBA F., (1963) Strukturfehérjék lokalizációja a miofibrillumban. *MKE. Biok. Szakoszt. Különkiadványa.* Budapest 393.
13. HUXLEY, H. E., és HANSON, J., (1957) Quantitative Studies on the Structure of Cross Striated Myofibrils. I. II. *Biochim. Biophys. Acta.* 23. 229—260.
14. HUXLEY, H. E., és HANSON, J., (1960) The molecular Basis of Contraction in Cross Striated Muscles. In G. H. Bourne, ed. *The Structure and the Function of Muscle.* Acad. Press., New-York., and London, 1. 197—203.
15. HUXLEY, H. E., (1963) Electron Microscope Studies on the Structure of Natural and Synthetic Protein Filaments from Striated Muscle. *J. Mol. Biol.* 7. 281—308.
16. PADYKULA, H. A., GAUTHIER, G. F., (1963) Cytochemical Studies of Adenosintriphosphatases in Skeletal Muscle Fibers. *J. Cell. Biol.* 18. 87—107.
17. PEPE, F. A., FINCK, H., és HOLTZER, H., (1961) The Use of Specific Antibody in Electron Microscopy. I—II—III. *J. Biophys. Biochem. Cytology.* 11. 515—547.
18. REYNOLDS, E. S., (1963) The Use of Lead Citrate at high pH as an Electron — Opaque Stain in Electron Microscopy. *J. Cell Biol.* 17. 208—212.
19. SZENT-GYÖRGYI, A. G., és HOLTZER, H., (1963) Reactivity of Myosin to Antibodies in Cross Striated Chick Myofibrils. I—II. *Biochim. Biophys. Acta.* 74.709—729.
20. TICE, L. W., és BARNETT, R. J., (1962) Fine Structural Localization of Adenosintriphosphatase Activity in Heart Muscle Myofibrils. *J. Cell. Biol.* 15. 401—415.
21. TICE, L. W., és SMITH, D. S., (1965) The Localisation of Myofibrillar ATP-ase Activity in the Flight Muscles of the Blowfly Calliphora Erythrocephale. *J. Cell. Biol.* 25. 121—135.
22. TIGYI-SEBES, A., (1962) Localization of Potassium in the Myofibril. *Acta Physiol. Hung.* XXII/3—4. 243—247.
23. TUNIK, B., és HOLTZER, H., (1961) The Distribution of Muscle Antigens in Contracted Myofibrils Determined by Fluorescence Labelled Antibodies. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* 11. 67—75.

ИЗМЕНЕНИЯ УЛЬТРАСТРУКТУРЫ МИОФИБРИЛЛ В ПРОЦЕССЕ СЕЛЕКТИВНОГО ИЗВЛЕЧЕНИЯ БЕЛКОВ

Ф. Губа, В. Харшани и Е. Вайда

Наблюдая электронномикроскопически селективное извлечение белков миофибрилл, можно сделать вывод, что основу филаментарной структуры, проходящей через саркомер, образует белок-фибриллин.

Вероятно, в А-полосе миозин присоединяется к этой эластической системе.

Нити, содержащие актин, отходя от Z-мембраны, имеют сноповидное расположение среди непрерывных нитей.

CHANGES IN THE MYOFIBRILLAR ULTRASTRUCTURE OF THE STRIATED MUSCLE IN THE COURSE OF THE SELECTIVE EXTRACTION OF PROTEINS

By

F. Guba, V. Harsányi, E. Vajda

The ultrastructural changes caused by the selective extraction of proteins have been investigated. It has been concluded that the basic filamentous system of myofibrils is given by the protein fibrillin. This filamentary system of 40 Å in diameter runs through the whole sarcomere from Z to Z bands and it has a highly elastic character.

One might assume that this filamentary system gives the core of the primary filaments in which the myosin is bound to it in the A band.

The actin containing filaments start from the Z disc and show a "sheave" like arrangement between the through running filaments.

IZOLÁLT MIOFIBRILLUMOK HARÁNTCSÍKOLATÁNAK ELEKTRON- ÉS FÁZISKONTRASZTMIKROSKÓPOS VIZSGÁLATA

VAJDA E., GUBA F., HARSÁNYI V.

(Technikai munkatársak: JAKAB GYÖRGYI, JÁKY PIROSKA, SZIVESSY KLÁRA)

MTA Kémiai-Szerkezeti Kutató Laboratóriuma, Budapest

Beérkezett: 1965 december 15-én

Gerinces és gerinctelen izom szerkezeti fehérjei a miofibrillumban rendeződve hozzák létre a jellegzetes harántcsíkolatot. A csíkolat az izom működése során különböző változásokon megy keresztül: a polarizációs mikroszkópban az izotróp szakasz nagysága csökken, majd eltűnik, ún. kontrakciós csík alakul ki — miközben a működés egysége a szarkomér hossza csökken. A biológia rohamos fejlődése lehetővé tette, hogy az izom működéséről az évek folyamán felhalmozódott megfigyelésekből a mechanizmust molekuláris szinten kísérjük megmagyarázni. Az egyik ilyen elképzelés szerint összehúzódkor a rendezett fehérje molekulákból álló merev fonalak egymásba csúsztatása eredményezi a szarkomér rövidülését [9]. Elképzelhető azonban az is, hogy a mechanizmus bonyolultabb és a fehérjerendszer aggregációs állapotában és eloszlásában is változás következik be (4, 5, 7, 10, 12, 13).

Feleletet remélhetünk a kérdésre, ha izolált miofibrillumok különböző hosszúságú szarkomérjeiben megmérjük az anyageloszlást és ezt egybevetjük a kontrakcióra vonatkozó elképzelésekkel.

Az anyageloszlás mérésére alkalmas eszköz lenne az interferenciamikroszkóp, melyet Bennett (1), majd Huxley és Hanson (8), továbbá Garamvölgyi és mtsai (3) sikerrel alkalmaztak nyugalmi, illetve nyújtott állapotban levő miofibrillumok fehérje, ill. szárazanyag mennyiségi eloszlásának meghatározására. A fénymikroszkóp feloldása azonban korlátot állít rövidült szarkomérek ilyen irányú vizsgálatához. Nagyobb felbontóképessége miatt az elektronmikroszkóp segíthet a megoldásban. Kémiaileg homogén anyagok esetén az elektronmikroszkóp alkalmas az anyageloszlás kvantitatív vizsgálatára. Ilyen anyagokon az elektronsugár az anyageloszlás szerint hatol át és reagál a fotoemulzióval. Minthogy a miofibrillum szárazanyagának 99%-át fehérjék alkotják, az elektronmikroszkópot alkalmasnak találtuk a kérdés megválaszolásához. Ilyen törekvésekről Bennett és mtsai (2) számolt be.

Kísérleti anyagok, módszerek.

Izolált miofibrillumok készítése

Kísérleteinkhez nyúl m. psoas és lódarázs szárnymozgató izmát használtuk. A kellően lehűlt izmot alacsony ionerősségű -10^{-3} M $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$, 10^{-4} M EDTA tartalmú — pH = 7,0-es, 0 C°-os oldatban aprítottuk. Az aprítás előtt a nyúlizmot ledaráltuk. A homogenizálást házi készítésű waring blendorban 3 percig végeztük (0,5 percnként megszakítva). Ez az idő elegendő volt

izolált miofibrillumok nyeréséhez. Fáziskontraszt mikroszkópban a szuszpenzió különböző fiziológiás állapotban levő, különálló miofibrillumokat tartalmazott. A szuszpenziót enyhén centrifugáltuk (300 g, 5 perc), majd az üledéket a fenti oldószerben újra felvettük és e műveletet még kétszer megismételtük. Ily módon a plazmafehérjéktől mentes izolált miofibrillumokat nyertünk.

Előkészítés az elektronmikroszkópos vizsgálathoz

Az izolált miofibrillumokat tartalmazó szuszpenzióból csepp-preparátumot készítettünk a következő módon: a szénfilmmel erősített, formvarhártyát tartalmazó elektronmikroszkópos rostélyra ráceppentettük a szuszpenziót. Néhány másodperc várákozás után elegendő számú miofibrillum tapadt a hordozóhártyához. Ekkor szűrőpapírsíkkal leszívattuk a folyadékot. Ezután desztillált vizes mosással eltávolítottuk a rostélyokról a rátapadt sókat, végül szűrőpapírsíkkal, majd levegőn megszárítottuk.

Elektronmikroszkópos vizsgálatok

A preparátumokat Hitachi HU-10 elektronmikroszkóppal vizsgáltuk 75KV gyorsítófeszültségnél, elektronáram: 30–50 μ A; kettős kondenzoros megvilágítást, 150 μ -os kondenzor appetúrát és 20 μ -os objektív appetúrát használva. Az egyes felvételeket azonos elektronoptikai nagyítással (5000 \times) készítettük. A nagyítást 1880 Å átmérőjű polystyrol standarddal kalibráltuk. A használt negatív anyag Agfa diapozitív Hart-lemez volt.

Fáziskontrasztmikroszkópos vizsgálatok

A lódarázs miofibrillum szuszpenzióból a fénymikroszkópos mérésekhez szokásos módon preparátumot készítettünk, majd fáziskontraszt feltétellellátott Zetopan (Reichert) mikroszkóppal vizsgáltuk. A megfelelő területet a mikroszkóphoz illeszthető Exacta Varex fényképezőgéppel Ispan FF filmre rögzítettük.

A felvételek értékelése

Az elektronmikroszkópos felvételeken a lemezek feketedését a miofibrillák mentén autoregisztráló Schnell-fotométerrel mértük meg. Úgy jártunk el, hogy adott résmérettel letapogattuk a fibrillákat hossz tengelyükkel párhuzamosan.

Résméret: 0,5 \times 2 – 2,5 mm. Érzékenység: 100. A fáziskontraszt felvételeket Agfa diapozitív Hart-lemezre átmásoltuk és ezeket a fentiek szerint fotometráltuk.

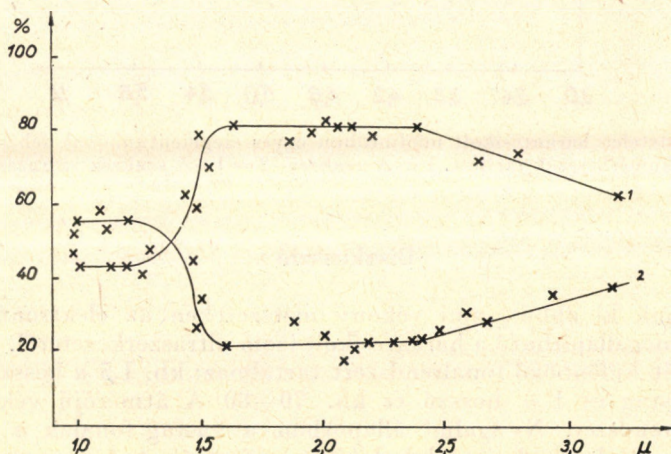
¹ Kémiailag homogén anyagok esetén a fáziskontraszt mikroszkóp az interferencia-mikroszkóp egy speciális esetének tekinthető, és így alkalmas az anyageloszlás mérésére.

Az értékelésnél nehézséget jelentett az, hogy a feketedés abszolút értékeit nem tudtuk figyelembe venni az egyes lemezek összehasonlításánál. Ehhez szükség lett volna arra, hogy a felvételeket teljesen egyforma körülmények között (azonos megvilágítás, expozíciós idő, egyformán pontos centrálás) készítsük, valamint adott és ismert vastagságú miofibrillumokat vizsgáljunk. Ezek nehezen megvalósítható feltételek. Ehelyett az egyes szarkomérek összefeketedésének (azaz összanyagmennyiségének) százalékában fejeztük ki az egyes szegmentumok anyagtartalmát. Így az egyes felvételek összehasonlíthatók voltak.

Kb. 100 különböző nagyságú szarkomér adatait közöljük.

Megfigyelések

Méréseink eredményét grafikusan is ábrázoltuk. Az 1. ábrán a szarkomérhossz függvényében látható az egyes szegmentumok anyagtartalma nyúlizomból nyert miofibrillumok esetén. Látható, hogy míg az „A” (anizotróp) szegmentumban levő fehérjemennyiség nyújtott állapotban (szarkomérhossz $> 2,3 \mu$) a nyújtással arányosan csökken, addig nyugalmi állapot és a fiziológiai

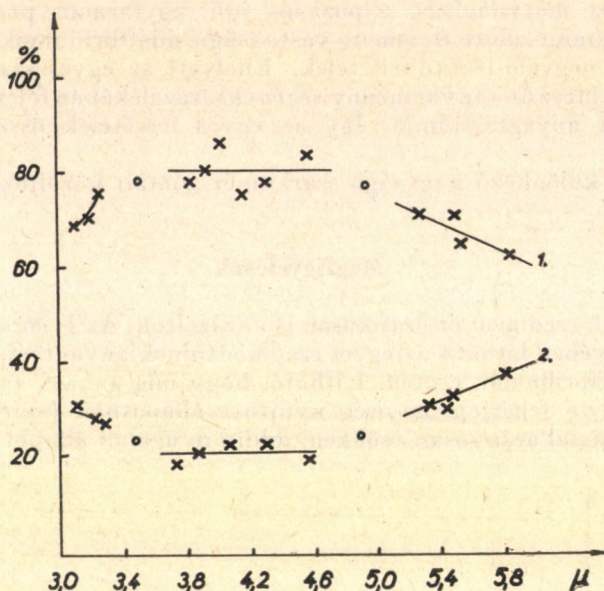


1. ábra. Gerinces harántcsíkolt miofibrillum egyes szegmentumainak fehérjetartalma különböző szarkomérhosszak mellett. 1. = A szakasz, 2 = I + Z szakasz szárazanyagtartalma

kontrakciós állapotnak elfogadott mérettartományban (szarkomérhossz $2,3 \mu$ – $1,5 \mu$ között) nem változik, majd ennél nagyobb rövidülés esetén rohamosan csökken és 1μ szarkomérhossz körül újra állandó értéket vesz fel.

Ábrázoltuk az „I” (izotróp) szegmentum és a Z membrán összanyagmennyiségének a változását is. Érdekes megfigyelni, hogy e görbe az előző inverzének látszik. A nyújtással arányosan növekszik a fehérjetartalom, nyugalmi és fiziológiai kontrakciós állapot között konstans, majd ennél rövidebb szarkomérek esetén gyorsan növekszik, 1μ -nál újra konstans lesz. 1μ -nál rövidebb szarkomért nem találtunk.

A fáziskontraszt felvételeket értékelve hasonló jellegű anyageloszlást tapasztaltunk (2. ábra). Megjegyzendő, hogy e görbék sokkal kevesebb mérési pontból készültek (kb. 20 különböző szarkomér).



2. ábra. Gerinctelen harántcsíkolt miofibrillum egyes szegmentumainak fehérjetartalma különböző szarkomérhosszak mellett. 1 = A szakasz, 2 = I+Z szakasz szárazanyagtartalma

Diszkusszió

Induljunk ki abból, ami vékony metszeteken az elektronmikroszkóp segítségével megállapítható a harántcsíkolt izom ultraszerkezetéről. Eszerint a szarkomér két különböző fonalrendszert tartalmaz: kb. $1,5 \mu$ hosszú és 150 \AA átmérőjű vastag és 1μ hosszú és kb. $70\text{--}80 \text{ \AA}$ átmérőjű vékony fonalakból álló rendszer. Nyugalmi állapotban a vastag fonalak a szarkomér közepén helyezkednek el, itt alakul ki az anizotróp („A”) szegmentum. A vékony fonalak a széleken izotróp („I”) szegmentumot alakítanak ki, a szarkomér közepén egy kevesebb anyagot tartalmazó ún. H zóna található — úgy, ahogy azt a 3. ábra mutatja. A szarkomér végét a „Z” membrán alkotja.

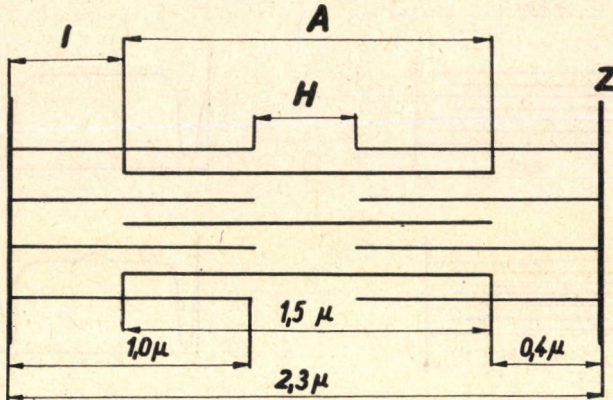
Fogadjuk el Huxley interferencia-mikroszkópos méréseit (5), mely szerint gerinces harántcsíkolt izomban a vastag fonalak (akkor még „A” anyag) a szarkomér összfehérjéinek 55%-át, a vékony fonalak (akkor még „I” anyag) az összfehérje 36%-át, a „Z” membrán a 6%-át, a H zóna pedig 3%-át tartalmazták.

Ezek után próbáljuk megmagyarázni, mi történik az izom működésekor.

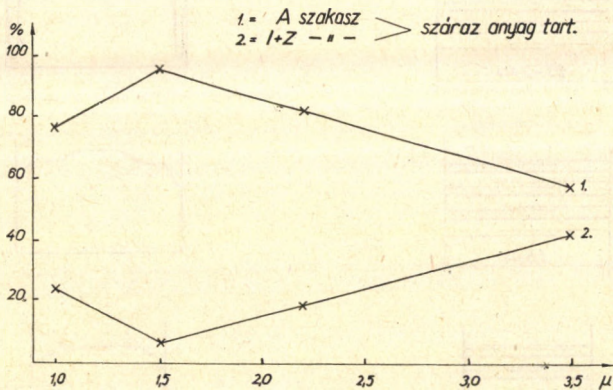
A rövidülés megindulásakor az izotróp szakasz és a H zóna hossza csökken. Egy adott szarkomérhossznál eltűnik a H zóna, majd a szarkomér közepén anyaggyűjtés jelentkezik. További rövidülés után az izotróp szakasz is eltűnik és a „Z” membrán körül ún. kontrakciós csík alakul ki. Ebben az állapotban

csak a kontrakciós csíkokat és köztük egyenletesen eloszlott anyagot találunk, a szarkomér közepén látott anyagtöbblet eltűnt. Nyújtáskor viszont azt tapasztaljuk, hogy a szarkomérközépen levő kevesebb anyagtartalmú zóna hossza a nyújtással arányosan nő.

A látottak kvalitatíve jól értelmezhetők Huxley sliding elméletével. Ha a rövidülést—megnyúlást a fonalak egymás melletti eltolódása, egymásba



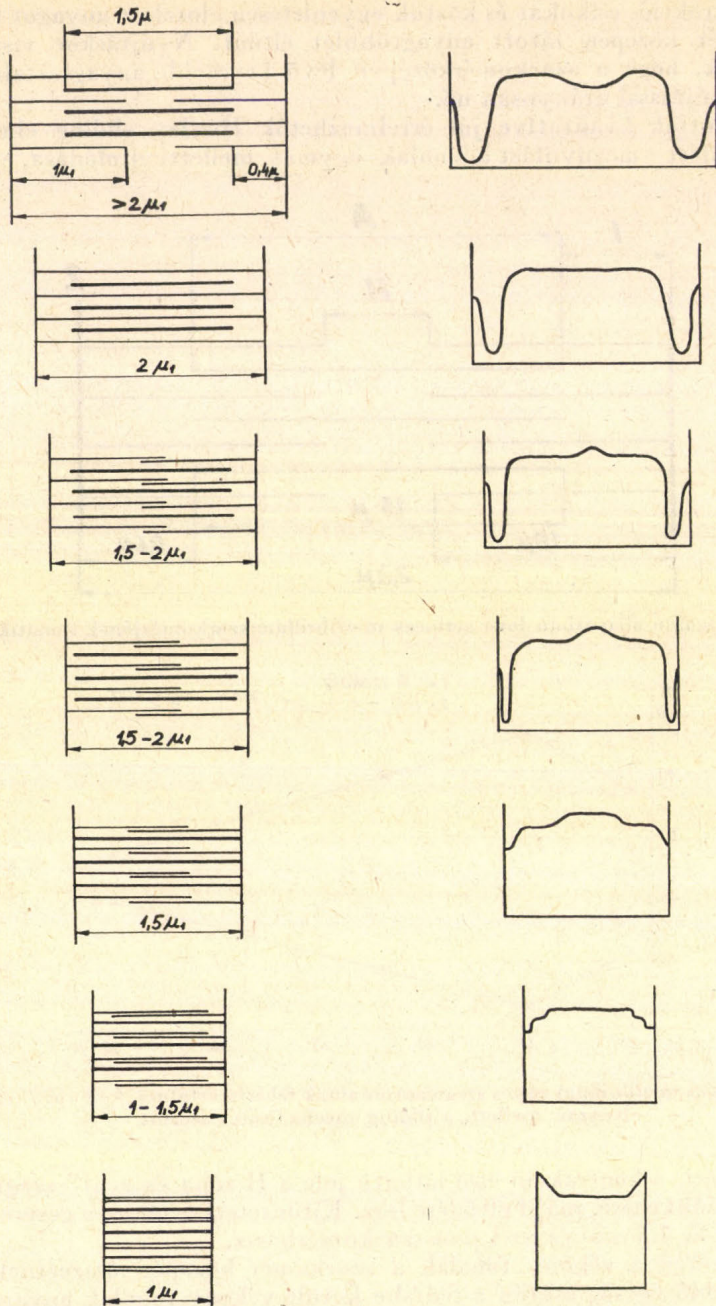
3. ábra. Nyugalmi állapotban levő gerinces miofibrillum szarkomérének sematikus rajza



5. ábra. Gerinces miofibrillum egyes szegmentumainak fehérjetartalma, különböző szarkomérhosszak mellett, a sliding mechanizmus szerint

csúszása kíséri, a kontrakció első látható jele a H zóna és a „I” szegmentum méretének csökkenése, majd eltűnése lesz. Kitüntetett értékek a gerinces izomnál a 2 μ-os, az 1,5 μ-os és az 1 μ-os szarkomérhossz.

2 μ esetén a vékony fonalak a szarkomér közepén összeérnek, ennél kisebb működő egység esetén a fedésbe került vékony fonalak anyagtöbbletként mutatkoznak. 1,5 μ-os szarkomérnél az „I” szegmentum eltűnt és a vastag fonalak a „Z” membránhoz érnek. Ennél rövidebb szarkomérnél a vastag fonalak egy része a „Z” membránra gyűrődve részt vesz a kontrakciós csík kialakításában. Ezzel egy időben a vékony fonalak fedési zónája növekszik.



4. ábra. Kontrakció és a kísérő anyageloszlás változása a sliding mechanizmus szerint

1 μ -os szarkomérnél a vékony fonalak is mindkét végükkel a „Z” membránhoz (kontrakciós csíkhöz) érnek. A fonalak egymásba csúsztatását az egyes szegmentumokban, ill. azok bizonyos helyein az összanyagmennyiség változása kíséri. A fent említetteket a 4. ábrán kíséreljük bemutatni.

A gerinctelenek harántcsíkolt izmában is hasonló jelenség következik be. A különbséget valószínűleg a gerinces és gerinctelen izom vékony és vastag fonalainak különböző mérete és ebből következően az egyes szegmentumok és a nyugalmi állapot méretkülönbsége okozza.

Nyújtáskor a fonalak az előzőkkel ellentétes irányba mozdulnak el; egymásból kihúzódnak. E folyamatot az „A” szegmentum közepén látható anyagban szegényebb zóna hossznövekedése kíséri.

Huxley interferencia mikroszkóppal nyert adataival e mozgás kvantitatíve is jellemezhető. Ezek szerint a gerincesek nyugalmi állapotban levő miofibrillumaiban (szarkomérhossz 2,3 μ , „I” szakasz $2 \times 0,4 \mu$, „A” szakasz 1,5 μ) az „I” szakaszba a vékony fonalakat alkotó fehérje 40%-a jut, azaz 14,4%, a többi az „A” szegmentumban található. Az „A” szegmentum fehérje tartalmát a vastag fonalak, a vékony fonalak 60%-a és a H zónában levő fehérje összege alkotja $(55 + \frac{36 \times 60}{100} + 3 = 79,4\%)$.

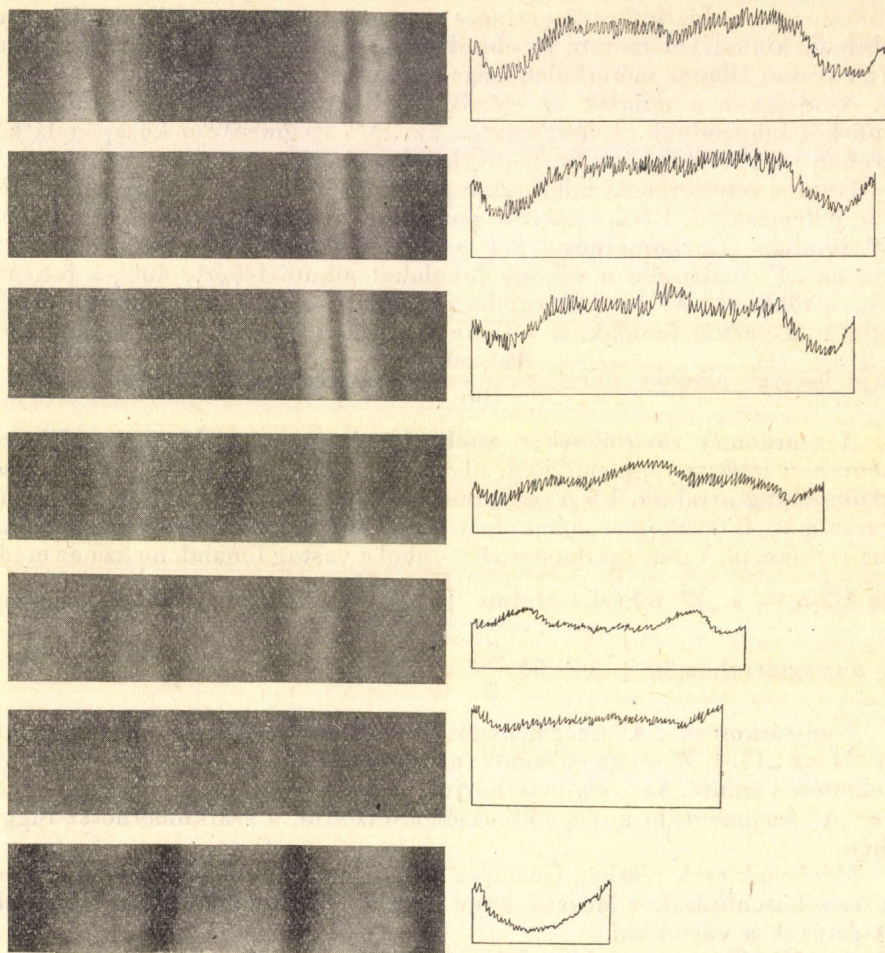
A szarkomér rövidülésekor, amilyen mértékben csökken az „I” szegmentumban levő anyagmennyiség, olyan mértékben növekszik az „A” szegmentum anyagtartalma. 1,5 μ szarkomérhossznál „I” = 0, „A” = 94% fehérjét tartalmaz. E szarkomér méret alatt a „Z” anyagtartalma növekszik az „A” anyag terhére, pl. 1 μ -os szarkomérnél — ahol a vastag fonalak hossza az eredeti hossz 2/3-a, — a „Z” fehérjetartalma $(6 + \frac{55}{3} = 24,3\%)$. Az „A” szegmentum anyagtartalma $36 + 3 + 54 \frac{2}{3} = 75,6\%$.

Nyújtáskor az „A” szegmentum anyagmennyiségének lineáris csökkenése és az „I” + Z szegmentumok anyagtartalmának ugyanilyen mértékű növekedése várható. Az 5. ábrán láthatjuk ezeket feltüntetve, ahol az „I” + „Z” és az „A” szegmentum anyagváltozását ábrázoltuk a szarkomérhossz függvényében.

Méréseink csak részben igazolják a fenti megfontolásokat. Az 1. és az 5. ábra összehasonlításakor látható, hogy csak a nyújtott állapotban egyeznek a mért értékek a vártakkal.

Az „I” + Z szegmensekben 2,3 — és 1,5 μ szarkomér tartományban anyag-többlet jelentkezik, mely 1,5-os szarkomérnél 14%, ugyanígy az „A” szegmentumban anyagihiány mutatkozik, mely 1,5 μ szarkomérhossznál szintén 14%. Kisebb működő egységnél még nagyobb az eltérés. 1 μ -os szarkomérnél pl. a kontrakciós csík (ill. „Z”) anyagtartalma 24,3% helyett 55%, tehát 30% anyag-többlet lép fel. A kontrakciós csíkok közti anyagmennyiség pedig ugyancsak 30%-kal csökken. Mindezekből az következik, hogy kontrakció alatt a fonalak egymásba csúsztatása mellett más folyamatokkal is számolnunk kell. E reakciók során az „A” szegmentumból fehérje kerül az „I” szegmentumba, majd a kontrakciós csíkba (mely anyag az „A” szegmentumban hiányként mutatkozik).

Várható ez a slidingtól eltérő anyagmozgás, ha csupán az elektronmikroszkópos felvételeket vagy a fotométer görbéit tekintjük. A 6. ábrán relaxált és a kontrakció különböző fázisában levő szarkomérekét és a róluk készült



6. ábra. Kontrakció és a kísérő anyageloszlás változása méréseink szerint

fotometriás görbéket ábrázoltuk. Megfigyelhetjük, hogy az $1,6 \mu$ -os szarkomérnél (alulról a harmadik) az „A”-„I” szegmentumok határán anyagfelhalmozódás van, mely a sliding hipotézissel nem magyarázható.

Az anyageloszlás ilyen értelmű változásáról számol be Hodge (7): fáziskontraszt- és elektronmikroszkópos felvételeken kvalitatíve megállapítja, hogy az „A” szegmentumból anyag vándorol a Z membrán felé, mely a kont-

rakációs csíkok kialakításában vesz részt. A rovarizomból nyert csekély számú adatból arra következtethetünk, hogy a gerincesek és gerinctelenek harántcsíkolat izmában egyaránt fellép az anyageltolódást eredményező jelenség.

Megfigyeléseinkből azt a következtetést is le kell vonnunk, hogy a szerkezetet felépítő vastag és vékony fonalak nem lehetnek olyan merevek, mint amilyenek a jelenlegi elképzelés tartja őket. Mindkettő, vagy legalább is egyik felelős lehet az észlelt anyagmozgásért. Izolált struktúrfehérjéken, valamint relaxált és kontrahált izmok keresztmetszetein végzett saját vizsgálataink [4, 6] arra a következtetésre engednek jutni, hogy a miozint tartalmazó vastag fonalak erősen hidratált, lazább szerkezetűek és ezért kevésbé merevek, mint az aktintartalmú vékonyak. Emellett szól az a tény is, hogy gerinceseknél a $1,5 \mu$ (a vastag fonalak hossza) nem jelentett számottevő akadályt a kontrakciónál, viszont az 1μ (a vékony fonalak mérete) határt szab a további rövidülésnek. Így a vastag fonalak szinterei lehetnek az észlelt anyagmozgásnak. Megerősítik az elképzeléseket Szent-Györgyi és Holtzer megfigyelései is [10]. Fluoreszcens antimiozinnal végzett kísérleteikben arra a megállapításra jutnak, hogy kontrakció során a miozin az „A” szegmentum két szélén tömörül, miközben miozinmentes rész keletkezik az „A” szegmentum közepén.

E változások molekuláris oka még nem ismert. Feltételezhető azonban, hogy a kétféle fonalrendszert felépítő fehérjék gélszerkezetében és aggregációs állapotában bekövetkező változásokat kíséri az észlelt anyagelmozdulás. A szerzők nyúl m. psoas harántmetszetein végzett vizsgálataik [4, 5] alapján emellett foglalnak állást.

IRODALOM

1. BENNETT, H. S. (1955) Values for Rabbits of Mass per Unit Length in the Cross Bands of Striated Muscle Myofibrils, as Measured with the Interference Microscope. *Anat. Record.* 121. 253.
2. BENNETT, H. S., PORTER, K. R. (1953) *Am. J. Anat.* 93. 61.
3. GARAMVÖLGYI, N., KERNER, J., CSER-SCHULTZ, M. (1964) The Cross Striation of the Insect Flight Muscle at Different Sarcomere Length. *Acta Physiol. Hung.* 24. 381—390.
4. GUBA F., HARSÁNYI V., VAJDA E. (1965) Vizsgálatok a nyúl m. psoas miofibrillumai filamentáris szerkezetére vonatkozóan. II. Relaxált és kontrahált állapot. *Biol. Köz.* 13. 83—94.
5. GUBA F., HARSÁNYI V., VAJDA E. (1965) Miofilamentáris rendszer folyamatosságának vizsgálata. IV. Magyar Elektronmikroszkópos Konferencia, Balatonszéplak (előadás).
6. HARSÁNYI V., GUBA F., VAJDA E. (1965) Fibrilláris izomfehérjék elektronmikroszkópos vizsgálata. IV. Magyar Elektronmikroszkópos Konferencia, Balatonszéplak (előadás).
7. HODGE, A. J. (1956) The Fine Structure of Striated Muscle. *J. Biophys. Biochem. Cytol.* Suppl. 2. 131—142.
8. HUXLEY, H. E., HANSON, J. (1957) Quantitative Studies on the Structure of Cross Striated Myofibrils I—II. *Biochim. Biophys. Acta* 23. 229—260.
9. HUXLEY, H. E. (1960) Muscle Cells. *The Cell IV.* Szerk. Brachet és Mirsky N. Y. Academic Press 365—476.
10. SZENT-GYÖRGYI, A. (1945) Studies on Muscle, Szegedi Városi Nyomda R. T. Szeged.
11. SZENT-GYÖRGYI, A. G., HOLTZER, H. (1963) Reactivity of Myosin to Antibodies in Cross-Striated Chick Myofibrils. *Biochim. Biophys. Acta* 74. 722—729.
12. SZENT-GYÖRGYI, A. G., JOHNSON W. H., (1964) Biochemistry of Muscle Contraction p. 485 Szerk. Gergely J., Little Brown and Co. Boston.
13. VAJDA E., GUBA F., HARSÁNYI V. (1965) Vízoldékony fehérjék szerepe a harántcsíkolat izom struktúrájának kialakulásában. IV. Magyar Elektronmikroszkópos Konferencia, Balatonszéplak (előadás).

ЭЛЕКТРОННОМИКРОСКОПИЧЕСКОЕ И ФАЗОВОКОНТРАСТНОЕ
ИССЛЕДОВАНИЕ ПОПЕРЕЧНОЙ ПОЛОСАТОСТИ ИЗОЛИРОВАННЫХ
МИОФИБРИЛЛ

Е. Вайда, Ф. Губа и В. Харшани

1. В поперечнополосатых мышцах позвоночных и беспозвоночных в случае контракции — помимо механизма „sliding” — происходит процесс передвижения вещества в сторону изотропной полосы и Z-мембраны.
2. Это передвижение вещества, вероятно, объясняется перестройкой в толстых нитях, содержащих миозин.
3. Эти первичные нити нельзя рассматривать как жёсткие стержни.

OBSERVATIONS ON THE RELATIVE PROTEIN CONTENT OF MYOFIBRILS
OF DIFFERENT SARCOMERE LENGTH

By

E. VAJDA, F. GUBA, V. HARSÁNYI

1. During contraction in the striated muscle of vertebrates and invertebrates, adjoining to the sliding of filaments, there is a definite movement of protein towards the I band and Z membrane.
2. These changes have been explained on the basis of change in the localization of myosin within the thick filaments.
3. It seems that the thick filaments shouldn't be considered as rigid rods.

BIOKÉMIAI VIZSGÁLATOK EGY CSILLÓS EGYSEJTŰ (TETRAHYMENA PYRIFORMIS) LIZOSZOMÁIN ÉS MIKROTESTEIN*

MÜLLER MIKLÓS¹

Biokémiai-sejttani Tanszék, Rockefeller Egyetem, New York, N.Y., U.S.A.

Beérkezett: 1966 január 3-án

Bevezetés

A sejtműködés szerveződésének egyik igen fontos elve az egyes rész-működések térbeli elkülönülése. Ez az egyik, bár nem kizárólagos oka annak, hogy a sejt anyagcseréjét alkotó igen nagyszámú folyamat rendezetten, egymást nem zavarva mehet végbe [lásd pl. 51]. Az elkülönülés morfológiai alapja és megvalósítása többféle lehet. Bár a következő megfontolások nem általános érvényűek, mégis sok esetben azt találjuk, hogy nagyobb funkciócsoportok (pl. sejtlegzés, sejten belüli emésztés stb.) különböző, egymástól morfológiailag is jól megkülönböztethető sejtorganellumokban foglalnak helyet; a funkciócsoportok részfunkciói, amennyiben a funkció jellege azt megköveteli, a sejtorganellumon belül lehetnek pontosan lokalizálva.

A funkciók, illetőleg az azok alapját képező enzimatikus folyamatok sejten belüli lokalizációja több különböző módszerrel vizsgálható. A legrészletesebb és talán a legtöbb információt nyújtó eredményeket azonban alighanem a sejtek elroncsolása útján nyert homogenátumok differenciálcentrifugálásával [3, 4, 14, 18, 45, 51] és denzitásgrádiensek alkalmazásával történő izopiknotikus centrifugálásával kapták [4, 14, 16]. Ezek a módszerek lehetővé teszik, hogy a homogenátumokat frakciókra különítsük, majd az egyes frakciók kémiai jellemzőit, ideértve enzimkészletüket is, meghatározhassuk. Az elkülönített és enzimkészletük alapján jellemzett sejtfrakciók elektronmikroszkópos vizsgálata és a kapott képek egybevetése a kiinduló szövet struktúrájával lehetővé teszi, hogy a kapott többé-kevésbé tiszta frakciókat azonosíthassuk egyes ismert sejtorganellumokkal, illetőleg megállapíthassuk, hogy a kérdéses frakciók fő tömegét mely sejtalkotórész teszi ki.

Az elsősorban emlősszöveteken végzett vizsgálatok igen sok alapvető megismeréssel gazdagították a sejtbiológiát. Vázlatosan összefoglalva, ezzel az eljárással patkánymáj sejtjeiből a következő sejtalkotórészeket sikerült elkülöníteni és enzimösszetételüket megállapítani: a sejtmagot, a mitokondriumokat, melyek elsősorban a sejt energiatermelő folyamatait végzik, a lizoszomákat, melyek a sejtbe került idegen anyagok lebontását végzik, a mikrottesteket,² melyek eddig pontosabban nem ismert rendeltetésű oxidázokat és katalázt tartalmaznak, a mikroszomákat, melyek az ép sejt endoplazmás retikulumá-

* A dolgozatban ismertetett vizsgálatok részletesebben angol nyelven kerültek, ill. kerülnek közlésre [9, 39].

¹ Jelenlegi cím: Carlsberg Laboratórium Fiziológiai Osztálya, Koppenhága-Valby, Dánia.

² A struktúra angol neve microbody.

nak töredékei és egyik fő szerepük a fehérjék szintézisében van, valamint a homogén citoplazmát, melyben sok egyéb folyamat mellett a glikolízis játszódik le [10, 18, 45, 51]. A máj különösen alkalmas objektum az ilyen irányú vizsgálatokra, mert fő tömegét egyetlen sejttypus, a májparenchimasejt alkotja. Az utóbbi években nagyszámú más szövet vizsgálatára is sor került, melyekben a fenti képnek megfelelő eredményeket nyertek [18, 53]. Bizonyos specializált szervekből még további sejtalkotórészeket is sikerült izolálni — a hasnyálmirigy sejtjeiből a zimogén szemcséket [49], fehérvérsejtekből a lizozoma jellegű neutrofil granulumokat [11], idegszövetből a szinaptikus granulumokat [54] stb.

Bár a sejtélettani vizsgálatokban oly szívesen alkalmazott egysejtűek, vagy legalábbis egyes egysejtű fajok anyagcserefolyamatairól egyrészt [33], sejtteni felépítésükről másrészt [43] meglehetősen kiterjedtek az ismereteink, igen keveset tudunk arról, hogy az egyes anyagcserefolyamatok az egysejtű sejtjének mely alkotórészeiben játszódnak le. Nem tudjuk, hogy az emlőssejtken nyert eredmények mennyiben alkalmazhatóak az egysejtűekre.

Jelen közleményünkben azon vizsgálatainkat szeretnénk röviden áttekinteni, melyeket egy csillós egysejtűn végeztünk a fent említett módszerekkel. Vizsgálataink során sikerült kimutatnunk, hogy a sejtek homogenátumából elkülöníthetők olyan frakciók, melyek biokémiai jellemzőik tekintetében megfelelnek az emlőssejtekből izolált mitokondrium, lizozoma és mikrottestfrakcióknak. Adatokat nyertünk továbbá a lizozomák és mikrottestek bizonyos tulajdonságairól is. Eredményeink arra utalnak, hogy a vizsgált egysejtű és az emlőssejték funkcionális organizációja sok tekintetben hasonló.

Módszerek

Kísérleti állatunk a *Tetrahymena pyriformis* l. varietasának II párzótípusa volt. Az állatokat Difco-trypton (2%) és Difco-élesztő kivonat (0,05%) oldatában axenikusan (baktériummentesen) tenyésztettük szobahőmérsékleten (22–23 °C) 2 napig. A sejteket kétnapos tenyésztés után, a logaritmusos fázis és a stacioner fázis közötti átmeneti periódusban lassú centrifugálással gyűjtöttük össze és Prescott oldattal kétszer mostuk.

A későbbiekben jellemzésre kerülő enzimek tulajdonságainak vizsgálatához a mosott sejt koncentrátumot ismételt fagyasztással tártuk fel.

A sejtalkotórészek elkülönítését célzó kísérleteinkben a sejt koncentrátumot hideg 0,25 M szukrózzal mostuk, majd egy 10 μ átlagos pórusnagyságú üvegszűrőn vízsugárszivattyú segítségével átszíva homogenizáltuk [28]. A szubcelluláris partikulumokat 25 000 g. min. centrifugálással különítettük el, a felülúszó leszívása után az üledéket újra 0,25 M szukrózban szuszpendáltuk és hasonló módon centrifugáltuk. A második felülúszót egyesítettük az elsővel és mint felülúszó frakciót használtuk. Az üledék reszuszpendálás után adta a részecske frakciót. Mindezeket a műveleteket 0–4°-on végeztük.

Az ily módon nyert partikulumfrakció további differenciálására kontinuos lineáris sűrűséggradiensben történő izopiknotikus centrifugálást alkalmaztunk. A szukróz-víz sűrűséggradiens szélső értékei $J = 1,11$ és $1,25$ voltak.

Az összes centrifugálásokat Spinco L-típusú preparatív ultracentrifugával végeztük. Az izopiknotikus centrifugálással nyert frakciók átlagos sűrűségét vízzel nem keveredő szerves folyadékokból készült sűrűséggradiensekben határoztuk meg.

Az alkalmazott centrifugálási és frakcionálási módszerek részletes ismertetését lásd [16].

A fehérjéket Lowri és munkatársai szerint határoztuk meg [37]. Az enzimek meghatározására alkalmazott módszereket a legtöbb esetben az irodalmi adatokhoz képest módosítanunk kellett, hogy optimális körülményeket biztosíthassunk. Ezekre a részletekre jelen közleményünkben nem kívánunk kitérni, csupán az alkalmazott módszerek elvi alapjaira utalunk. A kiinduló módszerek részletes leírását lásd [1, 9, 17, 41, 44], az alkalmazott módosításokat lásd [39]. A következő enzimeket határoztuk meg az eredeti homogenátumban

és az összes frakciókban: savas foszfatáz — β -glicerofoszfát szubsztrátumból lehasított szer-
vetlen foszfát meghatározásával FISKE és SUBBARROW szerint; ribonukleáz és deoxiribonukleáz
— a megfelelő nukleinsavakból felszabaduló és perklórsavval, illetőleg perklórsav-uranilacetát
keverékkel nem precipitálható oligo- és mononukleotidok 260 m μ hullámhosszon mért ab-
sorpciója segítségével; proteináz — savval denaturált hemoglobinnél lehasadó és triklor-
ecetsavval nem precipitálható „kromogének” LOWRI és mt. szerint történő meghatározásával;
amiláz — oldható keményítőtől felszabaduló redukáló cukrok meghatározásával NELSON
szerint; szukcinátdehidrogenáz — fenazonium metosulfát redukciójának diklorofenol-indo-
fenol segítségével történő mérése útján; kataláz — a le nem bontott hidrogénperoxid titán-
oxidsulfát segítségével történő meghatározásával; α -hidroxisavoxidáz és D-aminosavoxidáz
— a keletkezett ketosav kolorimetriás meghatározásával vagy a reakció során képződött
hidrogénperoxid mérésével, melyet ¹⁴C-formát főlős kataláz jelenlétében történő oxidációjával
határoztunk meg. A katalázt 0°-on, az összes többi enzimet 25°-on határoztuk meg. A vizs-
gálatok körülményei között az összes alkalmazott reakciók eredményei lineárisan függtek az
enzim mennyiségétől és a reakció időtartamától.

A hidrolázok teljes aktivitásának meghatározása esetén az inkubálóelegy 0,1% Triton
X-100 detergenst tartalmazott, mely a részecskék membránjának elroncsolásával biztosítja
a maximális aktivitás mérését. Bizonyos kísérletekben 0,25 M szukroz jelenlétében vizsgáltuk
a lehetőség szerint intakt részecskéket tartalmazó homogenátum aktivitását is. Az ekkor
észlelt szabad aktivitást mindig a detergens jelenlétében mért teljes aktivitáshoz viszonyítottuk.

Az enzimaktivitások egységei kitűnnek az 1. táblázatból, kivéve a kataláz egységét,
melyet BAUDHUIN és mt. [8] szerint, mint azt az enzimmennyiséget határozhatjuk meg, mely
0°-on egy perc alatt 50 ml reakcióterefogatban a jelenlevő hidrogénperoxid 90%-át bontja el.

Kísérleti eredmények

A táptalajból vett sejtek épek, egészségesek voltak. A sejtek proteín-
tartalma 3.1 ± 0.6 mg/10⁶ sejt, 17 meghatározás alapján. A legtöbb sejt jelen-
tős számú folyadék-tartalmú emésztővakuolumot tartalmazott.

Az 1. táblázat mutatja a vizsgált enzimek specifikus aktivitását a *Tetra-
hymena* homogenátumokban, az előzetes kísérletek során kidolgozott optimá-
lis körülmények között.

1. táblázat

Enzimek specifikus aktivitása *Tetrahymena pyriformis* homogenátumban (25°-on meghatá-
rozva, kivéve a katalázt, melyet 0°-on határoztunk meg)

Enzim	Aktivitás (min.) mg protein
Savas foszfatáz	252,0 \pm 85,0 m μ mol P. (11)*
Ribonukleáz	34,9 \pm 8,9 m μ mol nukleotid ekvivalens (11)
Deoxiribonukleáz	13,2 \pm 3,2 m μ mol nukleotid ekvivalens (5)
Proteináz	29,6 \pm 15,4 μ g protein ekvivalens kromogén (7)
Amiláz	21,5 \pm 6,9 m μ mol glukoz ekvivalens (7)
β -glukuronidáz.....	< 0,001 m μ mol (2)
Aril-szulfatáz	< p,001 m μ mol (2)
Szukcinát dehidrogenáz.....	8,7 \pm 1,9 m μ mol (6)
Kataláz	66,3 \pm 15,4 mU (6)
α -hidroxisavoxidáz	11,0 \pm 0,85 (2) m μ mol laktát oxidálva
D-aminosavoxidáz	2,1 m μ mol D-alanin oxidálva (1)

*Középérték \pm S.D. (kísérletek sz áma)

Ha az állatokat 0,25 M szukroz jelenlétében szűrőn átszívva homogeni-
záljuk, az összes egyedek elroncsolódnak. Mikroszkópban csak különböző, kis-
méretű szemcséket, valamint a testfelszínről levált csillókat látunk. A homo-

genizálás során a nagymag is elroncsolódik, így a sejtmagok elkülönítése a továbbiak során elmarad. A 0,25 M szukrozt tartalmazó homogenátum 250 000 g. min. erejű centrifugálás hatására két rétegből álló üledékre és felüluszóra különül. Az alsó réteg kis térfogatú, barnás színeződésű és nagy fehérjetartalmú, fölötte egy kocsonyás, lazább, jóval nagyobb térfogatú réteg helyezkedik el [28]. Előzetes vizsgálatok szerint a vizsgált enzimek mindkét rétegben megtalálhatók, alig eltérő specifikus aktivitással. Ezért a két réteget általában együtt dolgoztuk fel. Ez a két réteg tartalmazza a mikroszkóppal látható szemcséket. A 2. táblázat szerint ez az üledék tartalmazza a vizsgált oxidatív enzimek aktivitásának több mint 80%-át, a hidrolázokénak pedig mintegy 75–80%-át. Ezek az eredmények arra mutatnak, hogy a kérdéses enzimeket a centrifugálással elkülönített részecskék hordozzák.

A szemcsékhez kötött enzimek funkcionális jelentősége nyilvánvalóan különböző és így valószínű, hogy több részecskepopulációval állunk szemben. Ezért a továbbiakban megkíséreltük az egyes populációk elkülönítését. Szukroz oldatokból centrifugacsövekben sűrűséggradienst készítettünk. A cső alján a sűrűség 1,25, a legfelső rétegben 1,11 volt, az átmenet a két szélső érték között lineáris volt. A 0,25 M szukrozban reszuszpendált részecskéket a gradiens tetejére rétegeztük, majd a rendszert $19,2 \times 10^6$ g. min. erővel centrifugáltuk. E centrifugális erő hatására az egyes részecskék addig vándorolnak a gradiensben, míg saját sűrűségükkel azonos sűrűségű zónába nem kerülnek. Ha a különböző szubcelluláris részecskék sűrűsége eltérő, mint az az emlőssejtek organellumairól ismeretes, akkor azok a centrifugálás befejeztével különböző szintekben tömörülnek.

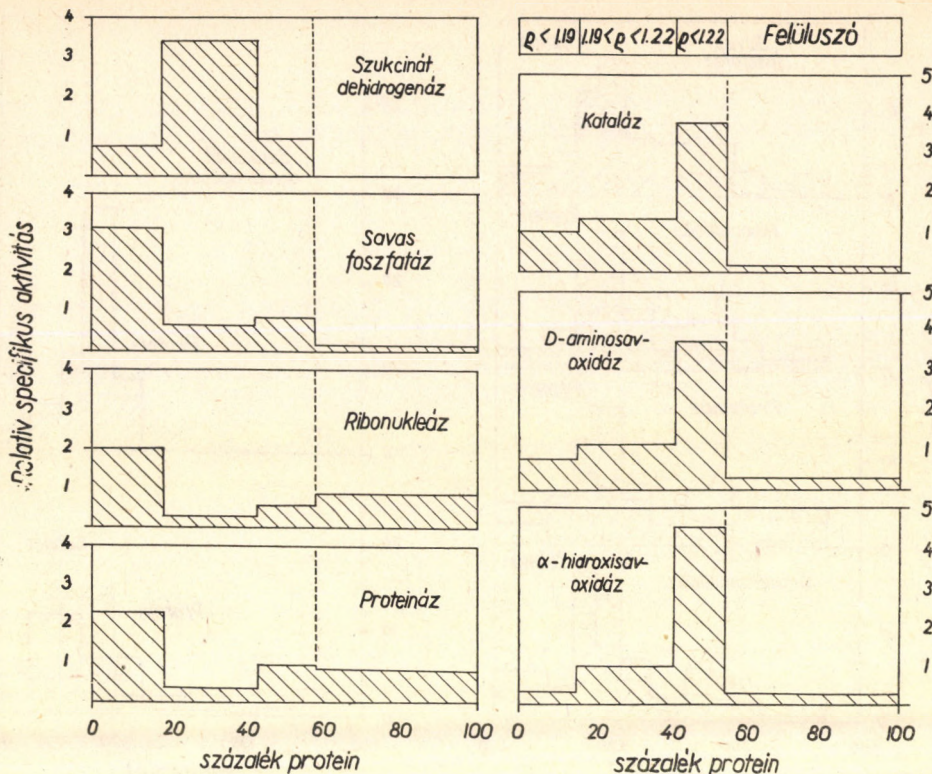
2. táblázat

Tetrahymena enzimek megoszlása 250 000 g.min. centrifugálás után

Enzim	Az üledék aktivitása a teljes aktivitás százalékában
(Fehérjék).....	54,9 ± 0,3 (3)*
Savas foszfatáz	86,0 ± 1,3 (3)
Ribonukleáz	83,6 ± 2,0 (3)
Deoxiribonukleáz	82,4 ± 7,5 (2)
Proteináz	73,3 ± 2,0 (2)
Amiláz	76,4 ± 1,7 (3)
Szukcinátdehidrogenáz	99,9 ± 0,2 (4)
Kataláz	94,4 ± 2,6 (6)
α-hidroxisavoxidáz	93,1 ± 7,2 (2)
D-aminosavoxidáz	89,5 (1)

* Közéérték ± S.D. (kísérletek száma)

Az 1. ábrán bemutatott kísérletben a centrifugacsőből mindössze 3 frakciót gyűjtöttünk. Az elsőbe az 1,19-nél kevésbé sűrű részt, a másodikba az 1,19 és 1,22 közötti sűrűségű zónát, a harmadikba az 1,22-nél sűrűbb részt gyűjtöttük. Mint látjuk, az enzimek specifikus aktivitása az egyes frakciókban eltérő. A könnyű frakcióban a hidrolázok (savas foszfatáz, ribonukleáz és proteináz), a másodikban a szukcinátdehidrogenáz, a harmadikban pedig bizonyos oxidázok (α-hidroxisavoxidáz, D-aminosavoxidáz) és a kataláz

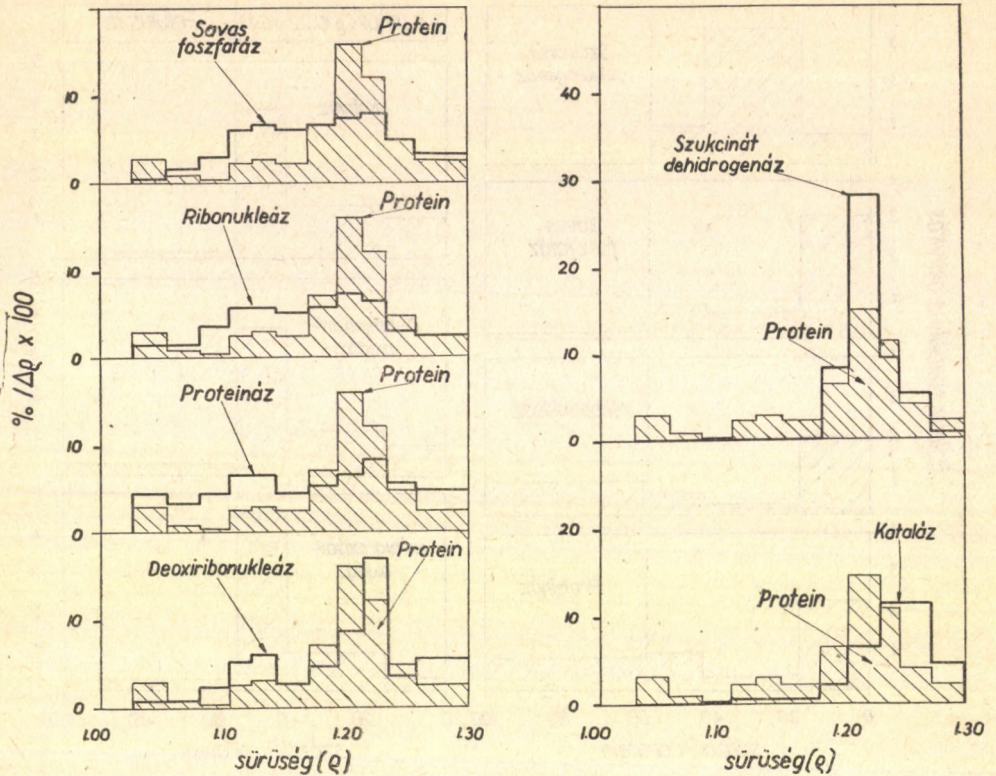


1. ábra. Enzimek megoszlása *Tetrahymena* homogenátumban. A nem szedimentálható felülúszó elkülönítése után a szedimentálható részecskéket szukrozgradiensben való izopiknotikus centrifugálásnak vetettük alá, majd a gradienst három különböző sűrűségű frakcióra osztottuk. Az enzimek relatív specifikus aktivitását mint az egyes frakciókban észlelt százalékos enzimaktivitásnak és a frakció százalékos fehérjetartalmának hányadosát fejeztük ki

specifikus aktivitása a legnagyobb. A felülúszóban egyik enzim sem koncentráldott. Ezen kísérlet alapján a vizsgált enzimeket három csoportba oszthatjuk. Ha a centrifugálás után nem három, hanem 10 frakcióra bontjuk a gradienst (2. ábra), azt találjuk, hogy a hidrolázok ugyan elsősorban a kisebb sűrűségű zónákban foglalnak helyet, megoszlásuk mégis elnyúló és sűrűbb régiókban is megtalálhatók. Ezzel ellentétben a szukcinátdehidrogenáz és a harmadik csoporthoz tartozó kataláz túlnyomó mennyisége csupán egy vagy két egymással szomszédos frakcióban jelentkezik, míg a többi frakciókban aktivitásuk jóval kisebb. Itt kell megemlítenünk, hogy más, itt nem közölt gradiensekben az amiláz megoszlása is megfelelt a többi hidrolázokénak. A most ismertetett kísérletek szerint tehát legalább három különböző szubcelluláris részecske jelenlétével kell számolnunk.

További vizsgálataink során az egyes enzimesoportok és az őket hordozó részecskék jellemzésével foglalkoztunk.

A kérdéses öt hidroláz mindegyikének pH-optimuma a savas tartományba esik (3. ábra). Ha a savas foszfatáz és ribonukleáz aktivitását 0°-on, a 0,25 M



2. ábra. Enzimek megoszlása *Tetrahymena* szubcelluláris partikulumainak szukrozgradiensben való izopiknotikus centrifugálása után. Az oszlopok magassága arányos az egyes frakciók százalékos enzimaktivitásának és a frakció (sűrűségváltozással kifejezett) magasságának hányadosával. A vonalkázott hisztogram a fehérje megoszlását mutatja

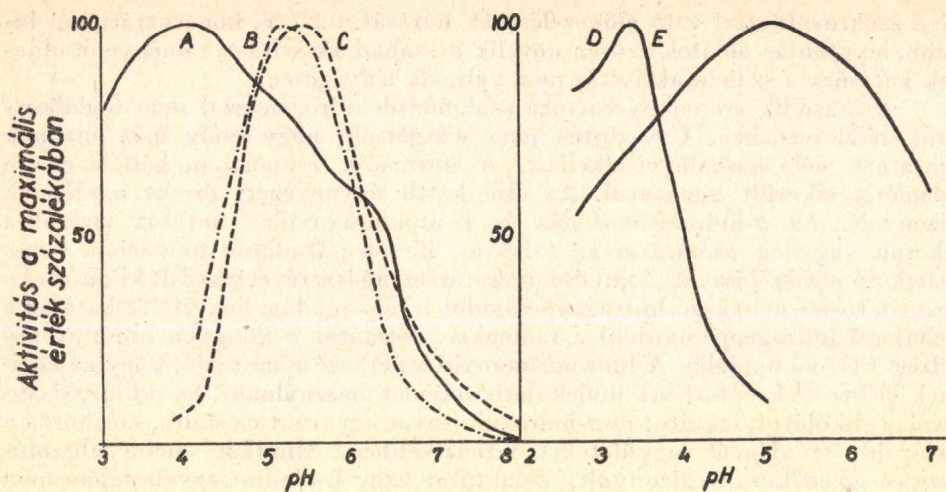
szukroz jelenlétében vizsgáljuk, tehát a részecskék integritását lehetőség szerint megóvjuk, azt tapasztaljuk, hogy a homogenátum teljes aktivitásának csupán 17%-a észlelhető mint szabad aktivitás és 83% látens marad (3. táblázat)

3. táblázat

Tetrahymena hidrolázok szabad aktivitása a teljes aktivitás százalékában (0°-on 0,25 M szukroz jelenlétében meghatározva, ha más megjegyzés nincsen)

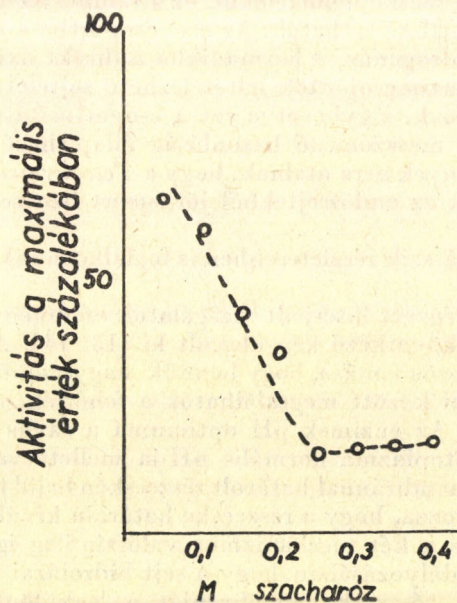
Kezelés módja	Savas foszfatáz	Ribonukleáz
Kezeletlen homogenátum	16,7 ± 3,1 (12)*	17,3 ± 9,3 (2)
0,05 M szukrozal 0°-on 30 percig előkezelve ..	64,6 (1)	—
3× fagyasztva és felengedve	59,9 ± 2,7 (2)	—
0,25 M szukroz jelenlétében 25°-on 10 percig meghatározva	34,4 ± 6,4 (4)	—
0,25 M szukroz jelenlétében 25°-on az inkubálás 30. percétől a 60. percéig meghatározva	100,7 (1)	90,8 (1)

* Közéérték ± S.D. (kísérletek száma)



3. ábra. *Tetrahymena* hidrolázok pH-aktivitás görbéi. A — savas foszfatáz; B — ribonukleáz; C — deoxiribonukleáz; D — proteináz; E — amiláz

lázat). A látens aktivitás többé-kevésbé szabaddá tehető, ha a homogenátumot a meghatározás előtt hipotóniás oldatok hatásának tesszük ki, ismételtlen megfagyasztjuk, vagy ha a meghatározást 0°-nál magasabb hőmérsékleten végezzük (3. táblázat). A 4. ábra mutatja a homogenátum különböző tömény-



4. ábra. *Tetrahymena* homogenátum savas foszfatáz szabad aktivitása 0°-on 0,25 M szukroz jelenlétében meghatározva. A homogenátumot 30 percig 0°-on különböző töménységű szukroz-oldatokkal előkezeltük

ségű szukrozoldattal való előkezelésének hatását. 0,25 M. koncentrációnál hígabb, hipotóniás oldatok erősen növelik a szabad aktivitást, töményebb oldatok hatására a szabad aktivitás nem változik lényegesen.

A második csoportba tartozó szukcinátdehidrogenázzal nem foglalkoztunk részletesebben. Úgyszintén nem vizsgáltuk, hogy mely más enzimek mutatnak vele hasonló viselkedést. A harmadik csoportban kétféle enzim jelenlétét sikerült kimutatni. Az első kettő úgynevezett direkt oxidáznak bizonyult. Az α -hidroxisavoxidáz és D-aminosavoxidáz hatását vizsgálva sikerült vegyileg kimutatni az L-laktát, illetőleg D-alanin oxidációja során keletkező piroszólósvavat. AEBI és munkatársai módszerével sikerült kimutatni a reakció során keletkező hidrogénperoxidot is, oly módon, hogy főlös kataláz a keletkező hidrogénperoxiddal a radioaktív formátot a könnyen kimutatható jelzett CO_2 -vé oxidálja. A hidrogénperoxid keletkezése mutatja, hogy az enzimek elektronakceptorként molekuláris oxigént használnak. Az α -hidroxisavoxidáz glikolátot, laktátot és α -hidroxivajsavat egyaránt oxidálta, még hozzá a hosszabb szénláncú vegyületeket intenzívebben. Mindkét enzim abszolút sztereo-specifikusnak bizonyult, D-laktátot vagy L-alanint egyáltalában nem oxidálták. A kataláz tulajdonságaival nem foglalkoztunk részletesebben.

Megvitatás

A vizsgált csillós egysejtű, *Tetrahymena pyriformis* a kísérleti eredmények szerint tehát számos olyan enzimet tartalmaz, melyek szubcelluláris részecskékhez kötöttek. Izopiknotikus centrifugálással, mely elkülöníti a különböző sűrűségű részecskepopulációkat, az általunk vizsgált enzimek három jól elkülöníthető csoportba oszthatók. Az első csoportba a hidrolázok, a másodikba a szukcinátdehidrogenáz, a harmadikba a direkt oxidázok és a kataláz tartoznak. Az egyes enzimescsoportok feltételezhető sejtélettani szerepük alapján is jól elhatárolhatóak. Egybevetve ezt a csoportosítást az emlőssejteken nyert eredményekkel, messzemenő hasonlóság állapítható meg. Ezek a biokémiai jellegű eredmények arra utalnak, hogy a *Tetrahymena* sejtorganelumai között megtalálhatóak az emlőssejtekből jól ismert lizoszomák, mitokondriumok és mikrotestek.

Helyénvalónak látszik részletesebben is foglalkoznunk az egyes csoportok egybevetésével.

Emlőssejteken végzett kiterjedt vizsgálatok eredményeképpen a lizoszomák biokémiájáról a következő kép alakult ki [13, 14]. Az idetartozó szubcelluláris részecskék közös vonása, hogy bennük nagyszámú hidroláz található, melyek szubsztrátumai között megtalálhatóak a fehérjék, nukleinsavak, bizonyos poliszacharidok. Az enzimek pH optimuma a savas tartományba esik, így aktivitásuk a protoplazma normális pH-ja mellett valószínűleg kicsiny. Az enzimek az elemi membránnal határolt részecskén belül foglalnak helyet és a membrán megakadályozza, hogy a részecske határain kívül levő anyagokra az enzimek hassanak. Ez a két mechanizmus valószínűleg igen fontos szerepet játszik annak megakadályozásában, hogy a sejt hidrolázai magát a protoplazmát tönkretegyék. A részecske membránját a legkülönbözőbb hatásokkal — hipotóniás oldatok, alacsony pH-n és magasabb hőmérsékleten való tartás, fagyasztás, detergensok stb. — fel lehet szakítani, és akkor az enzimek hatása akadálytalanul megnyilvánulhat.

Morfológiai vizsgálatok értelmében a lizoszomák igen változatosak, igen sokféle alakban fordulnak elő a sejtekben [42]. Megemlítjük, hogy a morfológiai vizsgálatokat igen segíti, hogy az egyik lizoszoma enzim, a savas foszfatáz, azon néhány enzim közé tartozik, melyeket elég megbízhatóan tudunk hisztokémiai módszerekkel kimutatni [42]. Mind morfológiai, mind sejtlejtani vizsgálatokkal sikerült kimutatni, hogy a lizoszomák alapvető szerepe a sejten belüli emésztés [13, 42]. A lizoszomák mint enzimhordozó struktúrák összeolvadnak azokkal a membránnal határolt vakuolumokkal vagy vezikulumokkal, melyek vagy endocitózis (fagocitózis és pinocitózis) során a sejt környezetéből felvett idegen anyagokat tartalmazzák, vagy a sejt belsejében eddig még részletesebben nem tisztázott módon a sejt állományának egy részét különítik el a sejt többi részétől. Az utóbbi struktúrák a lizoszomákkal összeolvadva a sejten belüli emésztés színterévé válnak és maguk is mutatják a lizoszomák biokémiai jellemzőit. Ezen az alapon tehát legalább két lizozomatípust kell elkülönítenünk — egyrészt a primér lizoszomákat, melyek kizárólag emésztőenzimeket tartalmaznak és még nem vettek részt az emésztésben, másrészt szekunder lizoszomákat, melyek az enzimeken kívül emésztendő vagy emésztett anyagokat is tartalmaznak és a fent említett összeolvadás útján keletkeztek. Az utóbbiak ismételten képesek összeolvadni endocitotikus vakuolumokkal, ami arra utal, hogy a lizoszoma és a benne levő enzimek ismételten részt vesznek az emésztésben. A lizoszomák a változatosságát, annak gyakorlatilag összes részleteivel kiválóan mutatják tenyésztett fibroblasztokon végzett újabb vizsgálatok [26].

Morfológiai és hisztokémiai vizsgálatok alapján már korábban következtettek arra, hogy egyesjtűek sejten belüli emésztésében részt vevő sejtorganelumok azonosak a lizoszomákkal [6, 35, 38, 40]. Az egyetlen látszólagos különbség, hogy az emésztővakuolum, mely a legtöbb fajban az emésztés színtere, a többi lizoszomális struktúráknál jóval nagyobb. *Tetrahymena pyriformis*-ban már fénymikroszkópos vizsgálatok szerint is mind az emésztővakuolumok, mind más jóval kisebb szemcsék is azonosíthatóak a lizoszomákkal [40, 47]. Sikerült továbbá kimutatni, hogy a keletkezésekor enzimeket nem tartalmazó táplálékvakuolummal (fagocitotikus vakuolummal) annak keletkezése után hamarosan összeolvadnak a kis struktúrák, és így az enzimaktivitást nyerve emésztővakuolummá alakul [35, 40]. Az emésztővakuolum tehát a fentiek értelmében másodlagos lizoszoma. *Tetrahymena* elektronmikroszkópos hisztokémiai vizsgálata szerint a kis szemcsék is legalább két csoportba sorolhatók. A primer lizoszomákon [24] kívül ide tartoznak kisméretű szekunder lizoszomák is, melyek a primér lizoszomák és más kis vezikulumok összeolvadása útján keletkeznek [25]. Valószínűleg az utóbbiak olvadnak össze a táplálékvakuolumokkal [25].

A morfológiai adatok fényében tehát a *Tetrahymena* sejten a lizoszomák rendszere igen jelentős szerepet tölt be. Ezek a vizsgálatok azonban csak egyetlen enzim, a savas foszfatáz viselkedésére derítenek több-kevesebb fényt. Azonban legalábbis bizonyos fenntartással kell élnünk, amikor a savas foszfatáz tartalmzó struktúrákat a lizoszomákkal azonosítjuk. Miután a többi lizoszomális enzim hisztokémiai kimutatására valóban megbízható módszerek nem állnak rendelkezésre, csak a biokémiai jellegű vizsgálatok segíthetnek annak kimutatásában, hogy más hidrolázok viselkedése is megfelel-e a savas foszfatáz magatartásának.

Egysejtűek lizoszomáinak biokémiájára vonatkozó adatokról egy kivételével nincsen tudomásunk. BOLTER és munkatársai *Chaos chaos* amöba intakt sejtjeinek centrifugálásával megállapították, hogy a savas foszfatáz [32], proteináz [31] és amiláz [30] szemcsékhez kötött és a szemcséket is elroncsoló homogenizálás után a felülúszóba megy át [29, 32]. Ezek az eredmények a részecskék, az úgynevezett α -granulumok lizoszomális jellege mellett szólnak.

Jelen vizsgálataink szerint a *Tetrahymena* vizsgált öt hidrolázának viselkedése is sok szempontból megfelel annak a feltételezésnek, hogy azok a lizoszomákban foglalnak helyet. Ezen enzimek (savas foszfatáz, ribonukleáz, deoxiribonukleáz, proteináz és amiláz) pH optimuma valóban a savas tartományba esik. Savas hidrolázok jelenlétét korábbi vizsgálatok is kimutatták *Tetrahymenában* (savas foszfatáz [2, 12, 34, 36], ribonukleáz [21, 46], deoxiribonukleáz [27], proteináz [19, 36], amiláz [50]), így eredményeink ezeket a közléseket csupán megerősítik. Szeretnénk kiemelni, hogy más fajok lizoszomáiban sokszor igen aktív β -glukuronidázt és aril-szulfatázt [13] nem sikerült *Tetrahymenában* kimutatnunk. Ez aláhúzza, hogy különböző állati sejtek lizoszomális enzimmészete nem szükségszerűen azonos, amint azt TAPPEL és munkatársai kiterjedt összehasonlító vizsgálatai különböző Metazoon fajokra, valamint egyes fajok különböző szerveire vonatkozólag kimutattak [48, 52]. Sikerült továbbá a jelen vizsgálatok során megállapítani, hogy az enzimek szubcelluláris részecskékhez kötöttek, továbbá, hogy az enzimeket hordozó részecskék magatartása nagymértékben egyező, igen valószínű tehát, hogy mind az öt enzimet ugyanaz a részecskepopuláció hordozza.

Az enzimek látens volta, tehát az a jelenség, hogy az intakt részecskében levő enzim külső szubsztrátumra nem tud hatni, egy további olyan jelenség, mely megerősíti a vizsgált enzimek lizoszomális jellegét [13, 17]. Vizsgálatainkban alkalmazott módszerek közül csak a savas foszfatáz és ribonukleáz meghatározása volt eléggé érzékeny ahhoz, hogy 0°-on értékelhető eredményt adjon. Valóban sikerült is kimutatnunk e két enzim látens voltát, továbbá a szabad aktivitás növekedését olyan kezelések után, melyek a lizoszoma membránját elroncsolják. Ezzel megerősítettük ALLEN és munkatársainak azon előzetes következtetését, melyet a savas foszfatáz lizoszomális természetére vonatkozott [2].

A lizoszomális enzimek elnyúlt megoszlása izopiknotikus centrifugálás után arra utal, hogy a részecskék fizikai tulajdonságai, elsősorban sűrűsége igen változó. Ez jól egyezik a lizoszomák fent említett morfológiai változatosságával. Lizoszomális frakciónk valószínűleg a kisméretű primér és szekunder lizoszomákból áll. Sajnos, az alkalmazott homogenizálási módszer nem kíméli az emésztővakuolumokat, azok felszakadnak és enzimeik így nem üleptíthetőek. A nem üleptíthető aktivitás egy része feltehetően ilyen eredetű. Igen kívánatos lenne megoldani az emésztővakuolumok izolálásának problémáját, melynek segítségével további adatokat nyerhetnénk a sejten belüli emésztés ismeretéhez.

Fentebb ismertetett vizsgálataink kizárólag a hidrolázokat hordozó részecskék lizoszomális természetére vonatkoztak. E részecskék sejtélettani szerepéről csak a már említett morfológiai, valamint a jövőben elvégzendő biokémiai vizsgálatok adhatnak részletesebb tájékoztatást. Úgy véljük azonban, hogy a fent tárgyalt adatok világosan mutatják az egysejtűek és a Metazoonok lizoszomáinak hasonlóságát és ezen keresztül hasonló sejtélettani szerepüket a sejten belüli emésztésben.

A második enzimescsoportot egyetlen enzim, a szukcinátdehidrogenáz alkotja. Más objektumok vizsgálata alapján ismeretes, hogy ez az enzim igen szorosan kötött a mitokondriumokhoz. Jogosulnánk látszik tehát, hogy mitokondriumoknak tekintsük a *Tetrahymena* azon szubcelluláris részecskéit is, melyek ezt az enzimet hordozzák. Az enzim megoszlási hisztogramja izopiknotikus centrifugálás után egyetlen magas csúcsot mutat, ami jelzi, hogy egy nagymértékben homogén részecskepopulációval állunk szemben. A *Tetrahymena* mitokondriumok átlagos sűrűsége gyakorlatilag azonos az egyetlen még vizsgált egysejtűn (*Chaos chaos* amóba [5]) és emlősmitokondriumokon (patkánymáj és -vese [10, 53]) kapott értékeknek. Miután más enzimeket nem vizsgáltunk, saját adataink alapján nincsen alapunk biokémiai összehasonlításra. Irodalmi adatok szerint *Tetrahymena* szubcelluláris részecskéi — valószínűleg mitokondriumok — tartalmazzák a trikarbonsavkör egyéb enzimeit [33] és oxidatív foszforilációra is képesek [23]. A *Tetrahymena* mitokondriumok tipikus tubuláris mitokondriumok [43]. Ezek a mitokondriumok tehát mind morfológiai, mind biokémiai szempontból megfelelnek más, elsősorban emlősfajok mitokondriumairól alkotott képnek és így jogos feltételeznünk, hogy sejtélettani szerepük sem más.

A mikrotestekre vonatkozó ismereteink elég szegényesek. Patkánymájból és -veséből sikerült ezeket a részecskéket elkülöníteni, melyekre jellemző, hogy bizonyos direkt oxidázokat és katalázt tartalmaznak [8—10¹⁵]. Az oxidázok α -hidroxisavoxidáz, D-aminosavoxidáz és urátoxidáz — (ez utóbbi csak májban fordul elő) és a kataláz közötti kapcsolatot a hidrogénperoxid képezi. Az oxidázok ugyanis molekuláris oxigént használnak elektronakceptorként és így az oxidáció termékei között hidrogénperoxid is jelentkezik. A kataláz pedig a keletkező hidrogénperoxidot elbontja, illetőleg azzal peroxidatikus oxidálásra képes. Fontos megjegyezni, hogy sok direkt oxidáz nem a mikrotestekben foglal helyet, viszont a kataláz gyakorlatilag ehhez az organelumhoz kötött. A mikrotesteket sikerült azonosítani az elektronmikroszkópos felvételekről ismert és már korábban leírt struktúrákkal [7]. E nem mitokondriális oxidatív részecskék sejtélettani szerepe egyelőre nem tisztázott.

Jelen vizsgálatainkban sikerült egy igen hasonló enzimmészettel rendelkező szubcelluláris részecskepopulációt a *Tetrahymenában* is kimutatnunk. EICHEL és REM [20, 22] mutatták ki, hogy az α -hidroxisavoxidáz a *Tetrahymenában* részecskékhez kötött. A *Tetrahymena* mikrotestek enzimmészletükön kívül igen nagy átlagos sűrűségük tekintetében is megfelelnek az emlőssejtekből izolált részecskéknek [9, 10, 53]. A mikrotestek előfordulása egy egysejtűben arra utal, hogy ez a sejtorganellum általánosan elterjedt lehet.

Vizsgálataink és az irodalmi adatok egybevetéséből tehát kitűnik, hogy a *Tetrahymena pyriformis* egysejtű testében legalább három olyan szubcelluláris részecske, sejtorganellum található, mely megfelel a Metazoonok sejtjeiből ismert hasonló sejtorganellumoknak. Ezek az eredmények is mutatják, hogy az egysejtű megoly differenciált sejtje is sok vonatkozásban megfelel a soksejtű szervezet sejtjének, és alátámasztják azt a felfogást, hogy a sejtes életforma kialakulásával az evolúció alapvető mechanizmusa nem a sejtek lényeges módosulásának, hanem más változásoknak útján játszódott le. Ez azonban nem jelenti, hogy a különböző szervezetek sejtjei között ne lennének mind mennyiségi, mind minőségi különbségek. Jelen dolgozatunkban azonban elsősorban az egyezésekkel és nem a különbségekkel kívántunk foglalkozni.

Összefoglalás

Tetrahymena pyriformis I. varietás II párzótípusának sejtjeiben található savas hidrolázok (savas foszfatáz, ribonukleáz, deoxiribonukleáz, proteináz, amiláz), szukcinátdehidrogenáz, direkt oxidázok (α -hidroxisavoxidáz, D-aminosavoxidáz) és kataláz mind szubcelluláris partikulumokhoz kötött enzimek. Az enzimek izopiknotikus centrifugálás során három csoportra különülnek. Az első csoportba a hidrolázok, a másodikba a szukcinátdehidrogenáz, a harmadikba a direkt oxidázok és a kataláz tartoznak. A hidrolázokról sikerült kimutatni, hogy azok latenciát mutatnak, mely a membránokat elroncsoló hatásokkal megszüntethető. Mindezek alapján megállapítható, hogy a kérdéses egysejtű homogenátumában megtalálhatók a Metazoon sejtekből ismert lizoszomák, mitokondriumok és mikroszomák.

Köszönetnyilvánítás

Szerző hálás köszönetét szeretné kifejezni Dr. CHRISTIAN DE DUVE professzornak, hogy a munka elvégzését lehetővé tette és azt állandó útmutatásaival és bírálatával elősegítette, a Tanszék munkatársainak és különösen Dr. PIERRE BAUDHUINnek, hogy tanácsaikkal és közreműködésükkel támogatták, Mlle. MAGDELAINE DEBBAUDTnak kiváló technikai közreműködéséért és Dr. S. H. HUTNERnek a *Tetrahymena* törzs átengedéséért.

IRODALOM

1. AEBI, H., QUITT, J., HASSAN, A.: (1962) Urikase, Xanthinoxidase und Monoaminoxidase als H_2O_2 -Donoren peroxydatischer Umsetzungen. *Helv. Physiol. Pharmacol. Acta*, **20**, 148—162.
2. ALLEN, S. L., MISCH, M. S., MORRISON, B. M.: (1963) Variations in the electrophoretically separated acid phosphatases of *Tetrahymena*. *J. Histochem. Cytochem.*, **11**, 706—719.
3. ALLFREY, V.: (1959) The isolation of subcellular components. In BRACHET, J., MIRSKY, A. E. *The Cell*. Academic Press, New York, **1**, 193—290.
4. ANDERSON, N. G. (1956) Techniques for mass isolation of cellular components. In OSTER, G., POLLISTER, A. W. *Physical Techniques in Biological Research*, Academic Press, New York, **3**, 299—355.
5. ANDRESEN, N., MUSHETT, C. W.: (1963) Investigations on mitochondria in homogenates of the amoeba *Chaos chaos* L. *C. R. Lab. Carlsberg*, **33**, 265—287.
6. BAK, I. J., ELLIOTT, A. M.: (1963) Lysosomes and related structures in *Tetrahymena pyriformis*. *J. Protozool.*, **10**, (suppl.), 21.
7. BAUDHUIN, P., BEAUFAY, H., DE DUVE, CH.: (1965) Combined biochemical and morphological study of particulate fractions from rat liver. *J. Cell. Biol.*, **26**, 219—243.
8. BAUDHUIN, P., BEAUFAY, H., RAHMAN-LI, Y., SELINGER, O. Z., WATTIAUX, R., JACQUES, P., DE DUVE, CH.: (1964) Tissue fractionation studies. 17. Intracellular distribution of monoamine oxidase, aspartate aminotransferase, alanina aminotransferase, D-aminosavoxidase and catalase in rat liver tissue. *Biochem. J.*, **92**, 179—184.
9. BAUDHUIN, P., MÜLLER, M., POOLE, B., DE DUVE, CH.: (1965) Non-mitochondrial oxidizing particles (microbodies) in rat liver and kidney and in *Tetrahymena pyriformis*. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **20**, 53—59.
10. BEAUFAY, H., JACQUES, P., SELINGER, O. Z., BERTHET, J., DE DUVE, CH.: (1964) Tissue fractionation studies. 18. Resolution of mitochondrial fractions from rat liver into three distinct populations of cytoplasmic particles by means of density equilibration in various gradients. *Biochem. J.*, **92**, 184—205.
11. COHN, Z. A., HIRSCH, J. S., WIENER, E.: (1963) The cytoplasmic granules of phagocytic cells and the degradation of bacteria. *Ciba Found. Symp. Lysosomes*, 126—144.
12. CONNER, R. L., MACDONALD, L. A.: (1964) The nature of the phosphatases associated with nucleotide metabolism in *Tetrahymena pyriformis*. *J. Cell. Comp. Physiol.*, **64**, 257—264.
13. DE DUVE, C.: (1963) The lysosome concept. *Ciba Found. Symp. Lysosomes*, 1—31.

14. DE DUVE, C.: (1965) The separation and characterisation of subcellular particles. *The Harvey Lectures*, Ser. 59, 49—87.
15. DE DUVE, C., BAUDHUIN, P.: (1966) The microbodies. (Sajtó alatt.)
16. DE DUVE, C., BERTHET, J., BEAUFAY, B.: (1959) Gradient centrifugation of cell particles. Theory and applications. *Progr. Biophys. Biophys. Chem.*, 9, 325—369.
17. DE DUVE, C., PRESMAAN, B. C., GIANETTO, R., WATTIAUX, R., APPELMANS, F.: (1955) Tissue fractionation studies. 6. Intracellular distribution patterns of enzymes in rat liver tissue. *Biochem. J.*, 60, 604—617.
18. DE DUVE, C., WATTIAUX, R., BAUDHUIN, P.: (1962) Distribution of enzymes between subcellular fractions of animal tissues. *Adv. Enzymol.*, 24, 291—358.
19. DICKIE, N., LIENER, I. E.: (1962) A study of the proteolytic system of *Tetrahymena pyriformis* W. I. Purification and partial characterization of the constituent proteinases. *Biochim. Biophys. Acta*, 64, 41—51.
20. EICHEL, H. J.: (1964) Abstracts of the VI. Internat. Congr. Biochem., New York, 305.
21. EICHEL, H. J., CONGER, N., FIGUEROA, E.: (1963) Extracellular ribonuclease of *Tetrahymena pyriformis* and comparison of its properties with the intracellular ribonuclease. *J. Protozool.*, 10, (suppl.), 6.
22. EICHEL, H. J., REM, L. T.: (1962) Respiratory enzyme studies in *Tetrahymena pyriformis*. V. Some properties of an L-lactic oxidase. *J. Biol. Chem.*, 237, 940—945.
23. EICHEL, H. J., REM, L. T.: (1963) Oxidative phosphorylation in particles from *Tetrahymena pyriformis*. In LUDVIK, J., LOM, J., VÁVRA, J., Progress in Protozoology, Publishing House of the Czechoslovak Academy of Science, Prague, 148—149.
24. ELLIOTT, A. M.: (1965) Primary lysosomes in *Tetrahymena pyriformis*. *Science*, 149, 640—641.
25. ELLIOTT, A. M., CLEMMONS, G. L.: (1966) An ultrastructural study of ingestion and digestion in *Tetrahymena pyriformis*. *J. Protozool.* (Sajtó alatt.)
26. GORDON, G. B., MILLER, L. R., BENSCH, K. C.: (1965) Studies on the intracellular digestive process in mammalian tissue culture cells. *J. Cell. Biol.*, 25, 41—55.
27. HAESSLER, H. A., CUNNINGHAM, L.: (1957) A comparison of several deoxyribonucleases of type II. *Exp. Cell Res.*, 13, 304—311.
28. HOGG, J. F., KORNBERG, H. L.: (1963) The metabolism of C₂-compounds in micro-organisms. 9. The role of the glyoxalate cycle in protozoal glyconeogenesis. *Biochem. J.*, 86, 462—468.
29. HOLTER, H.: (1954) Distribution of some enzymes in the cytoplasm of amoebae. *Proc. Roy. Soc. London*, B 142, 140—146.
30. HOLTER, H., DOYLE, W. L.: (1938) Über die Lokalisation der Amylase in Amöben. *C. R. Lab. Carlsberg, sér. chim.*, 22, 219—225.
31. HOLTER, H., LØVTRUP, S.: (1949) Proteolytic enzymes in *Chaos chaos*. *C. R. Lab. Carlsberg, sér. chim.*, 27, 27—61.
32. HOLTER, H., LOWY, B. A.: (1959) A study of the properties and localization of acid phosphatase in the amoeba *Chaos chaos*. *C. R. Lab. Carlsberg.*, 31, 105—127.
33. HUTNER, S. H. (szerk.): (1964) Biochemistry and Physiology of Protozoa, Academic Press, New York, 3.
34. KLAMER, B., FENNEL, R. A.: (1963) Acid phosphatase activity during growth and synchronous division of *Tetrahymena pyriformis* W. *Exp. Cell Res.*, 29, 166—175.
35. LANTOS T.: (1965/65) A fagocitózis vizsgálatának néhány újabb eredménye, különös tekintettel az egysejtűekre. *MTA Biol. Oszt. Közl.*, 7, 341—359.
36. LANTOS, T., MÜLLER, M., TÖRÖ, I., DRUGA, A., VARGHA, I.: (1964) Activity of acid phosphatase and protease in *Tetrahymena pyriformis* GL of different states of nutrition. *Acta Biol. Hung., Suppl.*, 6, 29.
37. LOWRY, O. H., ROSEBROUGH, N. J., FARR, A. L., RANDALL, R. J.: (1951) Protein measurement with the Folin reagent. *J. Biol. Chem.*, 193, 265—275.
38. MÜLLER, M.: (1966) Digestion. In FLORKIN, M., SCHEER, B. T. Chemical Zoology, Academic Press, New York, 1, (sajtó alatt).
39. MÜLLER, M.: (1966) Lysosomes in *Tetrahymena pyriformis*. I. Lysosomal nature of five hydrolases. *J. Cell. Comp. Physiol.* (előkészületben.)
40. MÜLLER, M., RÖHLICH, P., TÓTH, J., TÖRÖ, I.: (1963) Fine structure and enzymic activity of protozoan food vacuoles. *Ciba Found. Symp. Lysosomes*, 201—216.
41. NELSON, N.: (1944) A photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose. *J. Biol. Chem.*, 153, 375—380.
42. NOVIKOFF, A. B.: (1963) Lysosomes in the physiology and pathology of cells: Contributions of staining methods. *Ciba Found. Symp. Lysosomes*, 36—73.

43. PITELKA, D. R.: (1962) Electron microscopic structure of protozoa. Pergamon Press, London.
44. REDFEARN, E. R., DIXON, J. M.: (1961) Spectrophotometric methods for the determination of succinic-dehydrogenase and succinic-oxidase activities in mitochondrial preparations. *Biochem. J.*, **81**, 19—20P.
45. ROODYN, D. B.: (1965) The classification and partial tabulation of enzyme studies on subcellular fractions isolated by differential centrifuging. *Internat. Rev. Cytol.*, **18**, 99—190.
46. ROTH, S. J.: (1963) Partial purification and some properties of a ribonuclease from *Tetrahymena pyriformis* W. *J. Protozool.*, **10**, (suppl.), 24—25.
47. SEAMAN, G. R.: (1961) Acid phosphatase activity associated with phagotrophy in the ciliate, *Tetrahymena*. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **9**, 243—245.
48. SHIBKO, S., CALDWELL, K. A., SAWANT, P. L., TAPPEL, A. L.: (1963) Distribution of lysosomal enzymes in animal tissues. *J. Cell. Comp. Physiol.*, **61**, 85—92.
49. SIEKEVITZ, P., PALADE, G. E.: (1958) A cytochemical study on the pancreas of the Guinea pig. I. Isolation and enzymatic activity of cell fractions. *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, **4**, 203—218.
50. SMITH, I.: (1961) Extracellular enzyme production in *Tetrahymena pyriformis*. Disszertáció, Columbia University, New York.
51. STRAUB, F. B.: (1965) Biokémia. Medicina, Budapest.
52. TAPPEL, A. L., SAWANT, P. L., SHIBKO, S.: (1963) Lysosomes: distribution in animals, hydrolytic capacity and other properties. *Ciba Found. Symp. Lysosomes*, 78—108.
53. WATTIAUX-DE CONINCK, S., RUTGEERTS, M. J., WATTIAUX, R.: (1965) Lysosomes in rat kidney tissue. *Biochem. Biophys. Acta*, **105**, 446—459.
54. WHITTAKER, V. P.: (1965) The application of subcellular fractionation to the study of brain function. *Progr. Biophys. Molecul. Biol.*, **15**, 39—96.

A SEJTÉLETTARTAM ÉS ÖREGEDÉS INFORMÁCIÓ- ELMÉLETI MEGKÖZELÍTÉSE

BALÁZS ANDRÁS

(ORFI Gerontológiai Kutatóintézete. Igazgató: Dr. FARKAS KÁROLY, tudományos igazgató: Dr. HÁRANGHY LÁSZLÓ)

Béérkezett: 1966. január 5-én

Az elmúlt másfél évtized molekulár-biológiai, citológiai és gerontológiai kutatásai nyilvánvalóvá tették, hogy az öregedés *polifaktoros* és *több irányú*, komplex életfolyamat. Azok a régi kísérletek, hogy egyetlen szervrendszerre, pl. gonádokra, nemi hormonokra, idegrendszerre vagy egy irányú mechanizmusokra (pl. kopás, „kimerülés”, autointoxikáció) vezessék vissza, ma már munkahipotézisül sem alkalmasak és csak történeti érdekességűek.

Nagy figyelmet érdemelnek ellenben azok a törekvések, amelyek a kibernetika eredményeinek a gerontológiában való alkalmazhatóságát vizsgálják (ANDERSON, 1960, SZILÁRD, 1959, CALLOWAY, 1964, YOCKEY, 1960, CARPENTER, 1965). Bár fenti munkák többségükben csupán elméleti modellt megalkotására vállalkoznak, mégis napjainkban már érni kezd annak lehetősége, hogy összekapcsoljuk őket az újabb citológiai és biokémiai kísérleti eredményekkel (ANDREW, 1956, BERTOLINI, 1962, BJORKSTEN, 1962, 1963, COMFORT, 1963, HAHN, 1963, HARMAN, 1962, VERZÁR, 1963, WALKER, 1963, WULFF, QUASTLER és SHERMAN, 1962, WULFF, QUASTLER, SHERMAN és SAMIS, 1965). Természetes, hogy egy ilyen irányú szintézis sem törekedhet teljességre, de még arra sem, hogy egy-egy részletét a később felgyülemelő tények ne módosítsák. Megkísérlése mégis szükségszerű, mert nélküle nem lehetséges korszerű módszerekkel előrehaladni a gerontológia információelméleti kutatásában.

Kiindulásképpen leszögezhetjük a ma már sokoldalúan bizonyítható alaptényt: *a potenciális élettartam genetikailag determinált*. Erre mutatnak az élettartam összehasonlító tényadatai az egyes rendszertani kategóriákban, a családfa- és ikerkutatás eredményei (utóbbiban a mono-, ill. dizygoták öregedésének menete), és az élettartamra is érvényes heterózishatás kimutatása. Hasonlóképpen bizonyító erejű, hogy szelekció és beltenyésztéses továbbzaporítás útján hosszú-, ill. rövidéletű törzsek nyerhetők, hogy a nemi di- és polimorfizmus eseteiben az élettartamot is örökletes tényezők szabályozzák, hogy a sugárhatások okozta életrövidülés az utódokban is megjelenik, végül a progeria és a vele analóg, ugyancsak genetikailag determinált kóros elváltozások tényei.

Az örökletes hatás mértékére jellemző, hogy már egyetlen gén mutációja is (az aguti-lókuszbán, C57BL/6 egértörzsnél) hímeknél 9,4, nőtényeknél 13,9%-ban csökkent az átlagos élettartamot (HRUBANT, 1964). Lényeges megjegyezni, hogy nemcsak az élettartam felső határa, de a hozzá vezető involúció, öregedés *üteme* is determinált (BÜRGER, 1960, STREHLER, 1962), amit az információelméleti modellek megszerkesztésénél figyelembe is vettek (SZILÁRD, 1959).

A szervezet öregedésének legfontosabb jellemzői a sejtfunkciók csökkenése (BERTOLINI, 1962, VERZÁR, 1963), a termelt szabad energia redukciója (CALLOWAY, 1964), a parenchimatikus sejtek atrofíája (ANDREW, 1956) és következőképpen az alkalmazkodóképesség csökkenése (HARANGHY, 1959). Véleményünk szerint az élettartam és öregedés információelméletileg úgy közelíthető meg legésszerűbben, ha primér mechanizmusként a működéscsökkenés kialakulását citológiai szinten mint *a sejtinformációs rendszer meghibásodását* kutatjuk. A DNS — RNS — fehérjeszintézis — enzimműködés információláncban erre az alábbi lehetőségek adódnak:

1. Változások állhatnak be az életkor (idő) függvényeként magában a sejtfunkciókat vezérlő *tárolt* információban, a digitális és kombinatorikus sajátságokban egyaránt, vagyis a DNS struktúrájában, ill. mennyiségében. 2. Meghibásodhat maga a *jelátalakítás* mechanizmusa, akár a kódolás, akár a dekódolás folyamatában (DNS bázispárok → messenger RNS, ill. fehérjeszintézis-enzimműködés átmenetet illetően stb.). 3. Módosulások léphetnek fel az információt továbbító *csatornában*, pl. a „zaj”-szint növekedésében, a zajok elhárításának tökéletlenebbé válásában vagy, ezzel kapcsolatban, a kompenzációs mechanizmusok túlműködésében. 4. Végül meghibásodhat az információs rendszer *végpontja*, ami a termelt enzimek, makromolekulák csökkent működésében, aktivitásában, ill. új információ felléptében jelentkezik.

Hangsúlyoznunk kell, hogy az élettartam információelméletének kidolgozásánál sohasem a patológiás, hanem a normál, *fiziológiás öregedés* során beálló meghibásodásokat kell alapul vennünk (HARANGHY, 1959, BALÁZS, 1960, COMFORT, 1964). Előbbiek ugyanis sokkal inkább *specifikusak* (pl. az idős korban halmozottan fellépő carcinogenezis esetei; WALKER, 1963, vagy az extrém túlterhelésnél, éhezéskor stb. fellépő károsodások) és nem jellemzők a normál egyedfejlődésre. A fiziológiás öregedés kritériumaként jelenleg a következőket vesszük tekintetbe:

a) a változások az *idő* függvényeként lépnek fel, b) irreverzibilisek, c) nem masszívak (nem specifikusak) és d) az életképesség csökkenéséhez, meghatározott ponton a mortalitási ráta nagyfokú emelkedéséhez (derékszögű túllélési görbe) vezetnek. E kritériumokkal való egybevetés egyúttal bármely élettartam-információelmélet helyességének feltétele is.

Sorra véve a sejtinformációs rendszer meghibásodásának előbb említett lehetőségeit, egyeztetnünk kell azokat a rendelkezésre álló kísérletes tényanyaggal.

I. A tárolt információ változása a kor függvényeként

A tárolt információ a szervezetek öregedése folyamán a feltételezések (DANIELLI, 1956) szerint elsősorban *szomatikus mutációk* révén módosulhat. A durvább kromatikus aberrációk helyett inkább a pont- (cisztron) mutációk fellépte valószínűsíthető. Maguk a mutagén tényezők igen sokfélék lehetnek. A külső faktorok közül legintenzívebben a *sugárhatásokat* tanulmányozták, amelyek — fajoként eltérő küszöbértéken alul — a fiziológiás öregedést siettetik (a vélemények e tekintetben nem teljesen egyeznek; a szerτεágazó irodalom összefoglalása UPTON-(1960), ill. COMFORT-nál (1964). Az öregedés során számos, a normál anyagcsere menetében beálló *endogén* kémiai tényezőt is szomatikus mutagének tartanak. Így HARMAN (1962) a biológiai oxidáció

köztestermékeiként fellépő *szabad gyököket* (-OH, -OOH) jelöli meg. BJORKSTEN (1962) az involúció egyik fő okának a makromolekulák keresztkapcsolódásait tartja, amelyek kétfázisú savak, aldehidek stb. véletlen hatásaira jöhetnek létre.

Az élettartam kvantitatív genetikai elméletét SZILÁRD Leó (1959) fejlesztte ki legérdekesebben. Szerinte a vegetatív géneket az élet folyamán állandó károsodások (aging hit) érik, amelyek fokozatos inaktíválódáshoz vezetnek. Amikor a találatok száma eléri egy kritikus értéket, beáll az öregedés, ill. a halál. Valamely funkció akkor szűnik meg, amikor a homológ génpárok mindegyike találatot kapott, illetve csak az egyik, ha a másiknak öröklött sérülése (fault) van. A kritikus mennyiségű hibák elérésének (elméleti becslés alapján a sejtfrakció $2/3 - 11/12$ -ed részét inaktíváló érték) időtartama genetikailag determinált. SZILÁRD elméletét többen bíráló alá vonták. MAYNARD-SMITH (1959) kimutatta, hogy *Drosophila subobscura* beltenyészített törzse rövidebb átlagos élettartamú, mind a szabadon kereszteződő W^+ , ill., hogy előbbieket különböző vonalainak kombinálásakor igen erős, néha kétszeres heterózishatás mutatkozik úgy az átlagos, mint a maximális élettartam tekintetében. Mivel a beltenyészés növeli a homozigóta lokuszok számát, MAYNARD-SMITH ezeket a kísérletes megfigyeléseket összeegyeztetetlennek tartotta a találati elmélettel. Hasonló értelemben mutatta ki GOWEN (1961—1962), hogy röntgen-besugárzás után nem mutatkozik nagyobb protektív hatás a tri-, mint a diploid ♀ *Drosophila*-knál, továbbá, hogy heterozigóta egerek sem érzékenyebbek a szőr szürkülésére, mint a homozigóták. — A fenti ellenvetések ellenére a SZILÁRD-elmélet mint kvantitatív munkahipotézis, termékenynek bizonyult.

A szomatikus mutációk mennyiségére vonatkozó számítások egy további problémát tártak elő. A radioaktív sugárzások öregedést siettető hatását elemezve MAYNARD-SMITH (1962) megállapította, hogy azok kétségtelenül növelik a szomatikus mutációs rátát, azonban kisszámúak ahhoz, hogy a meghatározott korban fellépő rohamos öregedést megmagyarázzák, ha a sejtosztódásnál a mutált tulajdonság 1 : 1 arányú átadásával számolunk. COMFORT (1963) érdekes módon értékelte a találati elméletet. Egyrészt rámutatott, hogy az „aging hit”-ek következménye nemcsak a sejtvesztésben jut kifejezésre (mint a postmitotikus sejteknél), hanem substándard sejtklónok keletkezésében is. A továbbadással így az 1 : 1-es aránynál jóval szélesebb körű hatással lehet számolni, pl. olyan módon, hogy az új sejtpopuláció módosult antitesteket termel és növeli az immunológiai diverzitást. Utóbbi meglétét nemcsak a kor előrehaladtával, öregedésben, hanem leukémiában és általában a carcinogenezisben is kimutatták.

A tárolt információ korrallal összefüggő megváltozását a DNS szerkezeti módosulásai követhetjük nyomon. HAHN (1963) a kémiai és fizikai hatásokat egyaránt jelentőseknek tartja. Kísérletesen kimutatták (HAHN és VERZÁR, 1963), hogy idős szarvasmarha dezoxiribonukleinsava nagyobb termális stabilitású, denaturációja magasabb hőmérsékleten következik be, mint a borjúthymusból származó DNS-é. QUARTO DI PALO, MOMBELLI és GASTALDI (1964/65) leírták, hogy öreg patkányból származó DNS hő-extrahálhatósága csökken. Eleinte arra következtettek (VERZÁR, 1962), hogy a nem replikálódó sejtek DNS-ében a kovalens keresztkötések száma szaporodik fel idős korban. Később felmerült az a lehetőség, hogy mivel a kettős helikális struktúra hődenaturáció utáni helyreállításában nincs különbség a fiatal és idős egyedek között (HAHN, 1964/65), valószínű, hogy a histonok szorosabban kötődnek a dezoxi-

ribonukleinsavhoz. GOLDSTEJN és GERASZIMOVA (1962) a DNS-Fe komplexek gyakoribb keletkezését mutatták ki öregkorban.

Az információ kombinatorikus sajátosságainak a biológiai idő hatására végbemenő elváltozásaira csak néhány adathból következtethetünk. LINDH (1956), aki *Dugesia polychroa* idős példányaiban több polimerizált és kevesebb szabad nukleinsavat talált, mint a fiatalokban, azt is kimutatta, hogy előbbiekre a magasabb adenin: guanin arány jellemző; a fordítottja rejuvenációs folyamatot jelez (LINDH, 1958). Növényi sejtek involúciója során egyes esetekben ugyancsak észlelték a bázispárok arányváltozását, máskor viszont nem tudták azt kimutatni (SOROKIN, 1964).

A DNS mennyiségi változásaira ma még ugyancsak kevés az exakt gerontológiai észlelés; a meglévő adatokban sok az ellentmondás. Saját méréseink szerint (BALÁZS és HARANGHY, 1965, BALÁZS, KOVÁTS és BURG, 1965) *Drosophila melanogaster* vg mutánsaiban az össz-DNS koncentrációja az alábbiak szerint alakul. Fiatal imágóknál, hímeknél és nőstényeknél egyaránt jelentősen megváltozik a DNS mennyisége a bábból történt kibújási értékhez képest, továbbá a DNS/RNS hányados is, ami feltehetően az érési táplálkozással és intenzív kopulációval függ össze. Az idősebb (15—25 napos) egyedeknél, tehát az öregedés folyamatában a DNS-tartalom nem változott szignifikánsan. Természetesen, a testhomogenizátumban kapott, szárazanyag g-ra vonatkoztatott értékek csak eredői a különböző sejt típusokban és szervekben lezajló változásoknak, amelyek más adatok szerint eltérő irányúak lehetnek. DETWILER és DRAPER (1962) kimutatták, hogy a patkánymáj nyersúlyra vonatkoztatott, BÜRGER (1958) pedig, hogy az emberi agy szárazanyagra átszámított DNS-tartalma idős korra megnövekszik. WÜST (1962) a bélnyálkahártya, lép és tüdő DNS-koncentrációjának csökkenését tapasztalta. QUARTO DI PALO, MOMBELLI és GASTALDI (1964/65) viszont a szív kivételével valamennyi vizsgált szervben tapasztalta a DNS mennyiségi csökkenését. Az irodalmi adatokkal szembeni eltéréseket a módszerek különbözőségének (dezoxipentóz, ill. foszfor alapján történő meghatározás) tulajdonítják. Azokban az esetekben, amikor a DNS értékeket nem a szervek nyersúlyára, ill. szárazanyagtartalmára, hanem *magszámra* vonatkoztatták, bár *növekedés* során (8 napos → kifejlett patkány májában; JACOB, MANDEL és MANDEL, 1954) emelkedett, *öregedéskor* (12 → 27 hónapos patkányok mája; FALZONE, BARROWS és SHOCK, 1959) állandó értéken maradt a DNS koncentrációja. Így utóbbi korcsoportoknál a dezoxiribonukleinsav mennyisége jól használható a magszám meghatározására. SAMIS, WULFF és FALZONE (1964) ³H-al jelzett citidin beépülési sebességét vizsgálta idős és fiatal patkányok májsejtjeinek *magjába*, majd a DNS-t 65, ill. 75 C °-on extrahálta: az értékek ugyancsak egyenlőknek mutatkoztak.

A sejt információs rendszere nem szükségszerűen a tárolt hordozó szintjén hibásodik meg az involúció menetében. Differenciálódásnál (DE ROBERTIS, NOWINSKY és SAEZ, 1961) és a sejt öregedésében (STREHLER, 1962) egyaránt kifejezettebbek a citoplazma, mint a mag morfológiai elváltozásai.

2. Módosulások a jelátalakító mechanizmusban

Sajnos, egészen a legutóbbi évekig a finomabb biokémiai módszereket csak elvétve alkalmazták a gerontológiában; a molekuláris biológia viszont inkább a kifejlett szervezetek *térbeli*, mint *időbeli* folyamataira összpontosította a kuta-

tásokat. Evvel magyarázható, hogy a jelátalakítás, a kódolás és dekódolás mechanizmusainak időbeli meghibásodására vonatkozóan kevés közvetlen adattal rendelkezünk.

VERZÁR (1962) feltételezte, hogy a DNS molekulán belül a kor előrehaladtával felszaporodó H kötések blokkolják az információ helyes átadását a messenger RNS részére. Kétségtelen, hogy a hírvivő RNS szintjén már kimutathatók életkorral párhuzamos elváltozások. DETWILER és DRAPER (1962) öregedő patkányok májának RNS tartalmát elemezve kimutatták, hogy az 31,5 hónapos korra a felnőtt érték kétszeresére nő a sejtmagokban. A sejtek citofotometriás analízise útján, az össz-RNS meghatározási eredményeiből hasonló következtetésekre jutottak WULFF, QUASTLER és SHERMAN (1962) is. Többnyire azonban a gerontológiai célzatú vizsgálatokban nem választották ez ideig szét a messenger, transfer, ill. riboszómális RNS-t, így a jelátalakításban bekövetkezett módosulásokra csak indirekte következtethetünk vissza.

Az RNS kvalitatív változását LANSING (1951) figyelte meg, amennyiben idős sejtekben a ribonukleoproteidek Ca-hoz kötődését írta le a sejtthártya területén. Ami a kvantitatív viszonyokat illeti, általában jelentősebb nagyságrendűek a korrall összefüggő változások, mint a DNS tekintetében. Az össz-szervezeti RNS háztartás az egész ontogenezis során csökkenő tendenciát mutat; a növekedés periódusában (fiatal → felnőtt egerek: DAWBARN, 1932) csakúgy, mint az öregedés során (kifejlett → idős *Drosophila melanogaster* imágók: BALÁZS és HARANGHY, 1965). Akárcsak a DNS-t illetően, itt is különböző irányú kvantitatív változások *eredőjével* állunk szemben. Emberi agyban (BÜRGER, 1958) és vázizmokban (WÜST, 1962), továbbá patkánymájban (DETWILER és DRAPER, 1962), izomzatban és bélben (QUARTO DI PALO, MOMBELLI és GASTALDI, 1964/65) az RNS koncentráció csökkenését észlelték. BARROWS, ROEDER és FALZONE (1962) vad ♀ patkány májában, WÜST (1962) emberi májban és tüdőben ennek ellenkezőjét mutatták ki. — A teljes szervek extrakciója után végzett meghatározásoknál érdekesebb eredményre vezettek a különböző típusú sejteken citofotometria és autoradiográfia segítségével végzett mérések. WULFF és FRESHMAN (1961) patkány szívizom- és kisagyi Purkinje sejtjeiben, WULFF, PIEKIELNIAK és WAYNER (1963) patkány dorzális gerincvelői gyökérsejtjeiben és kérgi piramis sejtjeiben észlelte az RNS mennyiségi csökkenését. Egér májsejtjeiben viszont (WULFF, QUASTLER és SHERMAN, 1962) emelkedett, patkány gerincvelői elülső mozgatóidegsejtjeiben és n. supraopticusának neuroszekretorikus sejtjeiben (WULFF, PIEKIELNIAK és WAYNER, 1963) az életkortól függetlenül állandó szintet mutatott. Ezek az önmagukban nem sok összefüggést mutató inert RNS-értékek érdekes következtetésekre adtak alapot, amikor inkorporációs vizsgálatokkal kötötték össze őket. Kitűnt ugyanis, hogy a beépülési sebesség mindig hasonló irányban változik, mint az RNS tartalom, de ha utóbbi nő, a H₃-al jelzett citidin mennyisége gyorsabban, ha csökken, lassabban módosul. Más szóval a beépült trícium/RNS mennyiség hányadosa a korrall párhuzamosan növekszik. Mérési eredményeik alapján WULFF, QUASTLER és SHERMAN (1962) feltételezték, hogy 1. öregedés folyamán az RNS szintézis helyei károsodnak, 2. a károsodott helyeken hibás messenger RNS képződik, amely a normál funkciók ellátására képtelen enzimeket produkál, 3. a szubsztrát molekulák felhalmozódása az RNS szintézis „de-represszióját” hozza létre és 4. a defektív RNS kevésbé stabil, mint a normál, következésképpen az RNS beépülési sebesség/RNS tartalom hányadosa az életkorral párhuzamosan növekszik. A sejt tehát addig működőképes, amíg a

de-represszált RNS szintézis a funkciók ellátásához elegendő enzimet tud termelni; utána bekövetkezik a sejthalál. Később azt is bebizonyították (WULFF, QUASTLER és SHERMAN, 1964), hogy az idős egerekbe beépülő [RN-áze labilis] ^3H -jelzett citidin a következő sorrendben jelenik meg az egyes szervekben, a fiatalokhoz képest: vese > máj > simaizom > vázizom. Az RNS specifikus aktivitása idős patkányokban (SAMIS, WULFF és FALZONE, 1964) és egerekben (WULFF, QUASTLER, SHERMAN és SAMIS, 1965) magasabb, mint fiatal példányoknál.

3. Az életkor hatása az információt továbbító csatornában végbemenő folyamatokra

Kétségtelen, hogy a sejt öregedése során a *zajszint* emelkedik (ANDERSON, 1960). Számos citológiai változás (mitochondriumok számcsökkenése, STREHLER, 1962; lipofuscin felhalmozódás, ANDREW, 1956, és mások; a permeabilitási viszonyok romlása, LANSING, 1951 stb.) teszi bizonyossá ezt. De ugyanilyen irányban hatnak az *extracelluláris* öregedési elváltozások, mindenekelött a kötőszöveti alapállomány és kollagén rostokat illetően (VERZÁR, 1962, 1963), például olyan módon, hogy a rostsűrűsödés a sejtek oxigénellátásának és a bomlástermékek eltávolításának romlásához vezet (SOBEL, 1962). Számos hasonló öregedési elváltozást írtak le, amelyeknek információ-továbbítása szempontjából két irányú következménye lehet. Tökéletlenné válhat a „zajok” elhárítása, továbbá a korábban a homeosztázis fenntartását szolgáló kompenzációs működések túlzott mértékűekké válhatnak.

Természetesen, semmiféle határvonalat nem lehet húznunk abban a tekintetben, hogy a meghibásodás mennyiben a csatornában, ill. az információs lánc végpontjában következik be. A csatornában lezajló módosulások *determinálják* a végponton létrejövő meghibásodás természetét (vagyis a fehérjeszintézis, az enzimprodukció sérülését). Utóbbiak az információ helyes továbbítása szempontjából *stohasztikus* jellegűek; egyes esetekben nem befolyásolják a csatornában levő biológiai viszonyokat, máskor viszont a feedback mechanizmusok révén azok további romlásához járulnak hozzá.

4. Sérülések az információs lánc végpontjában

A sejtek involúciójánál, bármelyik szinten is történik a meghibásodás, a funkció ellátása szempontjából a végső károsodást a *folymatos enzimprodukciónak sérülése* jelzi. Az öregedés molekuláris szinten abból adódik (közvetlenül), hogy a sérült enzimek hibás, kisebb vagy megnövekedett mennyiségű anyagokat produkálnak. Magában a fehérjeszintézisben, ill. anyagcserében részt vevő enzimek körében az eddig leírt öregkori elváltozások a vártnál kisebb mértékűek. BARROWS és ROEDER (1961) 1–24 hónapos ♀ patkányok fehérjeanyagcseréjét elemezte normál állapotban, ill. fehérje megvonás és újratáplálás után. A májban és vesében vizsgált fermentek közül egyedül a katepszin mutatott szignifikáns elváltozást (aktivitásnövekedést) idős korban, ami a fehérje lebontási sebességének emelkedésére utal. Ugyanakkor azonban az ^{35}S jelzett metionin eltűnési sebessége a májban csak igen kis vagy semmi szignifikáns eltérést sem mutatott. Ezzel szemben BERTOLINI (1962) összefog-

laló munkájában több enzim aktivitásának jelentős mértékű megváltozásáról számolt be. Erithrocytáknban a kataláz, acetilkolinszteráz és foszfogliceráldéhid-dehidrogenáz aktivitás közel 90 (!), a methemoglobin-reduktázé 35, a glukóz-6-foszfátáz dehidrogenázé 60, a glutamin-oxálecetsav-transzaminázé 45%-al csökkent, a piroszóló-glutaminsavtranszamináz 9, az aldoláz-aktivitás 45%-al emelkedett idős korokra. Azonban nem pusztán a vörösvértestek öregedése (inkubációja) vezet ilyen nagyfokú enzimatiszus átalakuláshoz, de különbségek vannak az újonnan képződött sejtek esetében is. Így pl. (BERTOLINI, 1962) idős egyének fiatal vörösvérsejtjeiben 14,8%-al alacsonyabb az aldoláz, 32,6%-al a kolinszteráz aktivitás, mint fiatal emberek újonnan képződött erithrocytáiban.

Sajnos, ma még nincsenek adataink maguknak a nukleinsavaknak a szintézisében szereplő enzimek, pl. a DNS- és RNS-polimeráznak az idő függvényében történő aktivitás-változásairól. A lebontó fermentekről viszont ismeretessé vált, hogy különösen az állatok érése és növekedése, de gyakran öregedése menetében is jelentősen módosulnak. KURNICK és KERNEN (1962) ♂ egerek szerveiben kimutatták, hogy a savanyú *dezoxiribonukleáz* aktivitása az érési periódus alatt a kezdeti érték 5—6-szorosára nő a thymusban, 3—4-szeresére a lépben, aztán késő öregkorig állandó szinten marad. A májban és vesében viszont a felnőtt állatok involúciójakor is találtak kismértékű aktivitásemelkedést, a csontvelőben csökkenést. A lúgos *dezoxiribonukleáz* aktivitásában éppen megfordítva, az állatok öregedése során az aktivitás csökkenését észlelték. Az öregedés szempontjából a nukleinsav anyagszerében részes enzimek „meghibásodásának” elsőrendű jelentősége van, ami jól kitűnik szövettényezetek esetén is. Törő (1953) mutatott rá, hogy idős patkányok májából nyert szövetek tenyésztete azért képtelen növekedésre és regenerációra, mert széli zónáiban nincs RNS szintézis.

Citológiai tényezők szerepe a molekuláris involúcióban

Mind ez ideig a molekuláris szinten végbemenő öregedésről általánosságban, a *sejttípus* figyelembevétel nélkül tárgyaltuk a rendelkezésre álló adatokat. Mindez kielégítő addig, amíg az involúció egyik legfeltűnőbb morfológiai ismervét, a *sejtek* atrófiáját kívánjuk megmagyarázni. Az öregedésre azonban, mint közismert, nemcsak a parenchimatikus elemek sorvadása, de más, interstitiális, kötőszöveti elemek *felszaporodása* is jellemző (HARANGHY, 1959, BALÁZS, 1960, VERZÁR, 1963, COMFORT, 1964). Nagy *asszinkronitás* áll fenn a braditrof és tachitrof szövetek öregedése közt (BÜRGER, 1960), a sejtek *differenciáltságától* és *élettartamától* függően (STREHLER, 1962, DE ROBERTIS, NOWINSKY és SAEZ, 1961). Ezért elengedhetetlen, hogy a molekulárbiológiai folyamatokat tovább differenciáljuk a sejttípusok szerint az öregedés információelméletének kidolgozásánál.

A citológiai osztályozásnál COWDRY (I. LANSING, 1952) a differenciáltság fokát és mitózis-képességet vette alapul, megkülönböztetve *a*) a fix postmitotikus sejteket, maximális differenciáltsággal és osztódásképtelenséggel, *b*) a fakultatíve postmitotikusokat, amelyek általában nem, csak különleges ingerekre kerülnek mitózisba, pl. regeneráló májsejtek, *c*) vegetatív intermitotikus sejteket, kis differenciáltsággal, erős proliferációs hajlammal; körükben a sűrű osztódások elejét veszik az involutív, regresszív sejtfajlásnak, és *d*)

differenciálódó mitotikus sejteket, az előbbieket leszármazottait, pl. a vérképzés köztes sejtjei. A differenciáltság foka mellett szükségesnek látszik a *sejtélet-tartam* figyelembevétel is, amelyről az autoradiográfia módszerének bevezetése óta van pontosabb képünk (LEBLOND és WALKER, 1956). ^{32}P , ^{14}C és ^3H izotópok beépítése, és az állatok 8 nap, ill. 6 hónap múltán történt előlése után végzett vizsgálatokból kiderült, hogy a sejteket élettartamuk alapján három nagyobb csoportba sorolhatjuk: *a*) stabil sejtpopuláció (lassú beépülés, hosszú élettartam, pl. idegsejtek, sima-, harántcsíkolt- és szívizomrostok), *b*) „növekvő” sejtpopuláció (közepes inkorporációs idő és élettartam, pl. a máj parenchima-sejtek, pajzsmirigyhám, vese kéreg és velősejtjei), és *c*) „megújuló” sejtpopuláció (gyors beépülés, rövid élettartam, pl. a nyelv és vastagbél hámsejtjei, a thymus kéregsejtjei stb.).

Gerontológiai szempontból különösen a két szélsőséges típus: a hosszú élettartamú, további osztódásra képtelen, *postmitotikus* sejtek és a rövid generációs idejű, differenciálatlan *premitotikus* (vegetatív intermitotikus) típusok szétválasztása szükséges az információátvitel megítélésénél. Utóbbi formáknál, egészen a legutóbbi időkig kétségbevittek életkortól való függőségüket, hangoztatva, hogy idős korban is megtartják osztódási potenciáljukat. Az egzakt módszerek bevezetése azonban megcáfolta ezt a hiedelmet, kimutatva, hogy a bél Lieberkühn-kriptáinak sejtjeinél idős korban a mitózis-frekvencia alacsonyabb, a bolyhokig történő áthaladási idő hosszabb, mint fiatal állatoknál (LESHER, FRY és KOHN, 1961, FRY, LESHER és KOHN, 1962). WHITELEY és HORTON (1962) ♂ és ♀ CBA egereknél tapasztalták, hogy az eltávolított szőrzet regenerációja 3–54 nappal később indul meg 2,5 éves, mint 3 hónapos példányoknál.

Továbbmenően az is kétségtelen, hogy a szervezetek előregedésének információelméleti magyarázatánál a molekuláris adatokat nemcsak a citológiai szinten kell differenciálni. Erre különösen két tényező hívja fel a figyelmet: 1. hogy az extracelluláris faktorok is lényeges változásokon mennek át a kor előrehaladtával (nemcsak a kollagén, retikulinrostok, de a kötőszöveti alapállomány öregedési folyamataira gondolunk, amelyek néha igen kifejezett morfológiai jelekben is megnyilvánulnak; HARANGHY, BALÁZS és BURG, 1965) és 2. a sejt- és szövettenyészeteken nyert adatok.

Utóbbiak tárgyalása előtt emlékeztetnünk kell arra, hogy a sejtek élettartamát illetően igen nagy eltérések ismeretesek; pl. az emberi vörösvértestek néhány hónapot érhetnek meg, a neuronok akár száz évet is. Kérdés, hogy milyen mennyiségű a bennük foglalt információ-tartalom? A *Dancoff-elv* (DANCOFF és QUASTLER, 1953) szerint a sejtek génjeiben foglalt kódolt információ nagy feleslegben van (ami a túlélés szempontjából előnyös), de csak olyan mértékben, hogy a hibák egy elviselhető szintet ne lépjenek túl. A sejttenyésztés és sejtregeneráció adatai (kezdve CARREL és M. HARTMANN úttörő kísérleteitől, cit. COMFORT, 1964) azonban arra mutatnak, hogy a sejt információ-tartalma — legalábbis meghatározott esetekben — igen magas, szinte korlátlan. Ha a szervezet (többsejtű szervezet) körülményei között mégis meghatározott rövid időn belül elpusztulnak a sejtek, azt jelenti, hogy a belső miliő feltételei távolról sem optimálisak, s egyúttal teoretikusan alap nyílik arra, hogy ezek megjavításával az élettartam is radikálisan megnyújtható legyen. A sejtek, információs egységek, bár azonos génstruktúrával rendelkeznek, eltérő élettartamúak; feltehetően eltér a károsító tényezőkkel (SZILÁRD „aging hits”-jei) szembeni ellenállóképességük, — különböző érzékenységgük.

Kérdés azonban, hogy az információs *elemek*, a citológia szintjén történő meghibásodásból hogyan magyarázhatjuk az egész bonyolult többsejtű szervezet előregedését?

Az allometria fogalmának gerontológiai alkalmazása

Természetesen ennek a rendkívül bonyolult összefüggésnek a magyarázatára ma még igen hiányos adatokkal rendelkezünk. Bizonyos elvek leszögezését azonban lehetségesnek tartjuk; ilyen például a RENSCH (1953) által az embriológiában használt *allometria* fogalmának kiterjesztése az ontogenezis későbbi szakaszaira, így az öregedés folyamatára is.

Ma már nyilvánvalóan bizonyítható (l. HARANGHY, 1959), hogy az öregedés normál biológiai folyamat. Magunk (BALÁZS, 1960) arra is rámutattunk, hogy bár az embrionális fejlődésnél kisebb mértékben, de az öregedésben is olyan jelentős kvantitatív változások alakulnak ki, hogy a felnőtt szervezet eredeti arányai módosulnak; vagyis az ontogenezis befejező szakaszára is alkalmazható az allometria fogalma. Az egyedfejlődés egységes, a megtermékenyítéstől a halálig tartó felfogására épül BÜRGER (1960) biomorfózis elmélete és SZILÁRD ismertetett teóriája is. Ugyanakkor az időben zajló folyamatokat differenciálnunk kell; nem ritkán a szerzők az életkortól függetlenül öregedési folyamatként tárgyalnak ontogenetikus változásokat, holott pl. a növekedés, differenciálódás, ill. öregedésnek nemesak morfológiai, de molekuláris biológiai ismérvei is homlokegyenest ellenkezőek lehetnek (BALÁZS, 1963). Erre SOROKIN (1964) is rámutat, aki növényi sejtek öregedésében egyenesen szétválasztja a „primér” és „szekundér” öregedést, amelyek részben hasonló fogalmat takarnak.

Az allometrikus-, arányváltozások az élő szervezet minden szintjén kimutathatók a kor előrehaladtával. *Molekuláris* szinten pl. az egyik leglényesebb átalakulás a RNS/DNS hányados módosulása öregkorban (WÜST, 1962, DETWILER és DRAPER, 1962), a vér albumin/globulin hányadosának csökkenése (BÜRGER, 1960) stb. Biofizikai oldalról új elméletében CARPENTER (1965) a komplex molekulák felhalmozódásának fontosságára mutatott rá, melyek a diffúziós rátát csökkentik. *Citológiai* szinten elegendő a neuronokban kimutatott öregedési arányváltozásokat idézni (ANDREW, 1956): a sejtorganellek közül a mitochondriumok, tigroid, lizoszómák, endoplazmatikus retikulum mennyisége csökken, ugyanakkor a lipofusciné felszaporodik. *Szöveti* tekintetben a parenchimatikus elemek sorvadnak, az interstitium szaporodik fel, a *szervek* közül pedig elegendő a máj, ill. szív relatív tömegére utalni; előbbi csökken, utóbbi emelkedik. *Az össz-szervezeti anyagcsere* egyik jellemző módosulása, hogy az oxigénellátás romlása részben az anaerob származású energia jobb hasznosítása által kompenzálódik (SOBEL, 1962).

Az allometrikus változások azonban nemcsak a térbeli, hanem az *időbeli* arányeltolódásokra is vonatkoznak, ami megnyilvánul pl. az *endogén ritmusok deszinkronizációjában* (KISZELY, 1964/65).

Ilyen módon az információs rendszer *elemeinek diszharmonikus átalakulása* végső soron az *egész szervezet* átalakulásához vezet, amely viszont tovább fokozza az egyes sejtek öregedését. Végül is lehetetlenné válik a „zajok” megfelelő elhárítása, az adaptációs készség romlik, beáll az aggkor, majd a halál.

Következtetések

Az ismertetett szemlélet értelmében a *gerontológiai alap kutatások fő célkitűzését* az irreverzibilis, allometrikus elváltozások létrejöttének lassításában, ill. rendszeres eliminációjában látjuk. Ennek a következő útjai lehetségesek:

1. A sejt információs rendszerét inaktíváló tényezők visszaszorítása, pl. a szomatikus pont- (cisztron-) mutációk rátájának csökkentésével. Kísérletesen HARMAN (1962) érte el -SH tartalmú és más antioxidánsok alkalmazásával az egerek átlagos élettartamának meghosszabbítását. Ebből a szempontból a mitózisgátlók gátlási lehetőségeinek tanulmányozása nemcsak általános citológiai, de gerontológiai szempontból is sok új eredményt hozhat.

2. Az inaktíválódott elemek eliminációja és pótlása. Erre a lehetőségre, jelenleg elsősorban a jól regeneráló állatfajoknál nyílik mód. A *Dugesia lugubris* planária-fajnál pl., mint azt kísérletesen kimutattuk (BALÁZS, 1963), az idős példányok amputáció utáni redifferenciációjának sebessége és regenerációs kapacitása megegyezik a fiatalokéval, csupán a blasztéma kezdeti növekedésében van némi eltérés. Így mód van arra, hogy a kor előrehaladtával kialakuló öregedési tüneteket (BALÁZS és BURG, 1962; HARANGHY és BALÁZS, 1964) a regeneráció folyamatában meghatározott mértékben visszafejlesszük. Különösen a neoplastok és idegsejteknek a rejuvencióban vitt szerepét tanulmányozva várhatjuk (kísérletes adatokat l. BALÁZS, 1964), hogy támpontokat nyerünk magasabb rendű fajok rejuvenciósi lehetőségeire is. Különös jelentősége lenne a neuronok (és általában a postmitotikus sejtek) osztódásra bírásának, ami nemcsak elvileg lehetséges, de megvalósították kísérletesen is (idős csótány lábregenerációja fiatalabb példánnyal véghezvitt parabiózis során, SHOCK, 1961; gerincesek magvas vörösvérsejtjeiben Röntgen-besugárzást követően, RAPPAY, 1964; idős idegszövettenyészetben, WEYMOUTH, cit.: VERZÁR, 1963 stb.). Az inaktíválódás ugyanis nem csupán az idős sejt attribútuma, hanem a sejté és környezetéé együtt. E téren, a replikáció problémájában fognak véleményünk szerint találkozni a molekuláris biológia, a citológia és információelméleti megoldásokra törekvő gerontológia kutatásai.

IRODALOM

1. ANDERSON, N. G. (1960) Approaches to aging on the molecular level. In: STREHLER (edit.): *The biology of aging*, 105—112. AIBS, Washington.
2. ANDREW, W. (1956) Age changes in the morphology of tissues and cells. *Fed. Proc.* 15, 942—947.
3. BALÁZS A. (1960) A gerontológia fejlődésbiológiai problémái. *Biol. Közl.*, 8, 159—167.
4. BALÁZS, A. (1963) Biomorphose und Gerontologie. In: BANASCHAK, (edit): *Biologie der Lebensalter*, 126—129. Th. Steinkopff, Dresden. u. Leipzig.
5. BALÁZS, A. (1964) Experimental analysis of ageing and rejuvenation in planarians. In: *Age with a future*. 155—158. Munksgaard, Copenhagen.
6. BALÁZS, A. (1965) Experimental investigations to the regenerative ability of planarians in old age. In: BALÁZS (edit.): *Intern. Conf. Geront.*, 111—116., Akadémiai Kiadó, Budapest.
7. BALÁZS, A. and BURG, M. (1962) Span of life and senescence of *Dugesia lugubris*. *Gerontologia*, 6, 227—236.
8. BALÁZS, A. and HARANGHY, L. (1965) Alteration of nucleic acid content of *Drosophila melanogaster* imagoes during ripening and ageing. *Acta Biol. Hung.*, 15, 343—350.
9. BALÁZS, A., KOVÁTS, Z. and BURG, M. (1965) Nucleic acid changes due to age and starvation. In: BALÁZS (edit.): *Intern. Conf. Geront.* 171—173. Akadémiai Kiadó, Budapest.
10. BARROWS, CH. H. and ROEDER, L. M. (1961) Effect of age on protein synthesis in rats. *J. Geront.*, 16, 321—325.

11. BARROWS, CH. H., ROEDER, L. M. and FALZONE, J. A. (1962) Effect of age on the activities of enzymes and the concentrations of nucleic acids in the tissues of female wild rats. *J. Geront.*, **17**, 144—147.
12. BERTOLINI, A. M. (1962) Modifications of cellular enzymatic systems during ageing. *Gerontologia*, **6**, 175—187.
13. BJORKSTEN, J. (1962) Aging: present status of our chemical knowledge. *J. Americ. Geriat. Soc.*, **10**, 125—139.
14. BJORKSTEN, J. (1963) Aging, primary mechanism. *Gerontologia*, **8**, 179—192.
15. BÜRGER, M. (1958) Der Desoxyribonukleinsäure- und Ribonukleinsäuregehalt des menschlichen Gehirns im Laufe des Lebens. *Z. Alternsforschung*, **12**, 133—139.
16. BÜRGER, M. (1960) *Altern und Krankheit als Problem der Biomorphose*. VEB, Georg Thieme, Leipzig.
17. CALLOWAY, N. O. (1964) A general theory of senescence. *J. Amer. Geriat. Soc.* **12**, 856—862.
18. CARPENTER, D. G. (1955) Diffusion theory of aging. *J. Gerontol.*, **20**, 191—195.
19. COMFORT, A. (1964) *Ageing: the biology of senescence*. Routledge and Kegan Paul.
20. COMFORT, A. (1953) Mitosis, autoimmunity and ageing. *Lancet*, **11**, 138—141.
21. DANCOFF, S. M. and QUASTLER, H. (1953) Information theory in biology. *Univ. Ill. Press. Urbana*.
22. DANIELLI, J. F. (1956) On the ageing of cells in tissues. In: *Experimentelle Alternsforschung*, 55—59.
23. DAWBARN, M. C. (1932) The nucleo-cytoplasmic ratio of the white mouse and its variation with age. *Australian J. exp. Biol. and Med.*, **9**, 213—226.
24. DE ROBERTIS, E. D. P., NOWINSKY, W. W. and SAEZ, F. A. (1961) *General cytology*. Saunders Comp., Philadelphia and London.
25. DETWILER, T. C. and DRAPER, H. (1962) Physiological aspects of ageing. IV. Senescent changes in the metabolism and composition of nucleic acids of the liver and muscle of the rat. *J. Geront.*, **17**, 138—143.
26. FALZONE, J. A., BARROWS, H. C. and SHOCK, N. W. (1959) Age and polyploidy of rat liver nuclei as measured by volume and DNA content. *J. Geront.* **14**, 2—8.
27. FRY, R. J. M., LESHNER, S. and KOHN, H. I. (1962) Influence of age on the transit time of cells of the mouse intestinal epithelium. III. Ileum. *Labor. Invest.*, **11**, 289—293.
28. GOLDSTEJN, B. I. i GERASIMOVA, V. V. (1962) O nekatorüh szvojsztvah dezoxiribonukleinovoj kislötü szvjazaunüh sz gyeleniem i vozrasztom kletki. In: GOREV (edit.): *Voproszü gerontologii i geriatrii*. Leningrad 1962.
29. GOWEN, W. J. (1961) Genetic aspects of radiation injury and processes leading to normal senescence. *Fed. Proc.* **20**, (2) 35—45.
30. GOWEN, W. J. (1962) Genetic patterns in senescence and infection. *J. Amer. Geriatr. Soc.*, **10**, 107—124.
31. HAHN, H. P. (1963) The role of desoxyribonucleic acid (DNA) in the ageing process. *Gerontologia*, **8**, 168—178.
32. HAHN, H. P. (1964—65) Age related alterations in the structure of DNA. II. The role of histones. *Gerontologia*, **10**, 174—182.
33. HAHN, H. P. and VERZAR, F. (1963) Age dependent thermal denaturation of DNA from bovine thymus. *Gerontologia*, **7**, 105—108.
34. HARANGHY L. (szerk.) 1959. *A gerontológia elméleti és klinikai kérdései*. Medicina, Budapest.
35. HARANGHY, L., BALÁZS, A. and BURG, M. (1965) Investigation on ageing and duration of life of mice. *Acta Biol. Hung.*, **16**, 57—67.
36. HARMAN, D. (1962) Role of free radicals in mutation, cancer, ageing and the maintenance of life. *Radiat. Res.*, **16**, 753—763.
37. HRUBANT, H. E. (1964) Specific genetic control of life span. *J. Geront.*, **19**, 451—452.
38. JACOB, M., MANDEL, P. (1954) Etude la consommation d'oxygène et de la teneur en acide désoxyribonucléique du foie à divers âges chez le rat. *Experientia*, **10**, 218—220.
39. KISZELY GY. (1964—65) A biológiai idő fogalma. *Biol. Köz.*, **12**, 91—94.
40. KURNICK, N. B. and KERNEN, R. L. (1962) The effect of aging on the desoxyribonuclease system, body and organ weight and cellular content. *J. Geront.*, **17**, 245—253.
41. LANSING, A. I. (1952) *Covley's problems of ageing. Biological and medical aspects*. Williams and Wilkins Co., Baltimore.
42. LEBLOND, C. P. and WALKER, B. E. (1956) Renewal of cell populations. *Physiol. Rev.* **36**, 255.
43. LESHNER, S., FRY, R. J. M. and KOHN, H. I. (1961) Influence of age on transit time of cells of mouse intestinal epithelium. I. Duodenum. *Lab. Invest.*, **10**, 291—300.

44. LINDH, N. O. (1956) The metabolism of nucleic acids during regeneration in Euplanaria polychroa. *Arkiv. Zool.*, 421—450.
45. LINDH, N. O. (1958) The nucleic acid composition and nucleotide content during regeneration in the flatworm Euplanaria polychroa. *Arkiv. Zool.*, 11, 153—166.
46. MAYNARD-SMITH, J. (1959) A theory of aging. *Nature*, 184, 956—958.
47. MAYNARD-SMITH, J. (1959) Review lectures on senescence. I. The causes of aging. *Proc. Roy. Soc. B.* 157, 115—127.
48. QUARTO di PALO, F. M., MOMBELLI, L. E. and GASTALDI, L. (1964—65) Age changes in phospholipids, RNA and DNA content in tissues of male white rats. *Gerontologia*, 10, 161—166.
49. RAPPAY Gy. (1964) A sejtosztódás és növekedés szabályozása. *MTA Biol. Oszt. Közlem.*, 7, 87—98.
50. RENSCH, B. (1954) *Neuere Probleme der Abstammungslehre*, Stuttgart, Ferdinand Enke.
51. SAMIS, H. V., WULFF, V. J., and FALZONE, J. A. (1964) The incorporation of H³-cytidine into ribonucleic acid of liver nuclei of young and old rats. *Biochem. Biophys. Acta*, 91, 223—232.
52. SHOCK, N. W. (1961) The role of the aged. *The Gerontologist*, 1, 14—16.
53. SOBEL, H. (1962) Aging and cellular malnutrition. *Gerontologist*, 2, 85—88.
54. SOROKIN, C. (1964) Aging at the cellular level. *Experientia*, 20, 353—362.
55. STREHLER, B. L. (1962) *Time, cells and aging*. Academic Press, New York.
56. SZILÁRD, L. (1959) On the nature of the aging process. *Proc. Nat. Acad. Sci. Wash.*, 45, 30—45.
57. TÖRÖ I. (1953) Az öregedés biológiai problémái. *MTA Orv. tud. Oszt. Közl.*, 4, 401—419.
58. UPTON, A. C. (1960) Ionizing radiation and aging. *Gerontologia*, 4, 162—176.
59. VERZAR, F. (1962) Biologie des Alterns. *Schw. Med. Wochschr.*, 92, 1449—1460.
60. VERZAR, F. (1963) *Lectures on experimental gerontology*. Charles C. Thomas. Springfield, Ill.
61. WALKER, B. E. (1963) The question of nuclear stability during histogenesis, aging and carcinogenesis. *Cancer Res.*, 23, 157—164.
62. WHITELEY, H. J. and HORTON, D. L. (1962) The effect of age on the hair regrowth cycle in the CBA mouse. *J. Geront.* 17, 272—275.
63. WULFF, V. J. and FRESHMAN, M. (1961) Age-related reduction of the RNA content of rat cardiac muscle and cerebellum. *Arch. Bioch. Biophys.* 95, 181—182.
64. WULFF, V. J., PIEKIELNIAK, B. A. and WAYNER, M. J. (1963) The ribonucleic acid content of tissues of rats of different ages. *J. Gerontol.*, 18, 322—325.
65. WULFF, V. J., QUASTLER, H., SHERMAN, F. G. and SAMIS, H. V. (1965) The effect of specific activity of H³ cytidine on its incorporation into tissues of young and old mice. *J. Geront.*, 20, 34—40.
66. WULFF, V. J., QUASTLER, H. and SHERMAN, F. G. (1961) The incorporation of H³-cytidine in mice of different ages. *Arch. Bioch. and Biophys.* 95, 548—549.
67. WULFF, V. J., QUASTLER, H. and SHERMAN, F. G. (1962) An hypothesis concerning RNA metabolism and aging. *Proc. Nat. Acad. Sci., Washington*, 48, 1373—1375.
68. WULFF, V. J., QUASTLER, H. and SHERMAN, F. G. (1964) The incorporation of H³-cytidine into some viscera and skeletal muscle of young and old mice. *J. Geront.*, 19, 294—300.
69. WÜST, G. (1962) Der Desoxyribonucleinsäure- und Ribonucleinsäuregehalt menschlicher Gewebe im Lichte der Biomorphose. *Z. Alternsforschung*, 16, 1—16.
70. YOCKEY, H. P. (1960) The use of information theory in aging and radiation damage. In: STREHLER (edit): *The biology of aging*. 338—347. AIBS, Washington.

ПОДХОД К ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ЖИЗНИ КЛЕТОК И СТАРЕНИЮ СО СТОРОНЫ ТЕОРИИ ИНФОРМАЦИИ

А. Балаж

Опираясь на результаты опытов последнего десятилетия, объяснение старения должно исходить с того, что потенциальная продолжительность жизни генетически детерминирована, и что старение многофакторное, имеющее различное направление в жизнедеятельности. Установление уменьшения деятельности организма целесообразно изучать на уровне цитологии и молекул и считать как расстройство системы клеточной информации. С такой точки зрения изменения могут происходить вследствие возраста (времени): 1. в самой *сохраняющей* информации, управляющей функцией клеток, а также дигиталь-

ной и комбинаторной свойствах, т. е. в структуре или количестве ДНК. 2. Может повреждаться сам механизм *перестройки знаков*, или в процессе кодирования, или декодирования (в отношении перехода пары оснований ДНК \rightarrow мРНК, или синтеза белков \rightarrow действий ферментов и пр.). 3. Изменения могут возникать в *канале*, проводящем информацию, например, в увеличении уровня шума, в устранении шумов, в усилении работы компенсаторных механизмов. 4. И, наконец, может быть наблюдаемо расстройство на конце системы информации, которое выявляется в активировании или уменьшении действий выработанных ферментов и макромолекул.

В такие категории автор причисляет неспецифические морфологические, молекулярнобиологические и физиологические изменения, наблюдаемые в процессе физиологического старения. Различает процессы старения, происходящие в пре- и постмитотических клетках а также в клетках вообще и внеклеточном веществе (например, в коллагеновых волокнах). В геронтологии применяет, используемую в эмбриологии, теорию *аллометрии* для установления переходов между старением и умиранием клеток, а также инволюцией целого многоклеточного организма.

INFORMATIONAL THEORETICAL APPROACH OF CELLULAR LIFESPAN AND AGEING

By

A. Balázs

The explanation of ageing, based on experimental results of the last decade must set out from the conclusion that potential lifespan is determined and ageing is a polifactoral, multidirectional course of life. It is expedient to investigate development of the organism's decrease of function on a cytologic and molecular level and to accept it as the defect of the cell-informational system. According to this, changes can occur as the function of age (time): 1. in the *stored information* itself controlled by the cell-functions in digital and combinatorial characteristics alike; that is in the structure, quantity resp. of DNA. 2. The mechanism of the *character transformation* itself can become defective, either in course of coding or decoding (DNA basespairs \rightarrow messenger RNA, or in respect to transition of protein-synthesis \rightarrow enzym function etc). 3. Changes can occur in the *channel* which forwards information, for instance: increase of noise-level, the possibility of averting noise becoming more imperfect or super functioning of the compensational mechanisms: 4. Finally the end-point of the informational system can become defective too, which appears in decreased functioning and activity of the produced enzymes and macromolecules.

The morphological, molecular biological and biologically aspecific changes, experienced in course of physiologic ageing can also be listed in the above category. The ageing process in pre- or post mitotic cells, further in cells and the extracellular substance (for instance: collagen fibre) can be differentiated. For creating a transition between ageing of the cell and its perishing, involution of the whole multi-celled organism, author applies in gerontology the term *allometry* used in embryology.

PATKÁNYMAGZATOK KÁROSODÁSA RÉSZLEGES MÁJIRTÁST KÖVETŐ REGENERÁCIÓ ALATT

CZEIZEL ENDRE, PÉNZES LÁSZLÓ, SIMON GYÖRGY

OKI Kóréletani Osztálya, Állattenyésztési Kutató Intézet Állatéletani Osztálya és BOTE
Kóréletani Intézete Budapest

Beférkezett: 1965 december 3.

A regenerálódó máj növekedésének üteme eléri a leggyorsabban növekvő tumorokét is [4]. A magzati szövetek növekedése ugyancsak igen gyors. Érdekes kérdés tehát, hogy vajon ezen két folyamat párhuzamos fennállása esetén hogyan tud a szervezet anyageseréje a fokozott igényeknek eleget tenni, módosul-e és milyen mértékben a májregeneráció és a magzati szövetek növekedésének üteme.

Paschkis és munkatársai azoknál a patkányoknál, amelyeknél a terhesség nyolcadik napján végezték el a részleges májirtást, a huszadik napon a magzatok számában és súlyában szignifikáns csökkenést észleltek és a májregeneráció mértékét először változatlanak, majd később fokozottak találták [13]. Ha a tizenhetedik napon ölték le az állatokat, akkor csak a magzatok súlycsökkenését tudták kimutatni. A tizenhetedik napon elvégzett műtét és a 20. nap történt leülés után a magzatok fejlődésének károsodása ugyancsak szembetűnő volt, a májregeneráció viszont nem tért el a kontroll állatokétól. Gerschbein 0,6—6,5 napos terhes patkányokon végezte el a műtétet és a 10,5—16,5. napon a májregeneráció kifejezett fokozódását észlelte [6].

A májregenerációt fokozó, ill. a magzatok fejlődését károsító faktorok eredetéről azonban alig tudunk valamit. A kérdés pontosabb tisztázása céljából ezért első lépésként a terhesség különböző — viszonylag rövid — időszakai alatt vizsgáltuk meg ezen két folyamat egymásra hatását.

Módszer

Kísérleteinkhez 144 db 180—220 g kiindulási súlyú OÉTI tenyészetből származó nőtény patkányt használtunk. Három kontroll csoporttal dolgoztunk: nem terhes (K_1), terhes (K_2) és nem terhes subtotálisan hepatectomizált (K_3) csoportokkal. Ezekhez viszonyítottuk a részlegesen májirtott gravid patkányok adatait. A K_2 csoportnál az „álműtéttől” — mivel irodalmi adatok, így Paschkis és munkatársa [13] szerint, valamint saját előkísérletünk szerint sem a regenerációban, sem a magzatok terén nem okoz eltérést — eltekintettünk. Az állatok pároztatása három napig történt, így a műtési napok megválasztásánál ± 1 nap tévedéssel kellett számolni. A terhes állatokon a részleges májirtást — korábban ismertetett módon [4], aether altatással — 8., 13. és 18. napon végeztük. A regeneráció mértékét minden esetben 72 órával később határoztuk meg. A regeneráció értékét mindig a minden alkalommal párhuzamosan végzett kontroll csoporthoz (100%) viszonyítva, százalékban adtuk meg.

I. táblázat

	Csoport	Állatszám	Műtét időpontja (nap)	Összmáj súly g/100 g	Leölés időpontja nap	Mortalitás %-a	Regeneráció értéke %-ban
Ellenőrző csoport	K ₁ nem terhes	12	—	4,52	—	0	—
	K ₂ terhes	6	—	—	11	0	—
	K ₂ terhes	6	—	—	16	0	—
	K ₂ terhes	12	—	—	21	0	—
	K ₃ nem terhes részl. májirtás	44	—	4,58	—	9,1	100% 1,74 g/100 g* 51,9 ± 0,9%**
Kísérleti csoport	Részl. májirt. terhes	16	8	5,32	11	18,7	124,8 ± 2,3
	Részl. májirt. terhes	16	13	6,64	16	37,5	81,3 ± 1,2
	Részl. májirt. terhes	32	18	6,85	21	65,6	62,2 ± 4,1

* regeneratum súlya

A májat ezután haematoxylin-eosinnal festettük és meghatároztuk a sejtszámot (600×-os nagyítás, négyzetesen szűkített és négy részre osztott ocular mellett 100—100 látótérben számoltuk meg a sejtmagokat), a mitosis indexet és a májsejtek magjának köbtartalmát [4]. Ezenkívül PAS, Oil Red és methylzöld-pyronin festést végeztünk. (Ez utóbbi festés esetén azonban az exact kiértékelést nem tudtuk elvégezni.) A terhes állatoknál meghatároztuk az implantációk, az élő, elhalt és rezorbeálódott magzatok számát, lemértük az élő és elhalt magzatok súlyát, továbbá vizsgáltuk a magzatokat fejlődési rendellenességek előfordulását illetően. A statisztikai számításokat Student-féle próbával végeztük.

Eredmények

Kísérleti jegyzőkönyvünk összefoglaló adatait az I. táblázatban közöljük. Külső, szájpadi, nagyobb zsigeri és központi idegrendszeri fejlődési rendellenességet egyszer sem észleltünk.

Megbeszélés

Adataink azt bizonyítják, hogy csak a terhesség első felében fokozódik a májregeneráció mértéke. A terhesség második felében ezt a növekedést stimuláló hatást egy kifejezett gátló effektus váltja fel. Ennek következtében a regeneratum súlya és a mitosis index csökken.

Több szerző beszámolt arról, hogy a terhes állatok szövethivonatai, elsősorban a placenta [3, 5, 8, 9] és a terhes savó [7, 10, 14] bizonyos növekedést

Sejt- szám/ látótér	Mag- volumen μ^3	Mitosis szám 1000 sejt	PAS	Oil Red	Implantációk átlaga	Élő magzat átlagszám	Magzatok súlyátalaga	Élő magzat átlagsúly
27,2	155,4	9,8	+	+	—	—	—	—
18,5	168,5	172,0	++++	∅	11,9 ± 0,3	—	—	—
15,6	191,2	96,0	++	∅ - +	11,6 ± 0,4	—	0,783 ± 0,01	—
16,4	184,5	77,6	++	∅ - +	10,3 ± 0,6	10,0 ± 0,4	3,98 ± 0,3	4,37 ± 0,2
19,2	244,4	512,8	∅ - +	++++	—	—	—	—
17,0	301,9	580,7	++	++++	12,7 ± 0,7	—	—	—
18,8	306,6	515,2	∅ - +	++++	12,1 ± 0,4	—	0,125 ± 0,02	—
12,6	358,2	298,2	∅ - +	++++	11,5 ± 0,9	3,1 ± 0,8	1,91 ± 0,5	3,29 ± 0,2

** regeneratum mennyisége az eltávolított májrészlet súlyának %-ában

serkentő, ill. gátló faktorokat tartalmaz. Ezek a sokszor ellentmondónak ható adatok talán éppen azzal magyarázhatók, hogy a terhesség első felében a növekedést, a sejtoszlást serkentő, míg a terhesség második felében a gátló faktorok kerülnek túlsúlyban. A terhesség utolsó harmadában a májban szembetűnően csökken a PAS pozitív anyagok aránya. Ez különösen kifejezett a terhes állatok regenerálódó májában. A lipoidok mennyisége szaporodik a terhes patkányok regenerálódó májában. Valószínű, hogy ezek a változások kedvezőtlenek a máj működése szempontjából. Ezt a nézetet támasztják alá azok a klinikai megfigyelések is, amely szerint a terhesség alatt, különösen az utolsó harmadban a májfunkciós próbák gyakran pozitívvá válnak és a májbetegségek, pl. cirrhosis hepatitis chronica súlyosabbá válhat.

A májregeneráció alatt a magzatok fejlődése szembetűnően károsodott. Pedig a regeneráció alatt a növekedést stimuláló anyagok jelenlétét sokan kimutatták. Részleges májirtás után fokozódik a mitosisok száma a parabiontában [2, 3] a tumorszövet proliferációja [11], a féloldali compenzatorikus vese hypertrofia [12], a corneahám mitosisa stb. Májregeneráció speciális hatását bizonyítja az is, hogy a megközelítőleg hasonló intenzitással növekvő tumorszövet a magzati fejlődést sokkal kisebb mértékben befolyásolja [1]. A részleges májirtás után a magzati fejlődésben észlelt károsodást sem az esetleges aminosavhiányt pótolni kívánó fehérjedús diétával, sem oestrogen-progesteron kezeléssel csökkenteni nem sikerült [13]. Elgondolkoztató az is, hogy a különböző utakon előidézett májkárosítás a magzati fejlődés folyamatára alig vagy egyáltalán nem volt befolyással [15]. Úgy látszik tehát, hogy a májregeneráció alatt egy speciális magzati károsodást előidéző anyaggal kell számolni.

IRODALOM

1. BLY, C. G. DREVERTS, C. MOGLIARESE, F.: Competition between fetal growth and transplanted tumor growth and growth in pregnant rats. Fed. Proc. 1955. **14**, 399.
2. BLUCHER, N. L. R., SCOTT, J. F., AUB, J. C.: Regeneration of liver in parabiotic rats. Cancer Res. 1951. **11**, 457.
3. CRAMER, H., ESHBACH, W.: Inhibition of Walker-carcinomas in rats by means of placental extracts. Med. Klin. 1955. **51**, 161.
4. CZEIZEL E., MAJOROSSY K., PALKOVITS M.: A májregeneráció kiértékelésének néhány kvantitatív módszere. Kísérl. Orvostud. 1964. **16**, 655.
5. DUBROVSKY, R.: A study of the placenta and its relationship to blastomatosi. Obst. y. gynec. Latino-amer. 1953. **11**, 204.
6. GERSHBEIN, L. I.: Pregnancy and liver regeneration in partially hepatectomized rats. Proc. Soc. Exp. Biol. (N. Y.) 1958. **99**, 716.
7. JACQUEZ, J. A., BARRY, E.: Tissue culture media. The essential dializable factors in the human placental cord serum. J. Gen. Physiol. 1951. **34**, 765.
8. KLUDAS, M., KNOBLAUCH R.: Experimental and therapeutic studies with injectable placental extract. Berlin Med. Z. 1951. **2**, 369.
9. MAHRBURG, S.: The influence of the placental extract prepared by the method of Filatov on the transplantability and growth of Crocker sarcoma in the mouse. Ann. Univ. Maria Curie-Sklodowska. Med. 1954. **9**, 59.
10. NORRIS, E. R., MAJNARICH, J. J.: Cell proliferation accelerating and inhibiting substances in blood serum during pregnancy. Proc. Soc. Exp. Biol. (N. Y.) 1943. **70**, 603.
11. PASCHKIS, K. E., CANTAROW A., STASNEY, I., HOBBS, J. H.: Tumor growth in partially hepatectomized rats. Cancer Res. 1955. **15**, 579.
12. PASCHKIS, K. E., CANTAROW, A., GODDARD, J. W.: Growth stimulating actions of liver preparations. Fed. Proc. 1957. **16**, 98.
13. PASCHKIS, K. E., CANTAROW, A.: Pregnancy, tumor growth and liver regeneration. Cancer Res. 1958. **18**, 1000.
14. REJNEK, J., BEDNARIK, T., RERABKOVA, E., DOLEZAL A.: Investigations of the influence of sera from pregnant women on the growth of cell cultures in conjunction with the occurrence of abnormal 1-lipoprotein. Clin. Chim. Acta, 1963. **8**, 108.
15. WILSON, J. G.: Influence on the offspring of altered physiologic states during pregnancy in the rat. Ann. N. Y. Acad. Sci. 1954/a **57**, 517.

ПОВРЕЖДЕНИЕ ЭМБРИОНОВ КРЫС ПОСЛЕ ЧАСТИЧНОГО УДАЛЕНИЯ ПЕЧЕНИ

Е. Цейцел Л. Пензеш, и Дь. Шимон

Авторы исследовали влияние субтотального удаления печени в различной стадии беременности для регенерации и состояния эмбрионов у белых крыс.

Было установлено, что регенерация печени сигнификантно больше в первой трети беременности, в то время как, во второй, особенно в третьей трети степень регенерации сигнификантно уменьшается относительно регенерации печени контрольных небеременных животных.

С другой стороны, общий вес и число оставшихся живыми эмбрионов у животных с частично удаленной печенью сигнификантно меньше, чем у контрольных.

INJURIES OF RAT EMBRYOS AFTER PARTIAL LIVER EXTIRPATION

By

E. CZEIZEL, L. PÉNZES, GY. SIMON

Subtotal hepatectomic effect on the liver regeneration of white rats in various phases of gravidity was investigated also in regard to the condition of embryos.

It was established, that liver reaction in the first third of gravidity was significantly greater, in the second and even more in the third trimester degree of regeneration decreased significantly compared to the non-gravid controls.

On the other hand, the average weight of the offsprings of animals with partially extirpated liver is significantly lower, than in those of the controls.

KÖNYVISMERTETÉSEK

Dubinín, N. P.: *Molekulárgenetik.* 168 oldal, 39 ábra, 7 szöveghözti tábla. Jena 1965. VEB Gustav Fischer Verlag.

A genetika ma élő klasszikusainak egyike Dubinyin N. P. 1963-ban oroszul megjelent könyvét bocsátotta a kiadó szélesebb olvasótábor rendelkezésére.

A genetika és a vele szorosan összefüggő bioevolúció kérdései az élet legmélyebb törvényszerűségeit tárják fel. Ennek a megértése csak az élőanyag atomos-molekuláris szintű fizikai és kémiai folyamatai, illetve azok kvalitatív új kölcsönhatásainak az elemzése útján válik lehetővé. Különösen általánosan jelentőséggel és számunkra hézagpótló a molekuláris genetika nagyszerű vívmányainak a megismertetése, amelyet a szerző célul tűzött maga elé és oldott meg sikeresen.

A könyv 14 fejezete témaválasztásában is tükrözteti, hogy a genetika rohamos fejlődése szinte valamennyi természettudomány képviselőinek sikeres együttműködésének köszönhető.

A mű első két fejezete az öröklődés finomszerkezeti és biokémiai alapjaival ismerteti meg az olvasót. Részletesen és plasztikusan tárgyalja a harmadik és negyedik fejezet a baktériumok és vírusok öröklődésének speciális molekuláris organizációját és a bennük lezajló genetikai folyamatokat. Rámutat azonban arra is, ami ezekben az egész élővilágra nézve közös és általánosítható. Az 5., 6. és 8. fejezetben, kiváló vázlatok igénybevételével a nukleinsavaknak azokat a sajátosságait jellemzi, amelyek alkalmassá teszik genetikai kódolás, transkripció, illetve specifikus fehérjeszintézis biztosítására. Rövid közbeiktatott fejezet (7.) az egyedfejlődés molekuláris genetikai alapjait érinti. Szerény véleményünk szerint ez a rész az adott lehetőségekhez mérten is szűkre szabott és nem is érinti a legkritikusabb vonatkozásokat. A diploid szervezetek molekuláris genetikájára vonatkozó fejezetek jó tájékoztatást adnak és bepillantást nyújtanak a humángenetika legfontosabb kérdéseibe is.

A négy fejezetből álló II. rész a mutabilitás molekuláris feltételei és a mutagének hatásáról nyújt képet és tárgyalja az irányíthatóság bizonyos lehetőségeit is. Ezekben a fejezetekben a szerző különösen sok eredetit nyújt. A fejezeteket arra is felhasználja a szerző, hogy az első részben bemutatottakat is mélyebb megvilágításba helyezze.

Dr. Faludi Béla

Clowes, R. C. (ed.) *Recent research in molecular biology.* *British Medical Bulletin*, Vol. 21. No 3. London. The British Council Medical Dept.

A 15 cikk tartalmazó füzet a molekuláris biológia, különösen a molekuláris genetika legújabb eredményeit mutatja be széles spektrumban.

Crick F. H. C. bevezető tanulmányában a molekuláris biológia eltérő értelmezéseit taglalja, amelyek között alig van más közös vonás, mint a vitalizmustól való elhatárolódásra irányuló törekvés. Helyesnek azt az értelmezést tartja, amelyik az életfolyamatokat az élő szervezetet alkotó óriásmolekulák szerkezetéből és funkcióiból igyekszik megmagyarázni. Ez azonban nem mindenkinek sikerül. Nem mutat rá azonban a sikertelenség — véleményünk szerint legfontosabb okára — nevezetesen arra, hogy a különböző óriásmolekula szerkezetek

és funkciók pusztán kölcsönhatásaiból újszerű törvényszerűségek adódnak. Abban viszont egyet kell értenünk hogy a gén-proteinszintézis molekuláris szintű kutatása és a molekuláris biológia között nem lehet egyenlőséget vonni, noha jelen pillanatban erre a területre szorítóközik ismereteink zöme. A 4 nukleotida monomér és 20 aminosav monomér törvényszerűségei egyúttal az egész élővilág törvényszerűségei közül a legáltalánosabbak egyikét tárják fel.

Mit sem von le a kutatások értékéből, hogy egyelőre még kismértékben (immunogenetika, antibiotikum kutatás, virológia, onkológia) kapcsolódnak a gyakorlathoz.

Rownd R. cikke a transzformációra alkalmas dezoxiribonukleinsav (DNS) fizikokémiai sajátágaival foglalkozik. Rámutat a relatíve is nagyfokú viszkozitásra, a milió ionjaihoz való különleges kapcsolatokra, az egyfonalas DNS természetére és körköröségére, valamint a preparált és natív DNS közti különbségekre, a molekula méret, bázisarány alakulása, a denaturált-renaturált DNS szerkezeti sajátosság és a renaturált forma aktivitása sajátosságaira. Fejtegeti a heterozigóta DNS és a transzformálhatóság közötti kapcsolatot.

A nukleinsavak replikációja Smellie R. M. S. tanulmányának a tárgya. Egy kiinduló pontból számítva egy irányban képződő új DNS-pár rendszeren az egyes szervezetek generációs idejének csekély töredéke alatt szintetizálódik. A 4 nukleotida deoxi formája létrejötté specifikus nukleotidil transzferáz enzim közbejöttével, deoxiadenozintrifoszfát és Mg^{++} ion jelenlétében megy végbe. Jó ábra és táblázat szemlélteti az elsődleges DNS szükségességét és szerepét a szintézisben.

A ribonukleinsav (RNS) szintézisét biztosítja a DNS jelenlététől függő RNS-re specifikus polimeráz. Vírusfertőzés esetében előfordul DNS-dependens polimeráz is. A szintézist kisebb mértékben Mg^{++} , jóval nagyobb mértékben Mn^{++} katalizálja A bázis sorrend komplementer. A folyamatnak nem ismeretes még minden részlete.

Pritchard R. H. újabb adatokat közöl a baktériumok nukleoidjáról és az eukarioták mitózisától eltérő szaporodásától. A DNS replikáció és a sejtosztódás nem feltétlenül koordinált folyamatok és a kettő közötti korreláció kísérletesen fel is oldható.

A baktériumok konjugációját biztosító transzfer faktorról olvashatunk új kísérleti eredményeket Gross J. D. referátumában. A konjugáció a transzfer, ill. replikáció közötti összefüggés szigorúságára nézve ellentmondóak az adatok. A DNS szintézis gátlása nem mindig akadályozza meg az átadást.

Sok új adatot sorol fel Stacey K. A. tanulmánya a nukleinsavak sejten belüli módosulatairól (minor komponensek). Elég szép számban és taxonómiai egységekkel összefüggően a négy bázison kívül más bázisok is találhatóak a nukleinsavakban. Ezek mennyisége rendszeren csekély, pl. az 5-metilcitozin az emlősökben, halakban, rovarokban, de jelentékeny pl. a búzacsírában. Az RNS-ekben is megvan ez a változatosság. A metilizációnak és hidroxilációnak különösen jól ismert a szerepe a transzfer RNS-ben (tRNS), ahol szigorúan meghatározott helyen találhatóak.

Arnstein H. R. V. cikke főleg a peptidkötés létrejöttével és előfeltételeivel foglalkozik (aminosav aktiváció, aminoacil-tRNS képződés). Az enzimek nagymértékben specifikusak, így a dikarboxilsavak és amidjaik szintézisében is eltérőek. Egyformán szükség van 3' hidroxil és 5' hidroxil végződésre. A tRNS specifikus bázistriplettet tartalmaz ez a különönc RNS (mRNS) specifikus triplettjének (codon) megfelelő (anticodon), komplementáris.

Valamennyi tRNS-re jellemző a CCA bázis triplett végződés. Szó esik a riboszómához szorosan kapcsolódó peptidszintetáz szerepéről is, de ez a szerep még nem teljesen tisztázott.

Az utóbbi években számos kísérletben tisztázták az egyes antibiotikumok szerkezetét és a nukleinsavak molekuláris szerkezete közötti kölcsönhatásokat. Ezeknek a nukleinsav és fehérjeszintézis különböző pontjára gyakorolt hatásait ismerteti Collins J. F. referátuma.

A genetikai kódra vonatkozó konkrét ismereteink még nem nagyszámúak (Stretton, A. O. W.). Komoly kísérleti eredmény sorozat tisztázta az alanin-tRNS komplex bázis sorrendjét és másodlagos szerkezetét. Megkönnyítette a kutatást több minor bázis résztvevő jelenléte. A DNS kód kutatásnak viszont nagy akadálya, hogy nem sikerül olyan DNS-töredékek nyérése, amely pontosan egy génterület kodonjait tartalmazná, mert teljesen véletlenszerűen darabolódik a vizsgálat során. Biztatóak azonban az N-terminálist érintő újabban felfedezett mutáció sorozatok („amber”, „ochre”).

Az oldható RNS-re vonatkozó 1962–65. évi kutatási eredményeinek áttekintése (Brown G. L. és Lee Sh) kiemeli az aminosavakceptor (CCA) végződés szerepét. Abból a körülményből, hogy az RNS-ben vannak degenerált kodok, amelyek hatásosak, sokan arra következtetnek, hogy a transzfer reakcióban részt vevő enzimek nem olyan mértékben specifikusak, ahogy a régebbi eredmények alapján hinni lehetett.

Benner S. taglalja azokat az elméleteket, amelyek a gén regulációra vonatkoznak. A Jacob—Monod model csak egyes baktériumokra érvényes maradéktalanul. Stent (1964) újabb elmélete modulációs tripletteteket tételez fel az ún. poláris mutációk magyarázatára,

amelyek több enzim eltérő fokozatban történő szintézisében nyilvánulnak meg. Szerző ún. lebontásos elmélete szerint szabályozáskor megtörténhet az információ átadása az RNS felé, de elmarad a protein felé, azért mert specifikus enzim az operátort fokozott sebességgel bontja le. Eszerint minden gének lenne saját külön operátora, míg csak a szabályozott gén rendelkezniek represszorral. Kísérletesen a kérdést nem lehet még eldönteni.

Az allelen belüli komplementaritással foglalkozik a következő tanulmány (Obaid Sid-digi). Újabban a kérdést polipeptid-polipeptid közötti kölcsönhatással magyarázzák. Erre in vitro kísérletek is támpontot nyújtanak. Valószínű, hogy bizonyos konformációs hibák hibrid molekulában kölcsönösen kiegyenlítődhetnek.

A három utolsó tanulmány speciális orvosi érdeklődésre is számot tarthat. Naomi Datte a drog-rezisztencia körében, Richmond M. H. a penicillináz plazmidokkal kapcsolatban végzett kutatási eredményekről számol be. Tisztázódott az episzomák és plazmidok közötti különbség. Nagyon fontos a plazmid típusú citoplazmatikus rezisztencia faktoroknak a szerepe, amelyek fertőző ágensként igen gyorsan terjednek baktériumról baktériumra. Ezek a szex-faktorhoz hasonló biokémiai természetűek polirezisztenciát transzferálnak, de más genetikai tényezőket nem. Ez megkülönbözteti az episzoma jellegű faktoroktól, fagoktól stb. A nukleáris génekkel összefüggő rezisztencia tényezőkre genetikai viselkedéstől függetlenül az is jellemző, hogy azok egy dróggal szemben biztosítanak ellenállást.

Hanson J. gazdag anyagot összefoglaló cikke az izomösszehúzódnás molekuláris alapjaira vonatkozó kutatásokról nyújt kitűnő értékelést. A felsorakoztatott adatok nem szorítkoznak az emlősök vázizmaira, hanem az állatvilág legjelentősebb taxonómiai egységeire vonatkozóan is finomszerkezeti különbségeket és funkcionális sajátosságokat ismertetnek.

Dr. Faludi Béla

Kretowitsch: Grundzüge der Biochemie der Pflanzen (orosz eredetiből németre fordítva), VEB Gustav Fischer Verlag, Jena 1965. — 473 old., 107 kép (ebből 81 szöveghözti), valamint 26 táblázat. Ára: DM. 69,—

Jogosan választja a szerző bevezető mottónak, hogy a vérbeli vegyész egy személyben teoretikus és prakticionárius is; mert könyvében ugyan széles elméleti alapot ad, de ugyanakkor mindig szem előtt tartja a gyakorlat igényeit. Voltaképpen tankönyv, s ilyen szempontból is igen jól sikerült, könnyen érthető, világos, de nem elégedik meg az alapok ismertetésével, hanem magas szintre törekszik, s olyan módon nyújt kézikönyvszerű olvasmányt, hogy ez még a biológiát tanulók számára sem jelent megterhelést. A széles elméleti ismeretek mellett kitűnő metodológiai adatokat is bőven találhatunk. Amellett szemléletet tanít, s elsősorban érdeme, hogy az összefüggések és történések alapos kiemelésével önálló gondolkodásra szoktat. Utánolvasásra és az irodalom megismerésére is bőségesen nyújt alkalmat; minden fejezet végén megtalálhatóak a legfontosabb munkák bibliográfiai adatai, mégpedig világirodalmi szinten. Számunkra különösen vonzónak látszanak a fehérjékről, az aminosavakról és a fizikai-kémiairol írt fejezetek. Különösen kiemelendőnek tartjuk az egész mű rendszerezettségét, s mindig megfontolt kritikai szellemét is.

A munka rövid, de annál alaposabb, történelmi áttekintéssel kezdődik, majd a legjelesebb kutatók képeit találjuk. Az érdembeli tartalom 14 fejezetre oszlik. Az I. fejezet a fehérjék és aminosavak botanikai biokémiáját tárgyalja, a II. fejezet a szénhidrátok, a III-ik a zsírok és zsírnemű anyagok, a IV. fejezet pedig a vitaminok ez irányú ismereteit vázolja fel, mégpedig a nagy tudású biokémikus személyes tapasztalatai alapján. Orvos- és biológuskutató számára különösen érdekes a mikrobák vitaminszükségleteiről írott rész. Hasonló jelentőségű a IV. fejezet, ahol a növények és mikroorganizmusok növekedésével kapcsolatosan a herbicidákról, antibiotikumokról és phytoncidekről olvashatunk. A további fejezetek részletes képet adnak az életjelenségekről (VI. fej.: fermentatio; VII. fej.: anyagcsere; VIII. fej.: photo- és chemosynthesis; IX. fej.: a szénhidrátok átalakulása a növényben; X. fej.: erjedés és légzés; XI. fej.: oxigénforgalom; XII. fej.: zsír- és lipoidanyagcsere; XIII. fej.: a növények aminosav és fehérje anyagcsereje), s végül a XIV. fejezet ismét érdekesítő rész: az anyagcsere szervezeti regulációi, valamint az anyagcsere és a külvilág összefüggése.

A német fordítást a greifswaldi egyetem biológiai hallgatóinak egyik munkacsoportja készítette el. Az orosz szöveget Oparin akadémikus nézte át; a német fordítást Borris és Köhler professzorok, akik azt néhány jegyzettel látták el.

A könyv elolvasását mind botanikusnak, mind mikrobiológusnak melegen javasolhatjuk. A szép kiállítás a kiadót dicséri.

Dr. Regöly-Mérei Gyula

Sitte, Peter: *Bau und Feinbau der Pflanzenzelle*, VEB. Gustav Fischer Verlag, Jena 1965.
— 231 old., 102 ábra, 6 táblázat. Ára: DM.: 28,—

A fénymikroszkóppal — feloldóképessége miatt — elértük a legnagyobb nagyítás határát, s hosszú időn át abban a meggyőződésben voltunk, hogy normál- és pathohistológia, valamint a mikrobiológia és az általános pathológia (pl. haematológia) területén megszereztük a kellő morphológiai ismereteket. Az elektronmikroszkópia nagyításával azonban egészen új lehetőségek nyíltak, egységesnek tartott részeket sikerült feltérképezni, a fénymikroszkópban nem láthatókat (pl. vírusok) pedig részletekbe menően tanulmányozhattunk. Az elektronmikroszkópia ma még a fejlődés kezdetén van, s ezért különösen jelentőségteljes erre vonatkozó ismereteink bővítése. A szerző a heidelbergi egyetemen a sejttan és a biológiai elektronmikroszkópia tanára, s művét nemcsak a rendszeres adatszolgáltatás, valamint tanítás, hanem a személyes tapasztalatok nagy száma is jellemzi. Kitűnő metodikai és elméletileg is kiemelkedő képet nyújt a különböző mikroszkópos eljárásokról, mint pl. a fáziskontrasztmikroszkóp, az ultra-, az interferencia- és a polarizációs mikroszkópok, s egyúttal az eredmények összehasonlításáról, az értékekről, de a hibalehetőségről is bőven nyerhetünk ismeretet. Részletes fejezet foglalkozik az elektronmikroszkópia histotechnikájával. A röntgenográfias szerkezeti elemzésről is olvashatunk. Ezután részletesen foglalkozik és igen jelentős anyagon ismerteti a növények elektronmikroszkópos vizsgálatát, az egyes részletek képét, az eredmények kiértékelését. A kitűnő — részben sémás és félsémás — képek nagyban elősegítik a szöveg megértését. A részletes, de nem túlméretezett bibliográfia a további tájékozódást illetően tesz jó szolgálatot. A könyvet egyaránt ajánlhatjuk botanikusnak, histológusnak és pathológusnak.

Dr. Regöly-Mérei Gyula

AZ ÁLTALÁNOS BIOLÓGIAI SZAKOSZTÁLY PROTOZOOLÓGIAI SZEKCIÓ SZAKÜLÉSEI

3. szakülés

1965. október 29. (Budapest, MTA kisterem) Jelenlevők száma: 29

Elnök: dr. R. STILLER JOLÁN és dr. ZOLTAI NÁNDOR.

1. ZOLTAI N.: *Beszámoló a II. Nemzetközi Protozoológiai Konferencia humánprotozoológiai vonatkozásairól*

Megjelent lapunk jelenlegi számában, 59—60. old.

Hozzászóló: STILLER J.

2. PELLÉRDY L.: *Beszámoló a II. Nemzetközi Protozoológiai Konferencia állatorvosi protozoológiai vonatkozásairól*

3. BICZÓK F.: *A II. Nemzetközi Protozoológiai Konferencia szabadon élő protozoák előadási anyagának ismertetése*

4. NÉMETH G.: *Hideg—meleg-shock hatása a Tetrahymena pyriformis szaporodására*

A kísérleti eredmények, melyeket a szaporodási vizsgálatok nyújtottak a hideg- és meleg-shock hatásokkal kapcsolatban, megerősítik azokat az irodalmi adatokat, melyek szerint a Tetrahymenák helyzete az egysejtűek között, de az egész állatvilágban is speciális. Nagyon kicsiny külső behatásokra is érzékenyek. A tenyészhőmérsékletnek a kisebb változása is hatással van az állatok életciklusára. A hőmérsékletnek nagyobb, shock-szerű megváltozása még jobban kihat az állat életfunkcióira és biokémiai jellemzőire.

A hideg és meleg kezelési kísérletek eredményeiről megállapítható, hogy az állatok szaporodását a hirtelen bekövetkező hideg és meleg hatás egyaránt gátolja. A táptalajba fagyasztott állatok szaporodása — különösen a kezelést követő első napon — nagyon kicsi a kontrollhoz viszonyítva. A második napon a szaporodás már intenzívebb és fokozatosan növekedve az ötödik napon már eléri, sőt a további napokon túl is haladja a kontroll állatok szaporodását, majd a szaporodási ritmusa a kontroll állatokéhoz hasonló. A melegkezelt állatok szaporodása a kezelést követő 3. napon ugrásszerűen túlhaladja a kontroll állatok szaporodását, a 4. napon az érték csökken, az 5. napon ismét gyorsabb a szaporodás üteme, végül a 6. és 7. napon ismét normálissá válik a szaporodási ritmus.

Hozzászólók: BICZÓK F., MAKARA GY., ZOLTAI N.

5. BÁNKI GY., ADRIANA BUCCI: *Plasmodium berghei és Plasmodium cynomolgi antigén-szerkezetének vizsgálata immundiffúzió és immunelektroforézis segítségével*

Szerzők vizsgálataikat albino patkányban vér-hasüreg passzázs útján fenntartott *Pl. berghei*, ill. hasonló módon rhesus-majmokban fenntartott *Pl. cynomolgi* rágesáló-, ill. majom-malária fajokon végezték.

Az antigén előállítás: a fertőzés csúcán nyert vérből, saponinos haemolysissal szabaddá tett parazitákat pufferolt sóoldatban (pH 7,2), differenciál centrifugálással és többszöri mosással tisztán izolálták. A parazita-tömeget kvarepor hozzáadásával 32 000/min. fordulatszámmal homogenizálták. A detritus kicentrifugálása után nyert barnás, opalescens folyadék az antigén. Fehérjetartalma Folin reakcióval meghatározva: 20—40 mg/ml. Homológ antitest előállítására az antigént Freund-adiuvanssal keverve nyulakban termeltek hyperimmunsavót. Az immunsavó titerének meghatározása haemagglutinációs rendszerben történt, Takátsy mikrotit készülékének alkalmazásával. A kettős diffúziót és az immunelektroforézist Scheidegger mikromódszerének módosításával végezték, 1 mm rétegvastagságú, 1%-os agargélben, pH 8,6 mellett. Az elektroforézist ugyancsak pH 8,6-es, 0,1 ionerősségű veronapufferben, 6 V/cm feszültség mellett 45—60 percig. Egy-egy kísérlet reagensszükséglete a fenti módszerrel mindössze 1—2 μ l antigén, ill. 50—100 μ l immunsavó. Az eredmények reprodukálhatóságát az összes faktor nagyfokú standardizálásával kell biztosítani.

A fenti körülmények között P. berghei esetében 11—12, P. cynomolgi esetében 9 precipitációs szisztémát különítették el. Immunelektroforézisben végzett keresztreakcióval, valamint elektroforetikus mobilitásuk meghatározásával a két Plasmodium faj között 2 antigénkomponens azonossága volt megállapítható, az egyik anód-, a másik semleges pozícióban. Közös antigénkomponensre utalt a haemagglutinációval észlelt alacsony titerű pozitívitás is heterológ immunsavóval. Az antigénkomponensek közös voltát döntően egyik precipitátum kötegnak a kettős diffúzióban észlelt partialis identitása bizonyította.

A kontrollvizsgálatok negatív eredménye (1. normál nyúlsavó, 2. „vak antigén” — nem fertőzött állatból, 3. normál patkány, ill. majom vörösvérsejttel kimerített hyperimmunsavó) igazolta, hogy az észlelt precipitációs szisztémák fajlagosak, és a vizsgált Plasmodiumok antigénkomponenseit reprezentálják.

(A munka dr. Bánki György olaszországi tanulmányútja során készült.)

Hozzászóló: ZOLTAI N.

6. LANTOS T., DRUGA A.: *Ciliatak táplálékválogatása*

Szerzők a Ciliatak közül a Paramecium multimicronucleatum és a Tetrahymena pyriformis táplálékfelvételét, illetve táplálékválogatását vizsgálták behatóbban. A kísérletekben a normális táplálékul szolgáló anyagokból és a polystyren latex műanyagból keletkezett vakuolumok kiürüléséhez szükséges időt, illetve a vakuolumok kiürülési sebességét állapították meg. Eredményeik szerint mind a Paramecium, mind a Tetrahymena egyforma sebességgel képes vakuolumokat képezni baktériumból, illetve peptonból és a baktériumokhoz hasonló szemcse nagyságú polystyren műanyagból.

Eredményeik arra utalnak, hogy a vizsgált egysejtűek anyagfelvételkor, vagyis a vakuolumok kialakulásakor kizárólag a részecskék nagysága és más fizikai tulajdonságai alapján képesek válogatni, de nem képesek különbséget tenni a részecskék kémiai természetébe alapján. A kísérletek az invariancia-módszer alkalmazásával végzett számítások alapján azt is szignifikánsan igazolták, hogy mindkét faj egyedei az emészthetetlen anyagot gyorsabban ürítik ki, mint az emészthető, táplálékul szolgáló részecskéket, mégpedig majdnem fele annyi idő alatt.

Az eredmények biológiai magyarázata valószínűleg a következő: a vizsgált egysejtű az emészthető anyagokat felhasználja, beépíti sejtjébe az emésztés során, és csak a visszamaradó anyagokat üríti ki később, az emésztés után, míg a polystyrenes vakuolum az emésztés hiányában könnyebben és kevesebb idő alatt ürül ki. Feltételezhető, hogy a vakuolumból a citoplazmába áramló bontott tápanyagok jelentik azt az ingert, amely a sejtet a vakuolumok minél hosszabb ideig való visszatartására készítetik. A polystyrenes vakuolumból ilyen inger nem indul ki, amely a gyorsabb kiürülésre szintén magyarázatot nyújthat. Mivel az emészthetetlen anyagot mind a Parameciumok, mind a Tetrahymenák gyorsabban ürítik ki, feltételezhető, hogy az egysejtű állat citoplazmája információt nyer arról, hogy a felvett anyag számára emészthető-e vagy sem.

Hozzászólók: BICZÓK F., LUKÁCS D., R. STILLER J., ZOLTAI N.

BESZÁMOLÓ A II. NEMZETKÖZI PROTOZOOLÓGIAI KONFERENCIA HUMÁN PROTOZOLÓGIAI VONATKOZÁSAIRÓL

A Prágában, 1962-ben lezajlott I. Nemzetközi Protozoológiai Konferenciát követő II. Nemzetközi Protozoológiai Konferencia 1965. július 27 és augusztus 5 között, Londonban került megrendezésre. A konferenciát szervező angol protozoológus gárda elnöke *Garnham* professzor volt, a London School of Hygiene and Tropical Medicine parazitológiai osztályának a vezetője, alelnöke pedig az ugyancsak jól ismert kutató, *Hoare*. A szervezés munkájának oroszánrésze természetesen a titkárra, dr. *Bray*-re esett, aki jól látta el nehéz feladatkörét. A konferencia szervezése mintaszerű volt.

A konferencia patronusa *Philip*, edinburghi herceg, díszelnöke pedig a francia parazitológus doyen: *Fauré-Fermiet* professzor volt. A 17 tagú elnökségben 8 csehszlovák és 3 szovjet kutató foglalt helyet, ami nyilván részben az előző, prágai konferencia sikerének, részben a szocialista országokban folyó kutatómunka értékelésének jele.

Közel 600 résztvevője volt a konferenciának, a világ minden tájáról. Magyarországról négyen vettünk részt (Pellérdy László, Cellért József, Biczók Ferenc és jómagam) és mind a négyen tartottunk előadást is.

Az előadások részint a Királyi Földrajzi Társaság tágas halljában, részint ennek közelében az Imperial College Physics épületének korszerű előadótermeiben folytak.

A konferenciára kerekén 370 előadást jelentettek be. Ezenkívül 17 filmet is vetítettek, főként morfológiai és biológiai vonatkozásúakat. Az előadások túlnyomó része alapkutatásokról szólt, szabadon élő protozoonokkal kapcsolatban. Különösen nagy számú előadás foglalkozott a Ciliátákkal. A kutatási irányokra erősen rányomták már a bélyegüket a legmodernebb vizsgáló módszerek. Ennek megfelelően feltűnően nagy volt az aránya az ultrastruktúrás és molecular-biológiai kutatásokról szóló előadásoknak, a biokémiaiak és biológiaiak mellett.

A humán protozoológia szempontjából közvetlen érdeklődésre számot tartó, összesen mintegy 40 előadás, a következő témakörökből hangzott el: általános protozoológia, amoebiasis, *Trichomonas vaginalis*, malária, trypanosomiasis, toxoplasmosis, *Pneumocystis carinii*. Az egyes témakörökben elhangzott előadások, illetve a főbb megállapítások lényegét a következőkben ismertetem.

Az általános protozoológiai előadások közül mindenekelőtt a protozoon törzsek stabilizálására, konzerválására (*Lumsden*, Anglia), illetve típus-törzsek kialakítására (*Corliss*, USA; *George*, Anglia) irányuló vizsgálatok említendőek meg, mivel ezeknek alapján a konferencia záró ülésén határozat is született, miszerint fel kell kérni a WHO-t, hogy szervezzen meg egy nemzetközi protozoológiai törzsközpontot, ahonnan bárki kaphatna standard törzseket kutatási célra. A tartósítás — az említett előadások szerint — részben lyophilezéssel, részben mélyhűtéssel volna megoldható. — Érdekes volt *Jirovec* (ČSSR) javaslata a protozoológiai vizsgáló módszerek nemzetközi standardizálására vonatkozóan, a különböző helyen végzett vizsgálatok eredményeinek összehasonlíthatósága érdekében. A javaslattal elvileg mindenki egyetértett, de általános vélemény volt az is, hogy nem realizálható. — Három előadás foglalkozott a gazda-parazita viszonytal. *Moskowszki* (SZU) a gazda-parazita egyensúly kialakulásának immunológiai mechanizmusával foglalkozott, *Wijers* (Hollandia) a környezet hatásának fontosságát hangsúlyozta mind a gazdaszervezetre, mind azokra a parazitákra, amelyek vektorok, illetve köztigazdák útján terjednek. *Goble*, *Konopka* és *Boyd* (USA) arra mutatott rá, hogy egyes parazitosisokban a gazda nemének is jelentős szerepe van. — *Zasuchin* (SZU) a laboratóriumi állatkísérletekben a parasitocoenosis zavaró hatására mutatott rá, hangsúlyozva, hogy csak az egy parazitával fertőzött állatokon végzett kísérletek eredményei megbízhatóak.

Végül Singh (India) foglalkozott még a protozoonok encystálódását és excystálódását befolyásoló tényezőkkel, megállapítva, hogy az előbbit a Ca és Mg ionok túlsúlya és a szénhidrát hiány elősegíti, utóbbihoz pedig baktériumok jelenléte szükséges.

Az amoebiasis vonatkozásában Wittner és Rosenbaum (USA) megállapították, hogy az *E. histolytica* szövetinváziójához baktériumok jelenléte is szükséges. Diamond és Bartgis (USA) új, egyfázisú anaerob táptalajról (lőszérumból) számoltak be, amely 35 °C-on, 72 óra alatt megtízszerezi az amoebák számát. Meerovitch (Kanada) az *E. histolytica* Laredo törzsével végzett biológiai vizsgálatait ismertette.

A giardiasissal kapcsolatban egy előadás szerepelt a programban, az is magyar részről. Ember, Jánossy és Mindszenty a Giardia fertőzöttségnek az A-vitamin felszívódását gátló hatásával foglalkoztak és eredményeik alátámasztották az ilyen irányú korábbi feltételezéseket.

A *Trichomonas vaginalis* vonatkozásában részben a protozoon konzerválásával, részben immunológiai tulajdonságaival foglalkoztak az előadók. Lumsden és tsai (Anglia) — 79 °C-on, Honigberg és tsai (USA) folyékony nitrogénben, —196 °C-on tárolva egyaránt jó eredményt kaptak. Mindkét kutatócsoport hangsúlyozta a lassú lehűtés és a dimetil-sulfoxid védőanyag hozzákeverésének a fontosságát. Terasz (SZU) vizsgálatai szerint a *Tr. vaginalis*-nak különböző szerológiai típusú törzsei vannak. Kucera és Kramár (CSSR) a *Tr. vaginalis* fertőzöttség immunfluorescens eljárásával kimutathatóságáról számolt be.

A maláriával kapcsolatban Desowitz (Szingapur) a haemagglutinációs vizsgálat malarimetriában való alkalmazhatóságáról számolt be. Jeffery (USA) a plasmodium törzsek mélyfagyástással (—70—78 °C) való tartósíthatóságát ismertette. Sergiev és Tiburskaya (SzU) a *Pl. vivax* evolúciós fejlődéséről tartott előadásában arra a megállapításra jutott, hogy ez a plasmodium faj valószínűleg a majmok egyik, a *Pl. cynomolgi bastianellii*-hez hasonló plasmodium fajából származott. Bruce—Chvatt-nak és Charles-nek (WHO) az emberi plasmodium fajok Afrikában való megoszlásáról szóló előadásából megtudtuk, hogy a *Pl. ovale* gyakoribb, mint eddig tudtuk és előfordulási aránya helyenként eléri a 10%-ot.

A fentiekén kívül számos előadás hangzott még el majom-, madár- és rágcsáló plasmodiumokkal kapcsolatban, főleg therapiás, biokémiai és immunológiai vonatkozásban.

A trypanosomiasisokkal kapcsolatos humán vonatkozású előadások természetesen elsősorban a *Trypanosoma cruzi*-val foglalkoztak, mint a legbonyolultabb biológiájú és még ma is több tisztázatlan problémát jelentő *Trypanosoma* fajjal. Három előadás foglalkozott a parazita organotropizmusával, egybehangzón megállapítva, hogy a szívizom tangált a leg erősebben (Biagi és tsai — Mexikó; Gaillard — Franciaország; Trejos és tsai — Salvador). Tomcufcik (USA) egy új piperazinszármazék kedvező gyógyhatásáról számolt be kísérleti fertőzésekben. Geigy és Amrein (Svájc) megállapították, hogy a trypanosomák virulenciájának a kifejlődésében a vektor közepbelének váladékai nem játszanak szerepet, mint azt más vizsgálok korábban állították.

A *Toxoplasmosissal* kapcsolatban elhangzottak közül legfigyelemreméltóbbak Frenkel (USA), valamint Rifaat és Morsy (EAK) kísérletes megállapításai, amelyek egybehangzón arra mutatnak, hogy vektorok nem játszanak szerepet a toxoplasmosis terjedésében. Akishina és Zasuchin (SzU) a toxoplasma szövetkultúrában való tenyésztettségét és ennek kutatási és gyakorlati hasznát ismertették, Jacobs és Melton (USA) pedig igen szellemes kísérlettel megállapították, hogy a Toxoplasma cysták a szövetkultúrában leghamarabb 8 nap, legkésőbbben 25 nap múlva jelennek meg. Mas-Baket (Hollandia) megállapította, hogy a magas titerű Sabin—Feldman pozitívitás nem jelenti feltétlenül a folyamat aktivitását, alacsony titer viszont nem zárja ezt ki. Jira és Bozdech (CSSR) kísérletes fertőzésekkel azt állapították meg, hogy a komplementkötő ellenanyagok nagyobb mennyiségben keletkeznek, ha a fertőzés nagyobb adagokkal, ritkább időközben történik. A pozitívítás, bár alacsonyabb titerben, legalább 6 hónapig megmarad.

A *Pneumocystis carinii*-vel kapcsolatban Yaeger (USA) a fertőzöttség kimutatási lehetőségeiről, Frenkel és tsai (USA) pedig a pneumocystosis pathogenesiséről és therapiájáról tartottak előadást. Kucera (CSSR) a *Pneumocystis carinii* általa észlelt, új megjelenési formáiról számolt be.

Végezetül még megemlítem, hogy magam is tartottam előadást „Előrehaladás és a jelenlegi helyzet a humán protozoológiai kutatásban Magyarországon” címmel. Az előadásban az amoebiasis, giardiasis, trichomonadosis, toxoplasmosis és a malária területén végzett munkát és annak leglényesebb eredményeit vázoltam.

Dr. Zoltai Nándor

MAGYAR
TUDOMÁNYOS AKADÉMIA
KÖNYVTÁRA

TARTALOM — INDEX

Guba F., Harsányi V., és Vajda E.: A harántcsíkolt izom miofibrillumai ultrastruktúrájának változásai a fehérjék szelektív kioldása során — Changes in the myofibrillar ultrastructure of the striated muscle in the course of the selective extraction of proteins — Изменения ультраструктуры миофибрилл в процессе селективного извлечения белков 3

Vajda E., Guba F. és Harsányi V.: Izolált miofibrillumok harántcsíkolatának elektron- és fáziskontrasztmikroszkópos vizsgálata — Observations on the relative protein content of myofibrils of different sarcomere length — Электронномикроскопическое и фазовоконтрастное исследование поперечной полосатости изолированных миофибрилл 11

Müller M.: Biokémiai vizsgálatok egy csillós egysejtű (*Tetrahymena pyriformis*) lizoszómáin és mikrotestein 21

Balázs A.: A sejtélettartam és öregedés információ elméleti megközelítése — Informational theoretical approach of cellular lifespan and ageing — Подход к продолжительности жизни клеток и старению со стороны теории информации 35

Czeizel E., Péntes L. és Simon Gy.: Patkánymagzatok károsodása részleges májirtást követő regeneráció alatt — Injuries of rat embryos after partial liver extirpation — Повреждение эмбрионов крыс после частичного удаления печени 49

K ö n y v i s m e r t e t é s e k

N. P. Dubinin: Molekulargenetik (*Faludi B.*) 53

R. C. Clowes: Recent research in molecular biology (*Faludi B.*) 53

W. Kretowitsch: Grundzüge der Biochemie der Pflanzen (*Regöly-Mérei Gy.*) .. 55

P. Sitte: Bau und Feinbau der Pflanzenzelle (*Regöly-Mérei Gy.*)..... 56

S z a k o s z t á l y i h í r e k

Az Általános Biológiai Szakosztály Protozoológiai Szekciójának szakülései (*Lantos T.*) 57

K o n g r e s s z u s i h í r e k

Beszámoló a II. Nemzetközi Protozoológiai Konferencia humán protozoológiai vonatkozásairól (*Zoltai N.*) 59

304.441

VII

BIOLÓGIAI KÖZLEMÉNYEK

A MAGYAR BIOLÓGIAI TÁRSASÁG
ÁLTALÁNOS BIOLÓGIAI SZAKOSZTÁLYÁNAK FOLYÓIRATA

Szerkesztő
FALUDI BÉLA

XIV. kötet

2. füzet



AKADÉMIAI KIADÓ, BUDAPEST 1967

A Biológiai Közlemények a Magyar Biológiai Társaság Általános Biológiai Szakosztályának folyóirata. Megjelenik évente két füzetben. Közli a Szakosztály tárgykörébe tartozó (származástan, fejlődéstan, genetika, kísérleti biológia) dolgozatokat. A kéziratokat

Biológiai Közlemények Szerkesztősége
Budapest VIII., Múzeum krt. 4/a

címre kérjük beküldeni.

A kéziratok elkészítéséhez a Szerkesztőség — előzetes kérésre — *Útmutatót* bocsát a szerzők rendelkezésére. Folyóiratunk egységes technikai kivitelezése érdekében *kizárólag az Útmutató figyelembevételével készült munkákat fogadhatunk el.*

A Biológiai Közleményekben megjelent cikkekért minden szerzőt 100 különnyomat és ívenként 400 Ft tiszteletdíj illet meg.

BIOLÓGIAI KÖZLEMÉNYEK

A MAGYAR BIOLÓGIAI TÁRSASÁG
ÁLTALÁNOS BIOLÓGIAI SZAKOSZTÁLYÁNAK FOLYÓIRATA

Szerkesztő
FALUDI BÉLA

XIV. kötet

2. füzet



AKADÉMIAI KIADÓ, BUDAPEST 1967

MAGYAR
KUDOMÁNYOS AKADÉMIA
KÖNYVTÁRA

Szerkesztő bizottság:

GUBA FERENC, GYÓRFFY BARNA, HORVÁTH JÁNOS
KISZELY GYÖRGY, TÖRÖK LÁSZLÓ

Technikai szerkesztő:

BALÁZS ANDRÁS

Szegedi Orvostudományi Egyetem Biológiai Intézete (igazgató: Dr. Kiszely György egyetemi tanár), és Női klinikája (igazgató: Dr. Szontágh Ferenc egyetemi tanár).

AZ Y CHROMOSOMA TERHESSÉG ALATTI ELIMINATIOJÁNAK SZEREPE A SEXUAL-PROPORTIO KIALAKULÁSÁBAN

SZEMERE GYÖRGY, KISZELY GYÖRGY, SZONTÁGH FERENC

Beérkezett: 1966. júl. 14-én

Közismert, hogy világszerte több fiúgyermek születik, mint leány. Ez nagy statisztikákon számolva 106 fiúszületést jelent 100 leányra. A másodlagos, tehát a születéskor észlelhető nemi arány eszerint 106 : 100.

Az elsődleges, vagyis a megtermékenyítés idején kialakuló nemi arányra vonatkozóan csak feltételezésekre szorítkozhatunk, melyek különböző korú abortumok nemének megállapításán alapulnak.

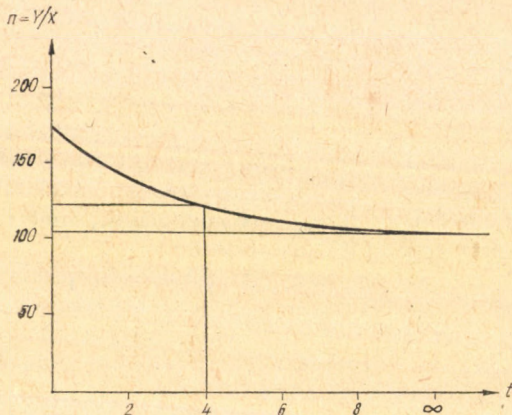
Graham [1] 1954-ben észlelte, hogy a trophoblast-sejtek az embryo gonadjainak kialakulása előtt is tartalmazhatnak sex chromatint, noha a pronucleusokban Austin [2], s az egészen korai embryokban Austin és Amoroso [3], valamint Melander [4] sex chromatin jelenlétét nem tudták észlelni. Park [5] a 10—12 napos embryokban mutatta ki először a sex chromatint. Ez lehetővé tette, hogy többen megkíséreljék a viszonylag korai magzatok nemi arányának megállapítását. Így spontán abortumok között Tricomi, Serr és Solish [6] 160 : 100, művi terhességmegszakításokból származó abortumok között pedig Szontágh, Jakobovits és Méhes [7] 122 : 100 nemi arányt talált. Teljesen világos, hogy a tetemes különbség a két adat között onnan adódik, hogy a spontán abortumok között szükségképpen több a fiúmagzat, mivel az X chromosomát tartalmazó petesejt Y spermiummal történő megtermékenyítése esetén azok a zygoták maradnak meg és fejlődnek újszülötté, amelyeknek X chromosomája semmiféle recessiv lethalis faktort nem tartalmaz. Ezért természetes nemi aránynak a korai embryonalis korban (a terhesség II—III. hónapjában, amikor a legtöbb terhességmegszakítás történik) a 122 : 100 arányt kell elfogadnunk. Ez nagyjából megfelel Hnevkovsky és munkatársai [10] azon észlelésének is, melyben ők 653 normális, interruptióból származó foetus nemi arányát vizsgálták, s úgy találták, hogy az a terhesség 2. hónapjában 178, a 3. hónapban 136, a 4. hónapban pedig 117, a fiúk javára.

Az abortumok és az újszülöttek között észlelhető különbség a nemi arányban természetesen feltételezi, hogy Y chromosomát tartalmazó spermiumok nagyobb számban képződjenek, mint X chromosomát hordozók.

Shettles [8] felfedezte, hogy a spermiumok fejének méretéből következtetni lehet a bennük levő ivari chromosoma minőségére, amennyiben emberi sperma száraz, festetlen keneteiben az Y chromosoma kisebb mérete következtében jól el lehet különíteni a kisebb fejű, Y chromosomát tartalmazó spermiumokat a nagyobb fejű, X chromosomás spermiumoktól. Szontágh és Jakobovits [9] egészséges férfiak ejaculatumát centrifugálva megállapította, hogy a spermiumok két populatioja (X és Y-viselő) fajsúlyuk alapján is

elkülöníthető egymástól — bizonyítva ezzel Shettles [8] észleleteinek helyességét —, s ugyanakkor azt is kimutatták, hogy a kezeletlen spermában az Y és X chromosomát hordozó spermiumok aránya 168 : 100.

Az első pillantásra is teljesen nyilvánvaló, hogy itt egy olyan mechanizmusról van szó, mely a phylogenesis során alakult ki az X chromosoma nagyobb sérülékenysége következtében. Közismert ugyanis, hogy az olyan hatások, melyekről feltételezzük, hogy genetikai károsodásokat okoznak — mint pl. a szokatlanul nagy intenzitású sugárzások —, az emberi és állati magzatokban veleszületett fejlődési rendellenességeken, koraszüléseken, fokozott újszülött halálozáson, alacsony születési súlyon kívül a nemi arányt következetesen a



1. ábra

hímivarú utódok javára tolják el, és pedig azért, mert ha pl. férfiak vannak kitéve ionizáló sugárzásnak, akkor relatíve nagy X chromosomáik sokkal gyakrabban töredeznek, mint viszonylag kicsiny Y chromosomáik. Ráadásul X chromosomáik hordozhatnak olyan géneket, melyekben lethális indukálódott, szemben Y chromosomáikkal, melyekben sokkal kevesebb a valóban mutabilis locus. Ezért besugárzott apák nőnemű zygotái aránytalanul gyakrabban pusztulnak el, mint a sugárzásnak ki nem tett apákéi, ami a nemi arány megváltozását eredményezi. Nyilvánvaló, hogy ez a helyzet nemcsak ionizáló sugárzások, hanem más hatások esetében is hasonlóan alakul.

Az is világos, hogy — mivel az Y chromosomát tartalmazó spermiummal való megtermékenyülés lehetősége ugyanakkora, mint az X chromosomás spermiummal —, a primaer nemi arányt is a 168 : 100 körül kell keresni.

Ha elfogadjuk ezt a feltételezést, akkor az Y spermiummal megtermékenyített egyes zygoták kiküszöbölődésére — a háromféle (primaer, foetalis és secundaer) nemi arány ismeretében — felvehetjük a maghasadási folyamatokra közismert eliminációs görbét, (1. ábra) és kiszámíthatjuk a kiküszöbölődési gyakoriságot, ha alkalmazzuk az

$$n = n_0 e^{-\lambda t}$$

képletet, ahol n jelenti a specifikus spermiumok számát, e a log. nat. alapja, λ a kiküszöbölődés gyakorisága (az idő egységére jutó Y eltűnés) és t az idő.

E képlet a bomlási törvény alkalmazása alapján adódik, mely szerint „ dt ” idő alatt eliminálódó Y spermiummal megtermékenyített zygoták „ dn ” száma arányos „ n ”-nel, a jelenlevő Y spermiumok számával és „ dt ”-vel. Így

$$dn = -\lambda ndt$$

A λ negatív tendenciája esökkenést reprezentál.

Az itt felírt összefüggés szétválasztható változójú elsőrendű differenciálegyenlet, melynek megoldása:

a) a változókat szétválasztva:

$$\frac{dn}{n} = -\lambda dt$$

b) mindkét oldalt integrálva:

$$\int \frac{dn}{n} = \int -\lambda dt + n_0,$$

amiből

$$\ln n = -\lambda t + \ln n_0.$$

Célszerűségi okból az integrációs konstans n_0 -nak választottuk, így az általános megoldás explicit alakja is egyszerűbb lesz.

$$n = n_0 e^{-\lambda t}$$

Ha $t = 0$ $\frac{Y}{X} = n = 1,68$

ha $t = 4$ hónap $\frac{Y}{X} = n = 1,22$

ha $t = 9$ hónap $\frac{Y}{X} = n = 1,06.$

Feltételezzük, hogy az $\frac{Y}{X}$ arány a terhesség első hónapjaiban csökken intenzíven, s ezért az $\frac{Y}{X} = 1,06$ viszonyszám gyakorlatilag a $t = \infty$ időhöz tartozik.

Ekkor az

$$[1] n(t) = [n(0) - n(\infty)] e^{-\lambda t} + n(\infty).$$

Az általános alakban felírt [1] összefüggés azt fejezi ki, hogy $t = 0$ és $t = \infty$ időközkhöz tartozó viszonyszám különbség időegységre eső csökkenése arányos a pillanatnyilag meglévő viszonyszám különbséggel.

Numerikusan az

$$n(t) = 0,62 \cdot e^{-\lambda t} + 1,06$$

függvény a tapasztalatnak megfelelően írja le az $\frac{Y}{X} = n(t)$ arány változását

ahol „t” a hónapban mért idő, λ pedig abból a tényből határozható meg, hogy $n(4) = 1,22$

$$1,22 = 0,62 \cdot e^{-4\lambda} + 1,06$$

$$\frac{0,16}{0,62} = e^{-4\lambda}$$

$$\frac{62}{16} = 3,88 = e^{4\lambda}$$

$$\lambda = \frac{1}{4} \ln 3,88 = \frac{1}{4} \cdot 1,358 = 0,34.$$

Elméletileg tehát minden időpillanatban meghatározható az aktuális nemi arány, figyelembe véve, hogy az Y chromosomát tartalmazó spermiumokkal megtermékenyült zygoták közül mindazok, amelyeknek az anyától kapott X chromosomája valamilyen recessív lethalis megváltozást hordoz, az embryonális fejlődés idején a maghasadási folyamatokra jellemző eliminatíot mutat.

Összefoglalás

Újszülöttek, korai és későbbi abortumok, valamint a spermiumok neméből, illetve nemi chromosomáiból szerzők arra következtetnek, hogy a megtermékenyítéstől a megszületésig az embryonális nemi arány úgy változik a nőivarú egyedek javára, hogy követi a maghasadási folyamatokra jellemző eliminációs görbét. E görbe pontos ismeretében elméletileg minden időpillanatban kiszámítható az aktuális nemi arány.

Szerzők köszönetüket fejezik ki a számításokban nyújtott igen értékes segítségért Sárosi Herberné tudományos munkatársnak, valamint Horváth László szakfelügyelőnek.

IRODALOM

1. GRAHAM, M. A.: Anat. Rec. 119, 469. (1964)
2. AUSTIN, C. R.: J. Cell. Comp. Phys. 56. 1. (1960)
3. AUSTIN, C. R., AMOROSO, E. C.: Exp. Cell. Res. 13, 419. (1957)
4. MELANDER, Y.: Hereditas. 48, 645. (1962)
5. PARK, W. W.: J. Anat. 91, 369. (1957)
6. TRICOMI, V., SERR, D., SOLISH, G.: Amer. J. Obst. Gyn. 79, 505. (1960)
7. SZONTÁGH, F. E., JAKOBOVITS, A., C. MÉHES: Nature 192, 476. (1961)
8. SHETTLES, L. B.: Nature, 186, 648. (1960)
9. SZONTÁGH, F. E., JAKOBOVITS, A., OROJÁN, I.: Orv. Hetil. 103, 1962. (1962)
10. HNEVKOVSKY, O., PETRIKOVA, E., CERNY, M.: Acta Univ. Carol. Ser. Med. suppl. 18, 109. (1964)

ROLE OF THE Y CHROMOSOME'S ELIMINATION DURING PREGNANCY IN FORMATION OF THE SEXUAL-PROPORTION

By

Gy. Szemere, Gy. Kiszely, F. Szontágh

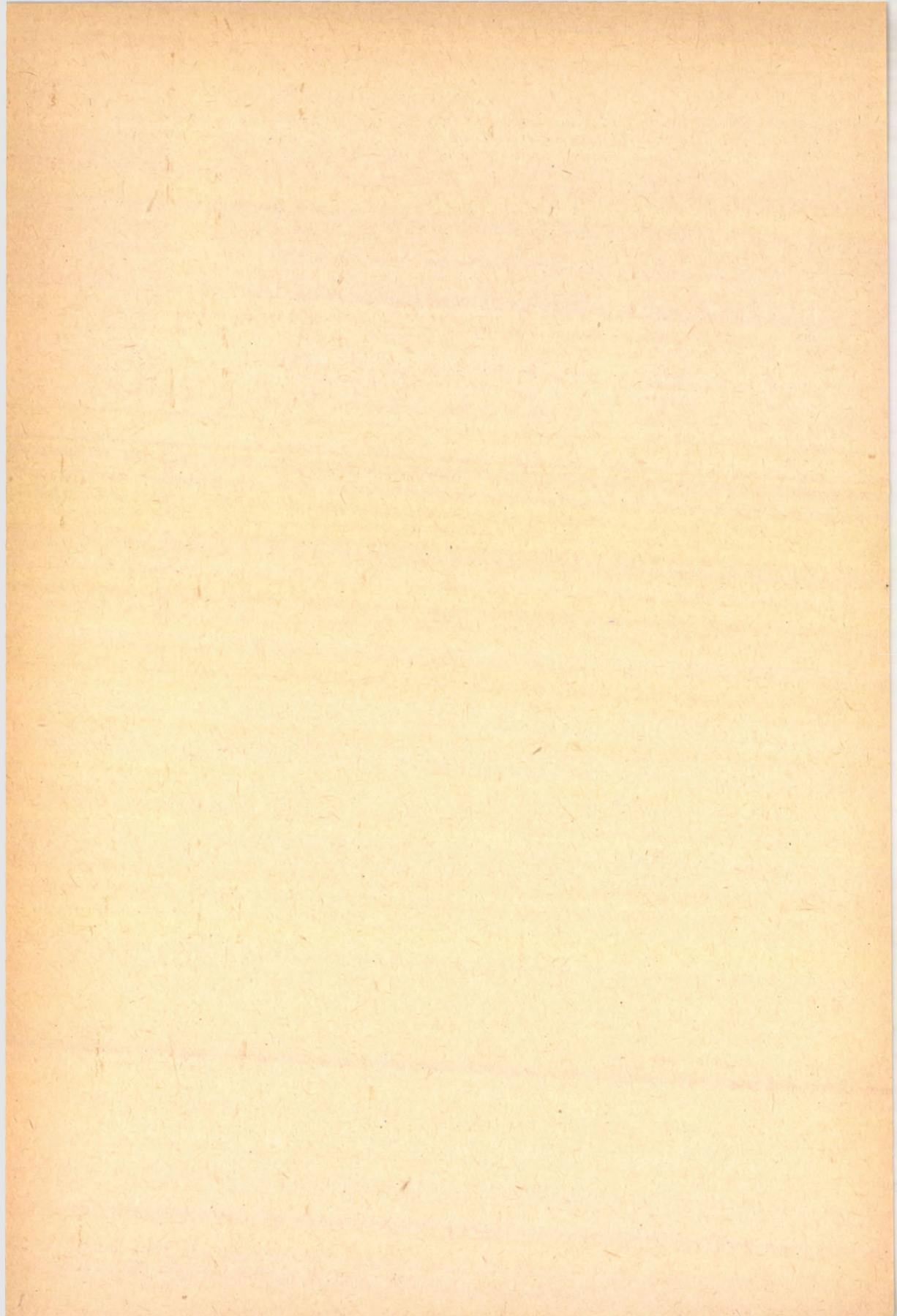
From the sex of newborn, early and later abortions as well as spermiums, that is, their sexual chromosomes, the authors have come to the conclusion that the embryonal sexual

proportion from fecundation till birth changes to the advantage of the female sex by following the eliminational curve characteristic to this process. In the exact knowledge of this curve theoretically, the actual, sexual proportion can be calculated in a very term.

РОЛЬ ЭЛИМИНАЦИИ У-ХРОМОСОМЫ ВО ВРЕМЯ БЕРЕМЕННОСТИ В ОБРАЗОВАНИИ ПОЛОВОЙ ПРОПОРЦИИ

Дь. Семере, Дь. Кисели и Ф. Сонтаг

На основе изучения пола новорожденных, плодов ранних и поздних аборт и спермиев, то есть их половых хромосом авторы делают вывод, что эмбриональное соотношение полов меняется в период от оплодотворения до рождения в пользу особей женского пола так, что это следует кривую элиминации, которая характерна для процессов расщепления ядер. С учетом этой кривой в любой период теоретически можно высчитать данное половое соотношение.



FAJON BELÜLI EGYEDEK TÁRSAS HAJLAMAI VAGY KAPCSOLATAI — A SZERVEZET EVOLÚCIÓJÁNAK EGYIK ALAPTÖRVÉNYE

VLADIMIR J. K. NOVAK

(Prága)

Az elméleti biológia egyik alapvető kérdése: az élő egyed mint egész, amely ugyanakkor része a földön létező élő anyagnak. Ennek kísérő problémája az a kapcsolat, amely az egyed és az élő anyag között fennáll. Ezekhez az elgondolásokhoz számos alárendelt kérdés is tartozik. Gyakorlatilag ezek a kérdések valamilyen módon mind a biológia részágaihoz tartoznak; így többek között szó van az egyedek közötti kölcsönös kapcsolatáról, az egyed, a faj és az élő anyag mint egésznek egymás közötti kapcsolatáról, a különböző egyedek között létező korlátozások és összeköttetésekről, állandóságukról és változékonyságukról, az élő egyedek eredetének, evolúciójának, szaporodásának és kihalásának kérdéseiről és még számos más problémáról.

Az élő egyed problémája a morfológia, különösen az evolúciós morfológia alapvető kérdéseire tartozik; helyes megoldásához elkerülhetetlen, hogy az élők három nagy csoportjához tartozók (mikróbák, növények és állatok) szervezetének szerkezetét és a különböző szinteken való szereplését megértsük. De tekintettel a működés és a szerkezet között fennálló viszony kölcsönösségére, létfontosságú a fiziológia, különösen az evolúció fiziológiájának tökéletes megértésére, és ugyanilyen mértékben az egyed és a törzs fejlődésének evolúciójához tartozó problémák megértése is. Ebben a munkában igyekszem, többek között ennek fontosságát, amely a genetika néhány alapvető problémájának megoldásához szükséges, megvilágítani. Ez a szervezet evolúciójának egyik lényeges kérdése.

Az egyén problémája, eredete az evolúció folyamán, valamint kapcsolata az élőlények közösségéhez mindazonáltal még aránylag kevés figyelemben részesült úgy biológiai mint fiziológiai szempontból. Ez a helyzet valószínűleg abból ered, hogy ez látszólag tisztán filozófiai kérdés, mely egyben magas követelményeket támaszt a filozófiai tudomány tekintetében, és biológiai fontossága és utalásai első pillanathban kevésbé szembetűnőek. Viszont megoldása a biológia széles körű és konkrét tudását követeli meg, így a filozófusoknak aligha volna módjuk e kérdés megfelelő megoldására.

Magától értetődik, hogy ez a probléma nem új keletű. Ebben a cikkben, terjedelmének korlátozottsága miatt, nem részletezhetjük a régi filozófusok pl. Empedokles (kb. i. e. 450) elveit, aki kissé misztikus formában vette tudomásul a természetben előforduló „általános és alapvető természetű kölcsönös megsegítést” (id. Allen 1938), vagy azon gondolkodók szemléletét, akik, pl. Shaftesbury (1700 körül), aki elsőként fedezte fel, hogy a természetben egyfajta törzsi ösztön észlelhető, amely az egyént arra ösztönzi,

hogya a többieket figyelembe vegye, és amely legyőzi a személyes előnyök megszerzésének igyekezetét; és amelyet csak a csoport fenntartásának fontosságával lehet megmagyarázni.* Meg kell azonban említenünk a francia entomológus, A. V. Espinas (1878) művét, „Az állatok közössége”-t. Ebben a monográfiában Espinas rámutat arra a tényre, hogy az élő szervezetek között nincsen teljesen magános típus, mindannyi, a legalacsonyabb rendűtől a legmagasabbig valamilyen fajta közösséget igyekszik kialakítani; ennek fontosságát kiemelte a fajok evolúciójának és túlélésének szempontjából. Montagu (1952) rámutat arra a tényre, hogy Espinas messze túlhaladta kortársait szemléletében, és ennek folytán sokan félreértették őt, főleg azok, akik Darwin „a létért való küzdelem” tévesen értelmezett eszméjének behatása alatt voltak.

Ezen idő óta a társas élet fontossága és annak kihatása a természetes kiválasztásra mind gyakrabban fordul elő, de ezeket az utalásokat csak korlátozott mértékben, egy bizonyos szempontból értelmezik. A legismertebb tanulmány, amely ezzel a témakörrel foglalkozik, egy anarchista tollából származik. Kropotkin Péter (1902, 1911, 1924, 1939) egy arisztokrata származású emigráns „Kölcsönös megsegítés mint az evolúció tényezője” címmel írta meg könyvét. Ebben Kropotkin az állatcsoportok köréből vett széles körű anyaggal világítja meg és hitelesíti az állatok kölcsönös segítségnyújtásának jelentőségét a természetes kiválogatás szempontjából. Művében megemlíti, hogy tanára, a német származású K. E. Kessler (1880), aki a szentpétervári egyetemen a zoológia professzora és a művészeti kar dékánja volt, egyik előadásával felkeltette érdeklődését, és ez készítette arra, hogy a témával behatóan foglalkozzék. Kessler szerint a „természetben előforduló kölcsönös létért való küzdelmen kívül a kölcsönös megsegítés törvénye is érvényesül, s ez a létfenntartás sikere és a haladó fejlődés szempontjából sokkal fontosabb, mint az a törvény, amely az egyéneket az egymás elleni harcra serkenti.” Bár Kropotkin könyve nagy visszhangra talált a nagyközönség körében, a szakértőket nem tudta kellőképpen befolyásolni, ami Alleen (1938) véleménye szerint annak tudható be, hogy „Kropotkin adatainak forrásai nem voltak mindig megbízhatóak.”

Bár sok más szerzőre nem áll módunkban hivatkozni, mint pl. Degeneer (1918) vagy Alverdes-re (1927), mégis szükséges Prof. W. C. Alleen-t (1938) megemlíteni, aki az „Állatok társas élete” című monográfiájában összefoglaló képet ad e tárgyról szóló eddigi adatokról, megvilágítja úgy az ember, mint az állat kölcsönös megsegítésének és társas életének folyamatát, és ugyanakkor új tájékoztatással szolgál ezen jelenség fiziológiai és ökológiai jelentőségéről. Végül meg kell említeni Liszenkót (1947–1948) és Montagut (1952), akik rámutatnak Darwin téves felfogására a természetes kiválasztást illetően, és bár Malthusra hivatkoznak, ezen téves értelmezés káros hatását hangsúlyozzák úgy filozófiai mint politikai tekintetben.

Ügyanezeket a problémákat vitatja meg. E. Haeckel (1906) „Általános morfológiájában” teljesen más, bár nem kevésbé fontos és ugyancsak nem kevésbé előítéletekkel teli szempontból. A könyv harmadik részében, amelynek címe „Általános tectológia vagy a szervezet struktúrájának általános elve” a szerző a szervezet morfológiai és fiziológiai individualitása közötti különbséget vázolja. Morfológiai szempontból az egymásnak alárendelt egyedek hat „kategóriáját vagy rendjét” különbözteti meg, és azt a tagot amely ezekből a kategóriákból kiválik, fiziológiai egyednek („biont”)-nak tekinti.

* Alleen levezetésének (1938) hozzátételező feldolgozása.

Haeckel az egyedek következő hat „rend”-jét különbözteti meg:

I. Plastidek — elemi szervezetek, ezek közé sorolja a szerző a cytodákat is (fél-sejtes típusú szervezetek), melyek létezését az ő idejében még csak feltételezték, és a sejteket.

II. Szerveket vagy „idorgan”-okat, beleértve a „sejthalmaz”-okat és a szervek rendszereit.

III. Antimerek vagy homotipikus elemek, ezek közé osztályozza pl. a sugaras szimmetriájú állatoknak egyes sugarait (karjait), a kétoldali szimmetriájú állatoknak egy-egy oldalát stb.

IV. Metamerek, azaz az egymást követő részeket vagy homodinamikus elemeket, úgymint pl. „azok a részek, melyek a virágos növény szárát képezik, az ízeltlábúak szelvényei és testtájai, a gerincesek csigolyái stb.”

V. Egyedek (prosope) beleértve a növények, ill. úrbelűek sarjait és bimbóit, úgy mint azokat, melyek a szó legszorosabb értelmében véve a magasabbrendű állatok kategóriájába tartoznak.

VI. Csomók (cormus vagy kolóniák) beleértve a fákat, bokrokat, szalpák láncos formáit, polipok telepeit stb.

Haeckel rendszere nagyjából mesterségesnek látszik, és rendjei „tényleg meglehetősen heterogének (mint pl. az ízeltlábúak test szelvényei, a vele kapcsolatos „gyűrűk-zonitok” és a gerincesek csigolya szegmentjei). Ezenfelül sorrendjük több mint kérdéses (pl. a testfelek mindenesetre magasabbrendűek mint a tapogatók és csigolyák, mégha az utóbbit hiteles morfológiai egységnek is tekintették), ha ugyan ilyen elemeket egyáltalán össze lehet hasonlítani egymással. Ez a tény és Haeckel könnyedsége az új kifejezések bevezetésében, kissé nehézkes gondolkodása, túlzott „teuton alapossága” és a gondolatok erőltetett kifejezésmódja még a szakértőnek is megnehezíti fogalmainak megértését; ezzel magyarázható, hogy elvei nem találtak kellő fogadtatásra, nem vezetett a szóban forgó törvények mélyebb megértésére és még Haeckel maga sem volt képes a jelentőségüket megfelelően felfogni.

Egy hasonló, az élő anyag architektonikus berendezésének többé-kevésbé statikus felfogását találhatjuk számos jelenkori szerző művében is (pl. Hadorn 1946). Lényegében ugyanezeket a szempontokat foglalja magába a sejtelmélet különböző megfogalmazása is (F. Baker 1948 és mások). Ugyancsak alapjául szolgál néhány alárendelt elvnek és feltételezésnek is, mint pl. a metaméres állatok eredetének strobiláció elmélete. Mindazonáltal egyik előbb említett esetben sem fogták fel az egyes kapcsolatok általános és egyben univerzális jellegét mint a szervezet evolúciójának egyik jelentős törvényét. Ezt a tételt kísérli meg a szerző jelen munkájában megvilágítani; a munka rövid kivonata egy részletesebb műnek, amely jelenleg kiadás alatt áll. Továbbá igyekszik rámutatni arra a tényre, hogy a szóban forgó törvény ugyanolyan elvont és általánosított jellegű, mint Darwin teóriája a természetes kiválasztásról: a szerző a „társas hajlam” kifejezést kívánja erre a törvényre használni, és tisztázni akarja a „társas hajlam” kapcsolatát a többi evolúciós törvénnyel. Bár sok olyan alárendelt jelenség, amely által ez a törvény érvényesül ismeretes és különböző feltételezések tárgya volt a jelen időkig, sok teória és alárendelt törvény alakult mint pl. a sejtes és strobilációs teória, a szervezetek között fennálló kölesönös megsegítésről levont következtetés stb.

A „társas hajlam” kifejezést, ahogy a jelen munkában használjuk, úgy értelmezzük mint a filogenetikai változások folyamatát, mely ugyanazon fajták élő

egyedeinek társulásához vezető progresszív kapcsolat, magasabb rendű egyedek kialakítására. A társas hajlam kiindulópontjai a nukleoproteid molekulák, melyek autoreprodukciónal szaporodnak (az egyén első fejlődési foka); ezen evolúció legmagasabban elérhető foka a többsejtű állatok és az emberi társadalom (ötödik fok). E két szélsőséges pont között fekszik az egysejtű szervezetek szintje (második fok), az egyszerű többsejtű állat és növény (harmadik fok), a komplex többsejtű (metaméres) állatok és komplex többsejtű növények szintje (negyedik fok). Az evolúció tetőpontja a társas hajlam terén a negyedikhez tartozó egyedek társulásának eredete és létrejövetele, amellyel a társas rovaroknál és az embernél találkozhatunk (ötödik fok eleje).

A fő bizonyíték a társashajlam-elv általános eszméjének kialakításához az a tény, hogy minden szervezet, akár létező, akár kihalt a társulás (vagy individualitás) fent említett öt fokának egyikében megtalálható, vagy az evolúció egyik fokán, melyből a másik fokba megy át [1]. Ezenkívül nélkülözhetetlen az a feltevés, hogy minden magasabb rendhez tartozó egyed filogenézisében fokozatosan átment az összes alacsonyabb fokokon [2]. És végül a nem kevésbé fontos következtetés, hogy a szervezetek filogenetikus evolúciója az alacsonyabb rendű társas hajlamból a magasabba mind az öt fokon keresztül ugyanazon törvények a társashajlam fázisai szerint [3].

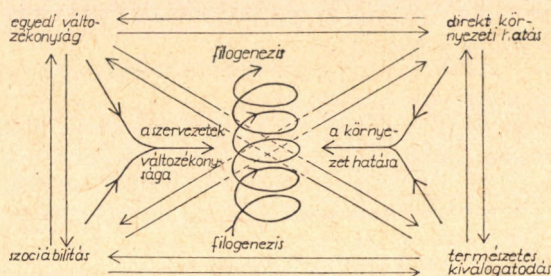
A társas hajlam szakaszai

A társas hajlam szakaszai alatt azokat az alárendelt törvényeket értjük, melyek egy kolónia vagy egy bizonyos rendű csoport egyedeinek születésekor jönnek létre, magasabb rendű egyénekké való fokozatos átalakulásuk folyamán. Ugyanúgy mint a társas hajlam esetében magában, általánosan nagy mértékben alkalmazható evolúciós törvények is bennfoglaltatnak, melyek nagy mennyiségű konkrét mechanizmus és kapcsolódás által kiemelkednek abból a közös aspektusból, amelyet kifejeznek. A társas hajlam következő öt szakaszát különböztethetjük meg (ez nem jelenti azt, hogy ezzel számukat feltétlenül kimerítettük volna):

1. *Non-dissociatio (non-disjunctio)*. Egyetértésben az általános, alkalmazható biológiai törvénnyel: „Omne vivum ex vivo”, minden élő egyed egy szülő egyed testéből származik. A szaporodás elve ezek szerint részben növekedésből és differenciálódásból, részben az utód egyedeknek, ill. a szülő testének szétválásából áll, többnyire tojások formájában. A társas hajlam kezdő és induló szakasza, amely az ezeken a vonalakon haladó teljes további evolúció feltétele, kiküszöböli a szaporodási folyamatnak ezt a részét, így az egyedek eredeti kapcsolata eredetük kezdődő fokától kitart érettségükig. Így a non-dissociatio a társas hajlam öt szakaszának mindegyikében elvben egy fajta neoténia, azaz kötődés ahhoz az állapothoz, amely az egyén evolúciójának korai szakaszát jellemzi érettségéig. A neuténiára alapozott létrejövetel a társas hajlam fiziológiai indulópontja, még azokban a ritka esetekben is, mint pl. az emberi társadalomban, ha az utódtól eltérő eredetű egyének részeseznek kisebb-nagyobb mértékben a kapcsolódás alakításában. Ebben a különleges esetben ténylegesen csak a mechanizmus használható fel, mely a non-dissociation alapszik, és a filogenézis korábbi periódusából ered (az említett eset szerint az emberi társadalom törzsi intézményen alapul).

2. *Differenciálódás* (rendes differenciálódás morfológiai szempontból és a munkamegosztás működési szempontból). Ez az eredetileg azonos utódegyedek — amelyek együttesen egy-egy alakzatot (kolóniát) képeznek — anyag-alk- és működésbeli különbségeinek evolúciója és progresszív származéka. A differenciálódás az egyének különböző funkciókra történő specializálódását és ezáltal tökéletesedésüket teszi lehetővé. A munka megosztása (specializálódás) mentesíti az egyéneket attól, hogy mindegyik maga állítsa elő az élethez nélkülözhetetlen anyagot, és így tetemesen kiterjeszti az átalakulásukhoz szükséges további lehetőségeket, meggyorsítva filogenetikai evolúciójukat.

3. *A belső környezet eredete* az a szakasz, melyben a kolónia magasabbrendű egyénekké fejlődik, ahol a kolónián belül az eredeti egyének felhalmozódása



1. ábra

által és az összefüggésük megszilárdulása által olyan társulás, specifikus és aránylag stabil állapot jön létre, mely a külső környezet állapotától különbözik, és az eredeti egyén elkövetkező fejlődéséhez kedvezőbb. Az új alakzat ilymódon kevésbé lesz a külső környezet káros hatásának kitéve (az egysejtű szervek protoplazmái és a többsejtű szervezetek testnedvei).

4. *Koordináció.* A „társas hajlam” fogalma értelmében a magasabb rendűől származó egyedek közül egy specifikus mechanizmus lép életbe; ez a imechanizmus lehetővé teszi a kooperációt és a kölcsönös rövid és hosszú adejű alkalmazkodást (korreláció) az alacsonyabb rendűtől eredő egyedeknél, akik a közösség szükségleteire kolóniát képeznek.

5. *Integráció* a kolóniát alkotó eredeti egyedek egységének elmélyedését és a közöttük előforduló egyenlenségek kiküszöbölését jelenti. Ezek onnan eredtek, hogy egyéniségük és az újonnan létre jött közösségen kívüli független élethez való képességük progresszíven ellett nyomva, és ezáltal egy magasabb rendű egyedévé váltak.

A társas hajlam fent említett szakaszait nem értelmezhetjük és tekintetjük homogéneknek, elkülönült fokoknak, amelyek a magasabb rendű egyedek evolúciójában követik egymást, inkább a legfontosabb általánosan felhasználható törvényként, amely az evolúció folyamán érvényesül, és amely szoros korrelációban áll egymással és függ egymástól. Egymást követő hatásuk az idők folyamán nagy mértékben csökken, de minden egyes szakasz csak úgy tud érvényesülni, ha legalábbis részben az előző előtt működött. Viszont az a tény, hogy a soron következő szakasz megkezdí munkáját, nem jelent korlátozást, ellenkezőleg, javítja azt az állapotot, amely az előző szakaszban érvényesült (1. ábra).

Az egyed fokozatai

Minden élő anyag a Földön külön egyedek alakjában létezik és létezett, az élettelen anyag történelmi eredetének kezdetétől fogva. Mint individuum, a szervezet az élő anyagnak olyan három dimenzió által körühatárolt része, amely független létre képes, azáltal, hogy elkülönülve más hasonló részekről meghatározott struktúrával és komplex működésekkel rendelkezik. A létezés módja zárt egyedi szervezet formájában egyike az alapjellegzetességeknek, és legalábbis ezidáig ez a földön létező biomassza egyetlen lehetséges formája. A jelenleg élő különböző szervezetek az egyéni jellegzetességek és a társas hajlam szempontjából nem egyenértékűek. Ha összehasonlítjuk a vírustestet (pl. a bakteriofág egyedét) a protozoon sejtjét (mint pl. a flagellispora) egy csalánzó testét, vagy egy alacsonyabb rendű férget (Hydra vagy Polatycetenum), a gyűrűs féregét (Annelida) az ízeltlábút, egy gerincest (gyík) vagy végül egy társas-rovar kolóniát (méhek vagy termeszek kolóniáját) és ha ezek egyéni-kénti filogenetikus helyzetét vesszük figyelembe, láthatjuk, hogy az egyedek az individualitás különböző fokait vagy rendjeit képezik. Ebből a rendszerből fejlődött történelmileg a magasabb rend a legközelebbi alacsonyabb rendű komplex egyedekből. Az egyedek különböző rendjének progresszív evolúciós tanulmányozása a filogenezis folyamán új fényt vet az evolúció néhány alap törvényére. Legelőször is lássuk a tanulságot, ha csak egy példával illusztrált rövid áttekintésből is, az egyedek rendjéről és a transzmissziós elemekként létező típusokról két határos rend között.

Mint az első fokozat egyedei a proteinek egyes makromolekulái (nukleo-proteidek) szerepelnek, ezek autoreprodukcióna képesek. Ez szükségszerűen annak a kémiai okfejtésnek eredménye, amely az anyag legkisebb azon osztható mennyiségére vonatkozik, amely a szóban forgó anyag specifikus tulajdonságait megtartja. (Ez még nem oldja meg azt a kérdést, vajon az a autoreprodukciónál által jellemzett molekula élőnek tekinthető-e, vagy, hogy ezt a sajátosságot csak ezeknek a molekuláknak rendszeréhez tartozónak tekintjük, vagy egy olyan rendszernek, amely bizonyos vonalakon differenciálódott és még külön tulajdonságokat is ábrázol, amelyek az élő szervezet tipikus tartozékai.) Hogy ez az okfejtés helyes, azt az úgynevezett molekuláris vírus (pl. a dohány mozaik vírusa) és ezen legalacsonyabb evolucionális típusú vírusoknak és a sejtes szervezetek közti átmenetek sorozata bizonyítja. Az ilyen átváltozások példájaként idézhetjük a következőket: az aránylag kis számú molekulákból álló bakteriofág test, a hydrophobia vírus, a myxoma vírus, a psittacosis és rickettsia vírusai. Az utóbbi vírusok azonban a sejtes állapot határán fekszenek. Az a tény, hogy a jelenlegi szervezetek filogenetikus evolúció folyamán primitív élő anyagból keletkeztek, amely viszont élettelen anyagból származik, olyan következtetést eredményez, amely szerint az összes jelenkori szervezet szükségszerűen átment filogenetikus evolúciója folyamán az elsőfokú egyed státuszán. Ebből továbbá arra következtethetünk, hogy azok a szervezetek, melyek kezdetben a mi planétánkon éltek, a jelenlegi vírusok szintjéhez hasonló egyedek voltak. Ezek szaprofitá módon annak a szerves anyagnak a terhére szaporodtak, amely a föld eredetileg steril felszínén halmozódott fel.

A *másodfokú egyedek* közé tartozik minden egysejtű szervezet, kezdve a baktériumokkal és egysejtű kéalgákkal, az egysejtű növényekig és protozoáig. Ezekben a fő kategóriákban benne foglaltnak azok a különböző fajták, amelyek ideiglenes kolóniákat képeznek, ezeket az evolúció ciklusának olyan

határozott fokozatai határolják, amelyeket első evolúciós lépésként tekinthetünk a soksejtű szervezetté való átváltozáshoz. Ezen a szinten mindeddig nincsen alapvető különbség növények és állatok között.

A harmadfokú egyedek az állatvilágban egyszerű többsejtű szervezetek az úrbélú vagy alacsonyabb rendű féreg típusából, a növényvilág csoportjában a sok sejtű alga és gomba típusából. A kolóniák alakulásának különböző módjából csak kettő honosodott meg, az egyik az állatok, a másik a növények között. Az állatoknál a medúza ivartalan szaporodása, az úgynevezett strobiláció szolgált a metamerikus testű állatok eredetének alapjául. A növényeknél az egyed problémája bonyolultabb a helyhez kötött életmód és a növénytestek szabálytalan alakzata és kapcsolata miatt; a növények gyakran csomókat képeznek, sok különböző és komplikált módon jönnek létre, és magas regenerációs képességgel bírnak (lásd Novák 1964).

A negyedik fok egyedeihez a magasabb rendű, úgynevezett metamerikus állatok testét soroljuk, kezdve az Annelidákkal; ezeknek az egyedeknek létrejöttét, a harmadik fokból való ivartalan, átlós szaporodás révén világítja meg a strobilációs elmélet. Ezen elmélet szerint egy Annelida példány teste a strobiláció típus ivartalan szaporodásából származik, az ily módon létre jövő szelvények progresszív differenciálódásával. Az Annelida típusból tehát, leszármaztathatjuk az összes magasabb rendű törzs evolúcióját, elsősorban az Arthropodákét, puhatestűekét és gerincesekét. Hasonló elv szerint elképzelhető a magasabb rendű növények származása is, amint ezt Novak (1961, 1962, 1964) az úgynevezett „cormus” teóriában mutatta be nemrég. Ezen teória szerint az edényes növények sarj-rendszere (cormus) tökéletlen ivartalan szaporodásból származik az eredetileg harmadfokú egyedek (szárak vagy thallium) folyamatos szétválásával és a megelőző egyedek hosszanti összenövésével. Mindkét teória, úgy a strobiláció mint a cormuselmélet lehetővé teszik, hogy a test struktúrájának filogenezisét és a magasabb rendű állatok és növények alakfejlődését az ontogenezisben egységesen értelmezzük és magyarázzuk.

A negyedik fokú egyedek is különböző típusú kolóniák alkotására társulnak a testek összekapcsolódásának alapján (megemlítjük pl. a Thalliacea, a Salpida és Doliolida csoportok és bizonyos Annelidák kolóniáit). Ez az evolúció azonban sem az állatok, sem a növények körében nem fejlődött olyan mértékben, hogy a következő, ötödik fokhoz tartozó egyedek hozzon létre. Ebben a tekintetben fontosabb a kolóniák újfajta produkciója ökológiai alapon, ahogy azt az úgynevezett társas rovarok különböző csoportjában találjuk, a természetek, hangyák, méhek és darazsak körében; ez tekinthető az *ötödik fokú egyedek* evolúciójához vezető legfőbb iránynak.

A negyedik fokú egyedek ökológikus társulása az ösztönökre alapozott kolóniákban, megegyezik a morfológiai tényezőkkel úgy fejlődésileg mint a többi lényeges jellegzetességekben is egy bizonyos pontig, ahol egy magasabb szintű evolúciós folytatásnak tekinthető, míg a morfológiai társulás e szinten meg van fosztva elsődleges fontosságától. A társulás eredetileg ugyancsak a rokoni kapcsolaton (egy nősténytől való származáson) alapszik, de mivel az ösztönön alapuló kapcsolat és társulás (idegi és fiziológiai motívum) rugalmasabb mint az, amely a morfológiai motívumnak tudható be, olyan előfeltételek jönnek létre, amelyek a közvetlen kapcsolatok hatáskörén kívüli, szélesebb terület kifejlődéséhez szükségesek, mint ahogy ezt az emberi társadalomban tapasztalhatjuk. A társas hajlamot ezek szerint olyan biológiai alapnak tekinthetjük, amelyből az emberi társadalom származik.

A társas hajlam törvényeinek részvétele az emberi társadalom evolúciójában

Az emberi társadalom és a természet élő része közötti összehasonlítás folyamán gyakran a szakértők is tévedésbe estek; ezt a tényt két ellentétes kategóriába osztályozhatjuk: az egyik csoport az állatok viselkedésének antropomorfisztikus értelmezése, amely az emberi motívumokra és szükségletekre van alapozva, a másik ezzel ellentétes felfogás, amely nem veszi figyelembe, vagy semmibe veszi az ember specifikus jellegzetességeit és a biológiai törvényeket mechanikusan alkalmazza a társadalmi jelenségekre. Ezt a tévedést különösen az úgynevezett szociál-darwinizmus hívei követték el. Azonban ugyancsak téves lenne, ha a hasonló félreértések kockázata miatt, bármely jelenség rendszerére alkalmazható általános összehasonlítás lehetőségeit elkerülnénk. Erre való tekintettel talán nem lesz helytelen ha az itt következő részekben rávilágítunk az emberi társadalom evolúciójának fő tételeire a már vázolt társas hajlam elveinek szempontjából. Ennek a munkának terjedelme azonban csak rövid utalásra ad lehetőséget a legfőbb kérdésekkel kapcsolatban.

Először is azt a fent említett tényt kell kihangsúlyozni, hogy bár a jelenkori emberi társadalomban, amely a modern állam formáját vette fel, az összefüggések bizonyos specifikus módja jött létre, az utód és a szülő szervezete közötti fizikai összefüggés teljesen háttérbe szorult. Ez a kapcsolat azonban, mint primitív törzsintézmény, mégis az a filogenetikus bázis, amelyből a társadalom magasabb formája fejlődött ki (lásd 10. old). Ezen a ponton nincsen a jelenkori szociológusok között nézeteltérés, akik közül az első L. H. Morgan volt (1877). Csak az emberszabású majmoknál kis csoportban kialakult tartós közösség — amely egy jellegzetes el nem különülésre alapszik, az anyai ösztön fejlődése és annak az érettségig való kiterjesztése révén (lásd neotonia 4. old) — alapozta meg a további fejlődés és az emberi társadalom irányába való terjeszkedés előfeltételeit.

Hasonlóan lehetséges nyomon követni a társas hajlam azon négy következő fázisát, amelyek az emberi társadalom evolúciójában érvényesültek. Így itt differenciálódás jön létre, amely a rovarok közösségeinek jellegzetes különbsége fiziológiai szinten, azaz a munkamegosztás formája, anélkül, hogy bármilyen morfológiai differenciálódás történné, mint pl. a hangyáknál. Ezáltal természetesen nemhogy csökkenne, hanem inkább növekedik részvétele a társas hajlam fejlődésében. Mint a belső környezet létrejötte és fejlődése az ember által átalakított természet említhető meg, kezdve saját lakhelyétől és az előnyös mikroklímától egészen a város modern környezetéig és a mai mérnökök és tudósok alkotta termékekig. Tipikus megnyilatkozása, és a koordináció terméke az érintkezés módjának fejlődése, kezdve a nyelv létrejöttével és az állatok, személyek és tárgyak szállítására való felhasználásával. Ez utóbbi fokozatosan átváltozott és a közlés modern formája a telefon, a film, a rádió és a televízió alakult ki belőle. A keletkező integráció megnyilvánulásának tekinthető a társas kapcsolatok fejlődése és megszilárdulása, csakúgy, mint az egyén egyidejűleg fokozódó függése a társadalomtól, úgy anyagi mind pszichikai szempontból (művelődés stb.).

Még egy szempont van, amelyre ebben az összefüggésben rá kell mutatnunk, mégpedig a fejlődés óriási gyorsulása a biológiai állapottól a társadalmi fejlődésig való átmenet alatt. Ezt az örökké fokozódó felgyorsulást, amely arányban áll a szervetlen természet evolúciójától a szervezetek evolúció-

jához történő átmenettel (lásd Novák 1963) elsősorban az ösztön értelemmé való átváltozása határozza meg. Anyagi előfeltétele a társadalmisított munka, amelyből az ember helyzetének állandó javulása fakad és a társadalmi tudat fejlődése, amely ezzel szorosan összefügg.

Az ember társadalmi tudata a fejlődés leglényegesebb terméke a *Homo sapiens* társas hajlamával kapcsolatban és ugyanakkor a legfontosabb adottság, amely a biológiai és társadalmi jelenségek közötti különbséget szabályozza. A szóbeli és később írott hagyományok megteremtése, a tudás továbbításának modern könnyítésével és az eszméknek a film, a rádió és a televízióval való terjedésével az egyszerű közlésből az emberi értelem fejlődésének vezető tényezőjévé nőtt, és ugyanakkor előfeltétele lett a társadalmi munka fejlődésének a modern gépesítés területére.

A társadalmi tudat egyik jellegzetes sajátossága gyors történelmi differenciálódása a tudat különböző formáiba, úgymint a vallás, művészet, filozófia, tudomány és erkölcs; ezek a formák azután gyorsan még részletesebb tudományszakokra osztódnak. Ugyanakkor azonban a tudomány és a gépesítés újabb fejlődésével a társadalmi tudat különböző formáinak integrációja figyelhető meg (mint pl. a tudomány és az erkölcs integrációja) és a különböző alárendelt összetevői is (pl. a különböző tudományos ágak).

Rá kell mutatnunk az ötödik fokhoz tartozó egyedek alakulási folyamatára az emberi társadalmon belül, amely jelentős mértékben analóg a biológiai szinten végbemenő egész evolúcióval a társas lét progresszív fokozatainak keresztül, és sok vonatkozásában és törvényszerűségében közös vele. Ugyanúgy, mint a szervezetek evolúciójában, az egyedek evolúciója az emberi társadalmon belül egy megszakítás nélküli folyamat, amelyben a különböző közösségek és egységek alakulása, stabilizációja és fejlődése együtt jár küzdelmeikkel, győzelmeikkel és egymás bekebelezésével. Továbbá éppen úgy, mint az élő szervezetek természetében, az új egyedekhez mindig újabb és újabb társas alakzatok fejlődnek progresszíven; az emberszabású majmok csapataitól és az ősembertől a hordák és a vadság korszakainak törzsi kapcsolatainak át a haladó barbárság primitív államaivá nőttek és a civilizálódás periódusainak különböző alakulásain át a modern államok egymástól eltérő mai végső formájává váltak. Az így keletkezett állam maga is további integrációjával a komplex felsőbb kategória felé irányul. Időközben, úgymint az élő szervezetek természetének fejlődésében, számtalan konfliktuson és kudarcon keresztül, az emberi társadalom egy mind nagyobb, komplexebb és eredményesebb alakzat felé halad a társas hajlam vonalán, a belső nézeteltérések megoldására való fokozatosan javuló módszerekkel.

Az emberi társadalom evolúciója ezen általános irányvonalának fel fogásából a jövő perspektívája igen derűlátóan bontakozik ki, feltéve, hogy nem válik egy katasztrófa áldozatává, amelyet esetleg egy nukleáris háborúval idéz elő, vagy pedig egy kozmikus összeütközés hozhat létre. Elképzelhető egy egyértelmű irányzat az emberi társadalomban; egyetlen közösséggel, amely magában foglalja a *Homo sapiens* biológiai fajtáinak minden egyedét; egy olyan közösség, amelyben úgy technikai mint szociális természetű főbb véleménykülönbségek eldönthetők, és amely egyre fokozódó mértékben biztosítja tagjai életszínvonalának optimumát. Ez lehetővé tenné azt is, hogy személyes szükségletei és képességei teljes mértékben érvényesüljenek, amennyiben nem ellentétesek más egyének szükségleteivel, törekvéseivel vagy képességeivel. Ezáltal a szükséges előfeltételek rendelkezésre állnának a tudomány

és a gépesítés fokozódóan behatóbb fejlesztésére — amelynek korlátai a tényleges haladással mindjobban elvesznek a távolban. Az ilyen társadalom megvalósulása után az etika követelményei és minden létező elgondolása ugyancsak maximális fokig megvalósulnak, amelyeket a különböző vallások misztikus eszméi folyamatosan alakítottak ki és végül a mai ember humanisztikus ideológiájában csúcsosodott ki.

A társas hajlam viszonya az evolúció többi törvényéhez

A társas hajlam — mint ahogy azt az előbbieken értelmeztük — az evolúció általánosabb elvének specifikus tényezőjeként tekinthető, a teljes komplex anyaghoz alkalmazható, legalábbis; a mi naprendszerünk határain belül; ez az elv az anyag mind nagyobb és komplexebb részecskéinek alakulásából adódik. A mi mai tudásunk szerint, az atommag kvantitatív reakciójával kezdődik a nap és a többi álló csillag tömegén belül. Ezek a magok, amelyek mindegyike az anyag elemi részeinek specifikus alakzata, progresszív csoportokat alkotnak a nagyobb és nagyobb egységek — az atomok — kialakítására. Ez a fejlődés, amely fizikai szinten megy végbe, nagyobb komplexumokhoz, a molekulákhoz vezet, amelyek fokozódóan komplex energetikai kapcsolatba lépnek egymással és így progresszíven nagyobb és komplexebb alakzatok eredetét eredményezik.

Ez az evolúció a föld-típusú bolygók felületén specifikus viszonyok között éri el tetőpontját, amikor azok lehűlnek. Az anyag fizikai evolúciója ezáltal kémiai evolúcióvá alakul át, amely egy fokozódóan magasabb molekula súlyú kémiai összetételhez vezet.

Az élő anyag létrejöttével új és nagyobb komplexumok is megjelentek, ezek szerkezete ugyancsak több rétvű. Ezekben a komplexumokban fokozódó intenzitással folytatódik a létező fizikai és kémiai evolúció, de ugyanakkor az evolúció eredményeként egy új típusú, biológiai evolúció is létre jön, amelyre pontosan a fent körvonalazott társas hajlam jellemző.

Az evolúció óriási felgyorsulása, amely nagyobb és komplexebb egységek felé irányul, úgy tekintendő, mint a kémiai evolúció átalakulása a biológiaiba. Ez egy új evolúciós tényező létrejöttével függ össze, amely nem más, mint a természetes kiválogatódás működése, ahogy azt Darwin bizonyította. Az előbbi szempont szerint ezt a működést a szervezet túléléséhez szükséges, kedvező jellegzetességek progresszív felhalmozásának tekintjük, a kedvezőtlenebb tulajdonságokkal bíró egyedek állandó kiküszöbölésével vagy korlátozásával (lásd. Novák 1963).

A társas hajlam összefüggését a természetes kiválasztással az a tény határozza meg, hogy minden változás, amely a társas hajlam irányában és bármely alárendelt szakaszában előfordul, nemcsak jobb kilátásul szolgál az egyed túléléséhez, vagy azon a vonalon, ahol az eltérés előfordult — mivel a létrejövő kolónia egyedei, vagy az a kolónia amely egy magasabb rend egyedeivé alakul át, védelmet nyújtanak egymásnak a környezet hatásai ellen —, hanem az a tény is, amely szerint a létrejövő egyed méretének és komplexitásának megnövekedésével az eredeti, alacsonyabb rendű egyeddel összehasonlítva, óriási mértékben fokozódik a változékonyság lehetősége, és ezáltal az életkörülményekhez való további alkalmazkodása. Így determinálódik a társas hajlam viszonya az evolúció másik két tényezőjéhez, vagyis a változékonysághoz és a környezet befolyásához.

A fent nevezett két tényező nagy befolyása, amit a társashajlamra gyakorol — nyilvánvaló. A társas hajlam jelentősége a természetes kiválasztásnál, az ún. szelektív értékének eredményeképpen elősegíti, összegyűjti és felgyorsítja a társas hajlam köréhez tartozó minden változást. Ez érthető, ha számításba vesszük, hogy az egyén evolúciója az alacsonyabb rendből a magasabba a legfőbb iránya annak az evolúciónak, amelyet az élet a Földön képvisel, és a legfontosabb előfeltétele a mai anyagok, formák és működések óriási választékainak. Az előbb elmondottakból nyilvánvaló, hogy a változékonyság visszahat a társas hajlam vonalán haladó evolúcióra — minél változékonyság a szervezet adott vonala evolúciójában, annál gyorsabb az egyedek evolúciója magasabb rendű egyedekké. Hasonlóan működik a külső környezet egyenes befolyása, sokféle módon és sokféle irányban.

A szerző véleménye szerint a fenti rövid vázlatból is kitűnik a társas hajlam elméletének filozófiai jelentősége, amit elsősorban a következő három tényben lát: 1. Rámutat a biológiai evolúció főbb irányzataira, amelynek logikus eredménye és következménye az emberi társadalom evolúciója. 2. Megvilágítja a fejlődés törvényszerű kapcsolatát egyrészt az anyag biológiai szintjén történő fizikai és kémiai evolúciójával, másrészt a társadalmi evolúcióba való kinövésével, amely ugyanakkor lehetővé teszi a mélyebb betekintést specifikus jellegzetességeibe és törvényeibe. 3. Feltárja azon közös törvények létezését, amelyek a magasabb komplexumok eredetét és fejlődését az alacsonyabbakétól szabályozza, és meghatározza az érvényességük körét az evolúció különböző szintjein.

Összefoglalás

1. A jelen munka a társas hajlamot, mint a filogenetikussá válások egymást követő sorát határozza meg, amelynek következménye fajon belüli élő egyedek progresszív társulása magasabb rendű egyedek alakítására.

2. A társas hajlam vonalán történő evolúció a nukleoproteidok molekuláinak autoreprodukciónak kezdődik (elsőfokú egyedek) ezek szervezett és integrált komplexei egységtű szervezetekként jelennek meg (a második fok), utóbbiak társulnak és az egyszerű sok sejtű szervezetet képezik, vagyis a szivacsokat (Porifera), az úrbélűeket és az alacsonyabb rendű férgeket az állatvilágban és a sok sejtű növényeket (a harmadik fok) a növényvilágban; ezeknek társulásából származnak a metamerikus állatok és a cormikus növények (a negyedik fok). A társas hajlam szempontjából a legmagasabb szint (az ötödik fok kezdete) a száras növények társulásából és a metamerikus állatok kolóniájából áll — ezekből fejlődött ki idővel az emberi társadalom.

3. Feltételezhető, hogy a magasabb rend minden élő egyede filogenezise alatt progresszíven áthaladt a társas hajlam minden egyes alacsonyabb fokán. Minden élő szervezet, legyen az létező vagy kihalt a fenti öt fok valamelyikében helyezkedik el, vagy az evolúció valamelyik átmeneti szakaszában az egyik vagy utána következő fok között.

4. Annak a feltevésnek is hangot adunk, hogy a szervezet filogenetikussá evolúciója az alacsonyabb fokból a magasabba a társas hajlam azonos törvényei vagy alárendelt szakaszainak megfelelően ment végbe, vagyis: *a*) együttmaradás (non-disjunkció), *b*) differenciálódás (munkamegosztás), *c*) a belső környezet, *d*) koordináció, *e*) integráció létrejötté.

5. Az együttmaradás (non-separation) amely a társas hajlam kezdő-pontja jórészt a neotenián alapuló állapotokból származik, az embrió kezdeti szintjének az érettség állapotáig történő állandósulásból.

6. Elemeztük az okokat, amelyek szükségessé teszik, hogy a nukleo-proteidek protein-molekuláit, melyek auto-reprodukcióval szaporodnak az első fok egyedének tekintjük. Ebből arra következtetünk, hogy az eredeti élő anyag, amely kezdettől fogva a mi bolygónkon létezik, a mai kor vírusainak szintjén levő szervekből állt, ezek szaprofita módon szaporodnak azoknak a szerves anyagoknak terhére, amelyek abiotikusan gyűltek össze a föld steril felszínén.

7. Különös figyelmet szenteltünk annak a módnak, ahogyan a társas hajlam törvényei érvényesülnek az emberi társadalom evolúciójában, specifikus megnyilvánulásuknak az anyag evolúciójának ezen a szintjén, és működésük eredményeire az emberi pszichikum körében, mely a társadalmi tudat különböző formáit és megnyilvánulását tükrözi. Továbbá szó esik arról a szerepről, amelyet a társadalmi tudat játszik az emberi társadalom evolúciójában és néhány gondolat ezen evolúció jövő perspektívájáról.

8. Elemeztük a társas hajlam viszonyát a filogenetikus evolúció más elveihez és törvényeihez, és rávilágítottunk kölcsönhatásukra. Hangsúlyoztuk azt a tényt, hogy a társas hajlam folyamán végbe menő változások a természetes kiválogatódás szempontjából a legjelentősebb örökletes eltérések között szerepelnek.

9. Végül bizonyos következtetéseket és eredményeket vázolunk, amelyek a társas hajlam elvének a biológiában alkalmazott megismeréséből fakadnak és rámutattunk az evolúciós tudományok, továbbá a filozófia terén fennálló jelentőségére.

IRODALOM

- ALLEE, W. C. (1938). *The Social Life of Animals*. London.
- ALVERDES, FR. (1927). *Social Life in the Animal World*, London.
- BAKER, J. R. (1950). *A Discussion of Morphology and Fine Structure*. Proc. Lin. Soc. London, Sess. 162.
- BEKLEMISHEV, V. N. (1958). *Grundlagen der vergleichenden Anatomie der wirbellosen Tieren*, Berlin, VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften, I, 441 pp., II, 403 pp.
- DEEGENER, P. (1918). *Die Formen der Vergesellschaftung im Tierreiche*, Berlin.
- ESPINAS, A. V. (1878). *Die tierischen Gesellschaften*, Braunschweig.
- GEIGY, R. & PORTMAN, A. (1941). *Versuch einer morphologischen Ordnung der tierischen Entwicklungsgänge*. *Naturwissenschaften*, 49, 734–743.
- HAECKEL, E. (1906). *Prinzipien der generellen Morphologie der Organismen*, Berlin.
- KESSLER, K. E. (1880). *On the law of mutual aid*. (oroszul) *Trudy Peterb. obsc. estestvo isp.*, 11, 124–136.
- KROPOTKIN, P. (1914). *Mutual Aid, a Factor in Evolution*. IInd. ed., New York.
- KROPOTKIN, P. (1920). *Gegenseitige Hilfe in der Tier- und Menschenwelt*, Leipzig.
- LYSENKO, T. D. (1947). *Agrobiologia*, Moskva.
- MONTAGU, A. (1950). *Darwin, Competition and Cooperation*, New York.
- MORGAN, L. H. (1877). *Ancient Society or Researches in the Lines of Human Progress from Savagery through Barbarism to Civilisation*. London, Macmillan.
- NOVÁK, V. J. A. (1961). *The cormus theory on the structure and evolution of vascular plants*. A lecture in the Institute of Botany, Charles University, Prague.
- NOVÁK, V. J. A. (1963). *The principal of natural selection and the question of struggle for life and overpopulation*. *Biologia Bratislava*, 18, 11.
- NOVÁK, V. J. A. (1964). *The cormus theory and the question of structure and origin of the shoot apices*. Intern. Symposium on the differentiation of the shoot apices. ČSAV Praha
- SEVERCOW, A. N. (1931). *Morphologische Gesetzmässigkeiten der Evolution*. G. Fischer, Jena.

AZ ELEKTRORETINOGRÁFIA ALAPVETŐ IRÁNYZATAI

A retina elektromos jelenségeinek értékelése, bioelektromos potenciálok analizisének módszerei.

TÓTH SÁNDOR

ORFI Gerontológiai Kutató Intézet, Budapest (igazgató: Dr. Farkas Károly egyetemi tanár,
tudományos igazgató: Dr. Haranghy László egyetemi tanár).

Az élő szervezetek működésének szabályozási folyamataiban az elektromos jelenségek lényeges szerepet játszanak. Intracelluláris struktúráknak, membránoknak, sejtmolekuláris jelenségeknek, sejteknek egészében, szöveteknek és szerveknek egyaránt meghatározott elektromos jellemzői vannak. Az élő anyagban lejátszódó elektromos folyamatok az elektrofiziológiai vizsgálatok tárgyát képezik. E vizsgálatok jelentősége abból a körülményből adódik, hogy az említett elektromos jellemzők — bioelektromos potenciálok — változásának regisztrálásával szervek és a szerveken belül különböző struktúrák működésbeli tulajdonságairól, e működés dinamikájáról és törvényszerűségeiről kapunk adatokat.

Az elektrofiziológia különösen jelentős az idegfiziológiában, mivel az idegrendszer lényegében elektromos úton látja el a szabályozás, az információfeldolgozásának és továbbításának, szervek vezérlésének feladatát. Ideg-szövetben a bioelektromos potenciálok széles skálája regisztrálható a struktúrától, ill. funkciótól függően: impulzus aktivitás, kiváltott lassú potenciálok, alap ritmika, állandó bioelektromos potenciálok, synaptikus potenciálok, redox potenciálok. Elektrofiziológiai módszerekkel lehet feltárni az idegrendszer egyes részei funkcionális integrációját, az egyes részek és elemek kölcsönös kapcsolatát.

Idegelemek elektromos aktivitásának vizsgálata lehetővé teszi, hogy közvetlenül megfigyelhessük és vizsgálhassuk az idegrendszer különböző részeiben lejátszódó idegi folyamatok dinamikáját. Ennek következtében az elektrofiziológia egyes ágai, pl. az elektroencefalográfia, az agyfiziológiai kutatásokban játszott önálló szerepén kívül más, az agyfiziológiával kapcsolatos tudományoknak (pl. agysebészet, ideg- és pszichiátriai klinikum) nélkülözhetetlen alkotórészeivé váltak.

GALVANI és VOLTA XVIII. sz.-végi vitája óta az elektrofiziológiai kísérletek fő kérdése: a regisztrált elektromos potenciál eredete és az, hogy milyen funkciót tükröz, másszóval a regisztrált bioelektromos potenciál analízise (végső soron eredetének pontos meghatározása) és élettani funkcionális értékelése.

Általános idegfiziológiai és elektrofiziológiai módszertani problémák szempontjából a retina több vonatkozásban tarthat érdeklődésre számot. Az alábbiakban röviden felsoroljuk, hogy a retina bioelektromos potenciáljainak analízise során milyen problémák vizsgálatára nyílik lehetőség.

A szenzoros információk közül a látásnak meghatározó szerepe van a gerincesek alkalmazkodásában. Más érzékszervek útján szerzett érzetek is

általában a látóérzetekhez kapcsolódva általánosítódnak és válnak az individuális tapasztalat alkotórészévé. Az ember esetében az érzeteknek kb. negyven százalékát a látószerv szolgáltatta [36].

A szem ideghártyája a legbonyolultabb receptorapparátus a gerincesek és némely gerinctelen érző apparátusa között. A retina fényfelfogó receptorsejtjei a legnagyobb mértékben specializálódtak és bámulatosan érzékenyek. Már néhány kvantum erősségű fényt is képesek felfogni.

A retinán részleteiben jól megközelíthető a transzdukciónak molekuláris mechanizmusa, vizsgálható, hogyan alakul át a külső környezet energiája annak a rendszernek a nyelvére, mely a szervezetet irányítja. Másrészt a retina igen alkalmas a transzformáció tanulmányozására, mivel a receptorok adatai nyomban magában az ideghártyában nagyfokú feldolgozáson mennek keresztül. A retinában a látóút két egymásrakövetkező szakaszán, a bipoláris sejtektől az opticus sejtekhez, majd ezen utóbbiaktól tovább a n. opticuson az információ két alapjában különböző módon továbbítódik. A retina ganglion sejtjei bipoláris sejtek segítségével egyenként több ezer receptorsejtből kapott információ adatait dolgozzák fel analóg számológépek mintájára.

A retina, ezen periférikus „agy” viszonylagos egyszerűsége lehetővé teszi olyan vizsgálatokat, melyek kilátástalanok a magasabban fekvő agyi központok esetében, ezen utóbbiakat jellemző bonyolult és sokrétű kölcsönhatások miatt. A retinán, mintegy modellen, de egyszerűsége miatt elegendő teljesítményel lehetséges az elveknek tanulmányozása, amelyek a látási analízatorban és általában az érzékszervekben az információ felfogásának, feldolgozásának és átadásának az alapját képezik.

Az ideghártya, továbbá, klasszikussá vált objektum az analízator rendszerek strukturális térbeli szerveződési elveinek tanulmányozására.

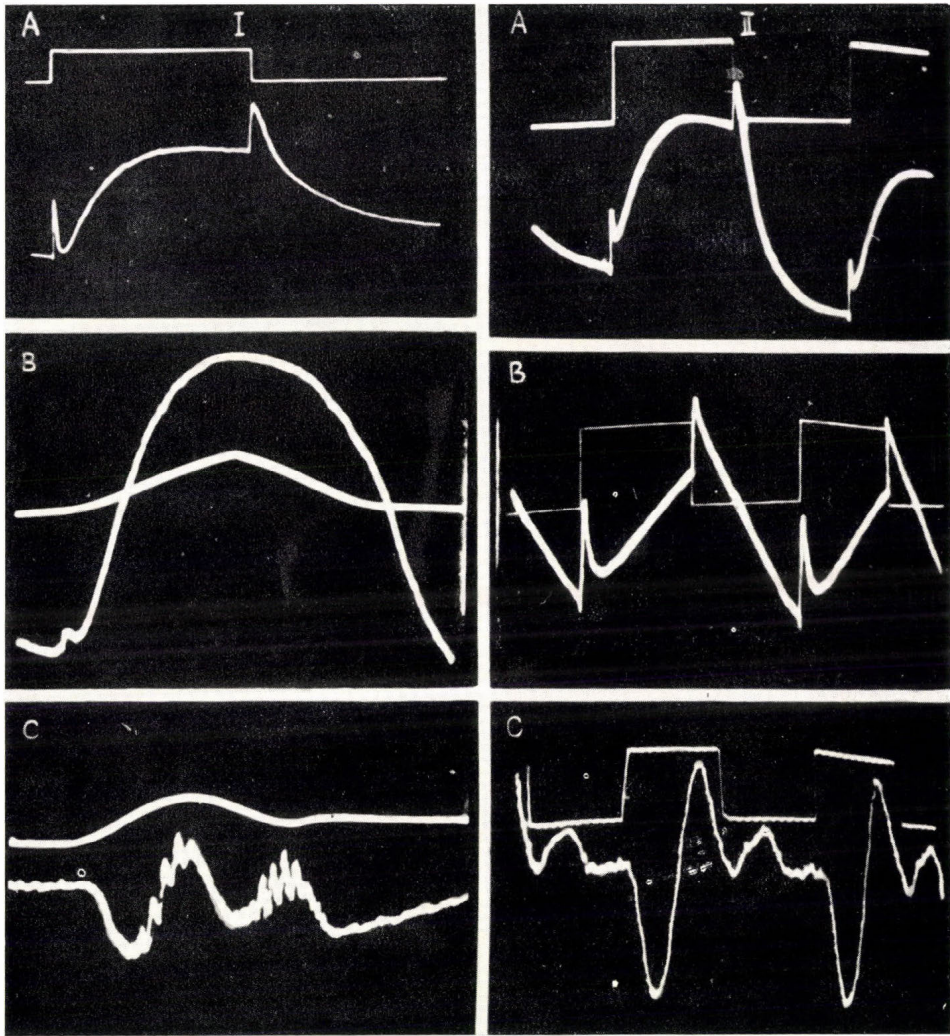
A fenti alapkutatói témákon kívül a retina érdeklődésre tart számot, mint a klinikai elektroretinográfia tárgya. Az utóbbi időben igen megnőtt az ERG metodikai kérdéseivel foglalkozó vizsgálatok száma és nagymennyiségű munkát szentelnek az ERG ophthalmológiai diagnosztikai problémáinak [112].

A retina elektrofiziológiai módszerekkel elektroretinogram segítségével történő tanulmányozásában történelmileg három alapvető irányzat jött létre.

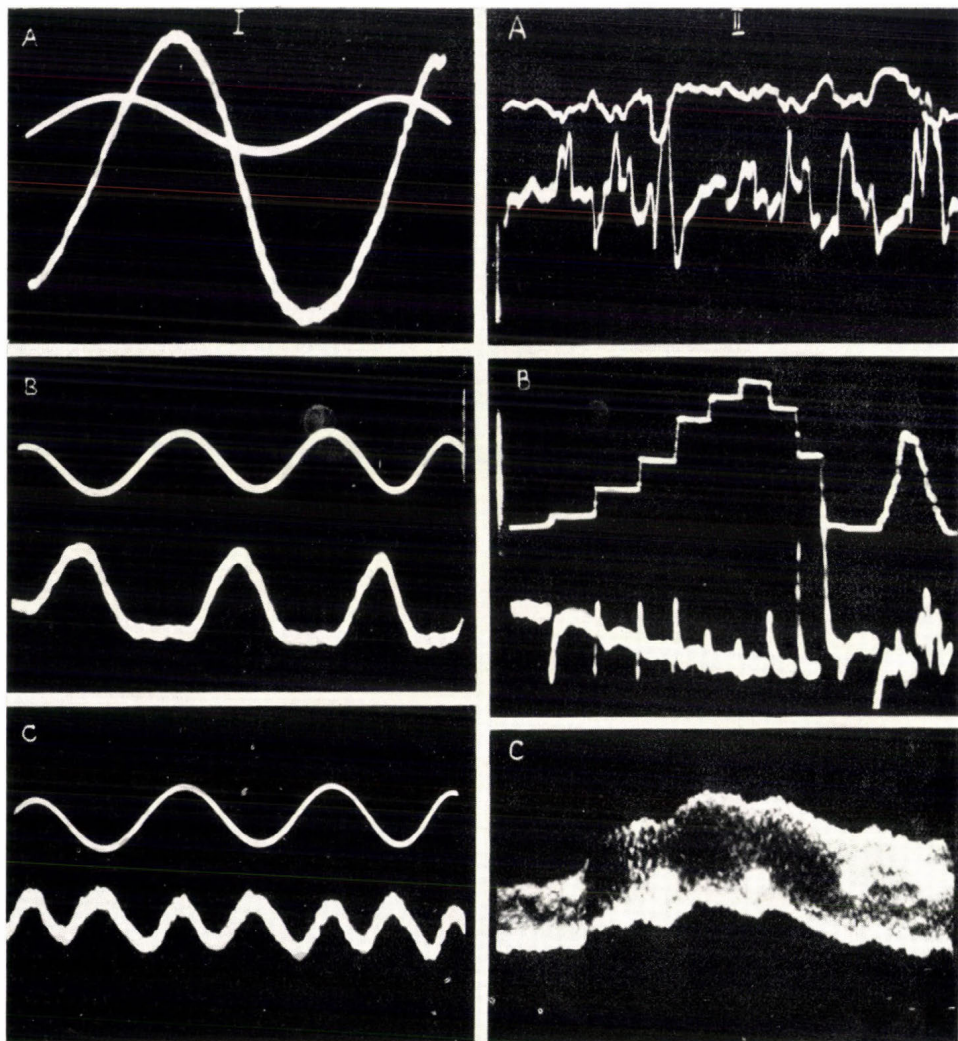
I. Klasszikus elektroretinográfia. A retina biopotenciáljai összegezett formájának regisztrálása.

Az irányzatok közül az első száz éve alakult ki. HOLMGREN, DEWAR és MCKENDRICK [41, 42, 61, 62] munkáival vette kezdetét. Ők regisztrálták először a retina fényingerléskor bekövetkező elektromos aktivitását. A retina elektrofiziológiája megszületésének évét, mégis öt évvel későbbre kell datálni, mivel HOLMGREN első munkájában [61] a regisztrált választ a n. opticus nyugalmi potenciáljának tartotta és csak öt évvel később [62] tisztázódott, hogy a mérhető potenciálingadozás a szem ideghártyájában keletkezik.

Az elektromos feszültség a retina egyes rétegeinek sejtjeiben ingerléskor bekövetkező állapotváltozással kapcsolatban keletkezik. A tömegeesen egy irányban orientált sejtek potenciáljai összegezve a közbeeső közeg ellenállási mértékétől függő nagyságban a mérőműszer elektródjai segítségével regisztrálhatók.



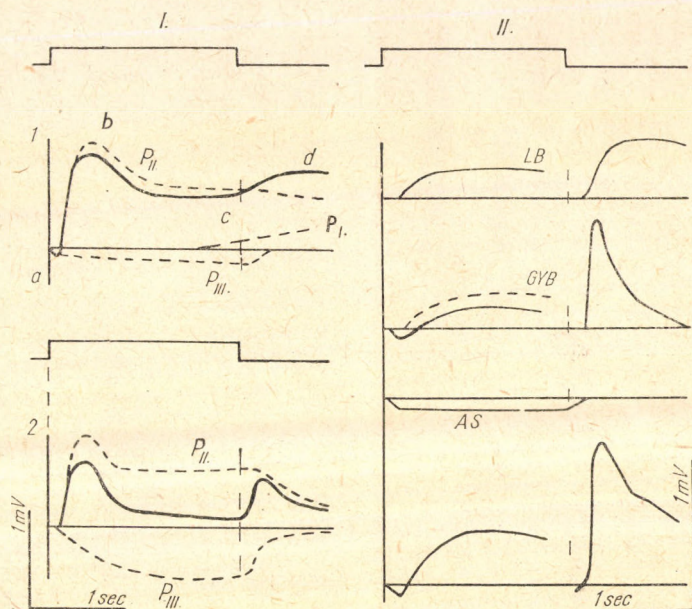
I. ábra. Az ERG formájának változása a szemet érő fényinger paramétereitől, ill. a retina funkcionális állapotától függően. Az egyes oszcillogramokon fent — fényinger; lent — elektroretinogram. I. ERG négyyszög alakú (A), háromszög alakú (B) és szinuszdális (C) egyes fényinger esetében. II. ERG periodikus négyyszög alakú 0,01 Hz (A), 0,06 Hz (B) és 2 Hz (C) fényinger esetében. (R. temporaria, izolált szemszerleg.)



2. ábra. I. ERG periodikus szinuszoidális 0,01 Hz (A), 0,08 Hz (B) és 0,5 Hz (C) fényinge esetében. II. ERG speciális fény-zaj (A), piramis alakú (B) és változó frekvenciájú 10 Hz → 3. Hz (C) fényinger esetében.

A két elektród közé helyezett retinából fényinger hatására többfázisú potenciálváltozás mutatható ki, az ún. elektoretinogram (ERG). Az ERG alakja a legkülönbözőbb lehet a szemet érő fényinger paramétereitől, ill. a retina funkcionális állapotától függően (1—2. ábra).

Az ERG alapformája a következő: A fényinger bekapcsolásának hatására a retina reakciója egy negatív-pozitív potenciálváltozásból tevődik össze, az ún. „a” és „b” hullámokból, továbbá egy lassan emelkedő pozitív potenciálból a „c” hullámból. A fényinger kikapcsolásakor a retina reakciója egy pozitív potenciálváltozás formájában regisztrálható, ez a „d” hullám (3. ábra).



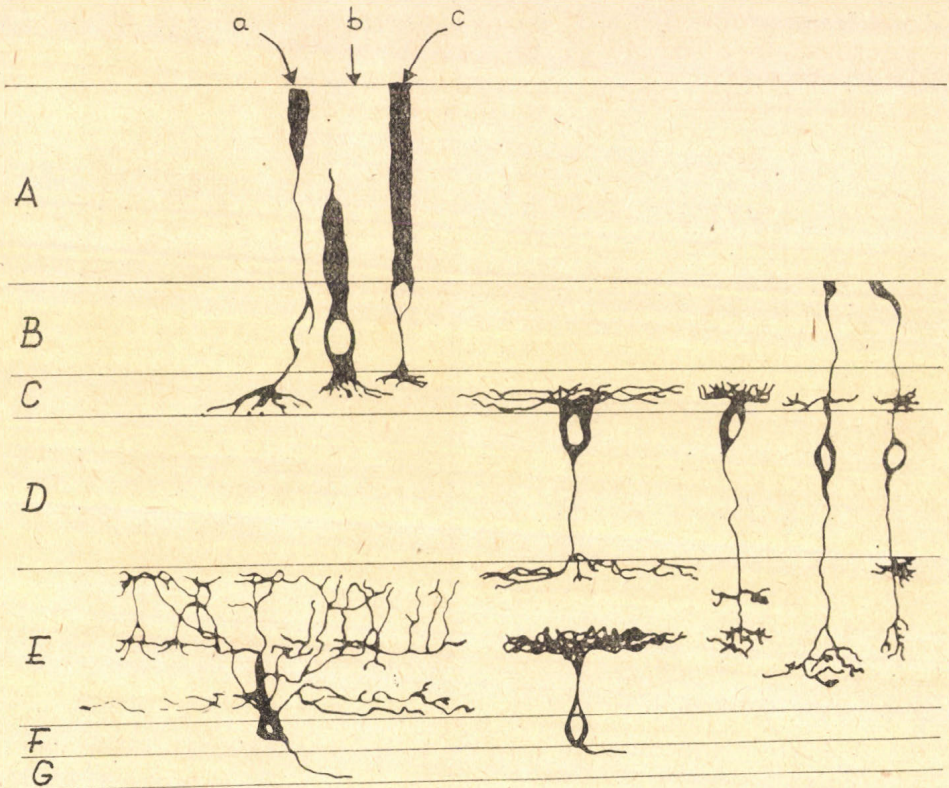
3. ábra. Az ERG összetevői. I. (GRANIT szerint) 1. Sötétadaptációs ERG — folytonos görbe (a, b, c, d hullámok). Az ERG összetevői — szaggatott vonal (P_I, P_{II}, P_{III}). Fent — fényinger jelölése. 2. Fényadaptációs ERG. II. Az ERG összetevői mikroelektrod-analízis alapján (BIZOV). LB — lassú bipoláris sejtek reakciója, GYB — gyors bipolárisok, AS — amakrinok. Lent — a vázolt összetevőkből eredő ERG.

A retina elektrofiziológiai kutatásának kezdete óta fő problémaként szerepelt ennek, a retina különféle struktúráiban keletkező összegezett formájú ERG eredetének kérdése. Az elektoretinográfia létezésének első napjaitól kezdve a kutatók igyekeztek választ kapni arra a kérdésre, hogy a regisztrált elektromos jelenség, az ERG milyen mértékben tükrözi az ideghártyának, ennek a több rétegből álló, rétegenként az idegsejtek különböző típusai által képviselt bonyolult idegképletnek a működését (4. ábra).

A szem közegei vezetik az elektromosságot, a retina passzív elektromos tulajdonságai következtében a szem felületére helyezett elektróddal (kontakt-kagylóval) jól regisztrálhatjuk a retina egyes rétegeiben bekövetkező potenciálváltozásokat. ERG felvétel meglehetősen egyszerű, klinikailag is alkalmaz-

ható kényelmes módszer. Ha sikerül a különböző retinális struktúrákból eredő, de összegeződött potenciált kifejező ERG-t alkotó összetevőire felbontani, valamint az így kapott egyes komponensek és egyes retinális struktúrák működésének megfelelését feltárni, úgy az ERG a látás, a fénypercepció megismerésének igen értékes forrásává válhat.

Az ERG eredetének kérdésére válaszolni a mikroelektród-technika megjelenéséig nem sikerült. HOLMGREN és követőinek elektródjai túlságosan nagy-



4. ábra. A retina rétegeinek sematikus ábrázolása. (LETTVIN I. Y., MATURANA H. R., PITTS W. H., McCULLOCK W. S. (1961) Two remarks on the visual system of the frog. „Sensory communication”. The MIT Press. New York, London 757—776 cikkéből). A — pálcikák és csapok, B — külső sejtréteg, C — külső fonatos réteg, D — középső sejtréteg, E — belső fonatos réteg, F — belső sejtréteg, G — látó idegrostok rétege, (a — zöld pálcika, b — csap, c — piros pálcika).

méretűek voltak. Ilyen elektródokkal a retinán belül a potenciált létrehozó struktúrát, az áram forrását nem lehetett lokalizálni.

Ettől eltekintve, a hagyományos „makro”-elektroretinográfiai irányzat a retina biopotenciáljai összegezett formájának regisztrálásával lényeges eredmények egész sorával gazdagította a tudományt.

PIPER [87, 88, 89] a századelején az állatvilág képviselői széles körében vizsgálta a retina elektromos reakcióját. Elemezte a kétélűek, a madarak, az emlősök szemeiről elvezetett biopotenciál sajátosságait és arra a következ-

tetésre jutott, hogy lényegében a retina receptorállománya határozza meg az ERG formáját.

EINTHOVEN és JOLLY [43] vizsgálták az ERG formájának és amplitúdójának a fénystimulus intenzitásától való függését.

A szem receptorsejtjei típusával kapcsolatos első elméleti szintézis GRANIT érdeme. RAMON y CAJAL S. [93], POLYAK S. L. [90] és mások hisztológiai kutatásainak eredményeire támaszkodva és ezen adatok alapján elemezve a receptorállomány szerint szélsőséges típusú állatok ERG-jét GRANIT az elektroretinográfia fent említett úttörőinek experimentális irányzatát továbbvive két alapvető — E (excitation) pálcikatípusú és I (inhibition) csaptípusú ERG létezését mutatta ki és egyben rendszerezte az ERG-nek a retina morfológiai felépítésétől függő jegyeit. Ez a „graniti” szintézis többek között azért jelentős, mert a fenti megállapításokat felhasználva az ERG formájából és e forma változásából bizonyos következtetéseket lehet levonni a vizsgált retina morfológiai felépítésére és receptorösszetételére vonatkozóan, anélkül, hogy morfológiai természetű vizsgálatokat végeznénk.

Ezt követően a leíró analízis részletezése folyt. Nagymennyiségű adat gyűlt össze, melyek pontosabbá tették az ERG leíró jellegű jegyeit. Kutatások sora [3, 7, 26, 37, 94] kimutatta, hogy az ERG „a” hullámát fel lehet bontani lassú (pálcikaeredetű) és gyors (csapereredetű) komponensekre.

Japán kutatók, MOTOKAWA és MITA [77] az emberi ERG-ben egy kezdeti „b” hullám, az ún. „x” hullám jelenlétét mutatták ki. ADRIAN 1945-ben demonstrálta az ERG „b” hullámának — a fénystimulus hullámhosszától függő — szétválaszthatóságát az ún. gyors (vörös) és lassú (kék) komponensre [2]. A „b” hullám többkomponens természetének a legapróbb részletekbe menő vizsgálatát GRANIT és MUNSTERHJELM [49], ARMINGTON [3, 4], SCHUBERT és BORNSCHEIN [95] és mások végezték el.

A „c” hullám esetében az ismert on-effektusként bekapcsoláskor keletkező lassan kifejlődő pozitív potenciál-ingadozás (azaz „c” hullám) mellett NOELL egy lényegében új jelenséget írt le: az off kikapcsolási effektusként fellépő, szintén lassú lefolyású — a „c” hullám tükörképéhez hasonló — negatív potenciálváltozást [83]. Ezen lassú negatív potenciálváltozásról részletes adatokat VORONYIN és TÓTH munkái [105, 107, 108] tartalmaznak.

A „d” hullám (off-effektus) szintén szétbontható lassú és gyors komponensekre [49].

Az összegezett retinális biopotenciálok regisztrálásának módszerével jó eredményeket értek el a szem adaptációs képességének kutatása terén. Az elektroretinográfia elért eredményeit felhasználva kutatók részletesen foglalkoztak a fény- és sötétadaptációs folyamatok kölcsönviszonyának elemzésével különféle állatok retinái esetében.

PIPER munkáival kezdődött el [87, 88, 89] a retina spektrális érzékenységi elmozdulásának (Purkinje shift) vizsgálata. Még korábban KÖNIG [65] kimutatta, hogy a béka látóbíborának elnyelési görbéje igen jól egyezik sötétadaptált (szkotopikus) emberi szem érzékenységének görbéjével. KOHLRAUSCH [64] megállapította, hogy a gerinceseknél a sötétadaptációs görbe két szakaszból a kezdeti szakasz a csapok érzékenységének változását tükrözi. Az ezzel kapcsolatban végzett elektrofiziológiai kísérletek bővítették ismereteinket a fényintenzitás érzékelésének, a látópigmentek szerepének, az adaptáció idegi mechanizmusai és a színlátás kérdéseiben.

Az elektroretinográfia sokban gazdagította a recepció pszichofiziológiáját, többek között a retina reakciójának az inger intenzitásától való függésére vonatkozóan [45, 52, 26], továbbá a szórt fény jelentőségére — [63], az ingererősség növekedési meredekségének, a minimális meredekségi fok szerepére — [76], az ideghártya megvilágításának (az ERG kiváltásához szükséges) minimális receptorterületére — [111], az összeolvadási frekvencia természetére — [52, 67, 68, 92], a villogó fény érzékelésénél a periodikus inger és az alapmegvilágítás kölcsönviszonyára — stb. vonatkozóan.

Értekes adatokat nyertek receptorok elsődleges ingerületi és gátlási folyamatairól. FRÖHLICH [44, 45] az *Eledone moschata* szemében a receptorsejtek tartós depolarizációs generátorpotenciálját írta le. GRANIT és THERMAN [50] a hiperpolarizáció folyamatát elemezték a retinával kapcsolatban.

E rövid felsorolásból is látható, hogy ezen új elektrofiziológiai irányzat gazdag, — a látás fiziológiájának tárgykörébe tartozó — anyagot gyűjtött össze. Látható azonban az is, hogy ebben az időszakban még nem volt képes feleletet adni az ERG pontos eredetének kérdésére. Ez irányban igen lényeges lépést jelentett a fenomenális potenciálforma (összegezett ERG) változása vizsgálatának farmakológiai — a retina egyes idegstruktúráit gátló, avagy teljesen kikapcsoló — anyagok alkalmazásának módszerével való kiegészítése [83]. Talán ezt a lépést lehetne az elektroretinográfiában a szemléleti, leíró megismerési fokról az aktív, a fiziológiai folyamatok lefolyásába való beavatkozás útján történő megismerési fokra való áttérésként jellemezni.

Nagyrészt ezzel a módszerrel nyert adatok, továbbá az elektroretinográfiában már felhamozódott gazdag, széleskörű kísérleti anyag általánosítása vezettek el GRANIT komponens analíziséhez [48].

GRANIT az ERG hullámait P_1 , P_{II} és P_{III} komponensekből vezeti le. E komponensek segítségével igyekeznek kifejezni azokat a mechanizmusokat, amelyek meghatározott feltételek mellett létrehozzák az ERG hullámait.

GRANIT sémája szerint (3. ábra) a corneanegatív „a” hullám a P_{III} komponens kezdete. Ezt felváltja egy corneapozitív P_{II} komponens, ami a „b” hullámot hozza létre. A P_1 komponens adja a „c” hullámot. A P_{II} és P_{III} komponensek változásának összegeként keletkezik a „d” hullám a fény kikapcsolásakor. „Az elektroretinogram ezen általános elmélete szerint — írja GRANIT — pálcika és csaprendszerek feltehetően egyugyanazon komponensekkel rendelkeznek, ezek viszonylagos nagysága viszont erősen variálódhat a különböző állatoknál” (53, 161. old.).

A lassú P_1 komponens a sötétadaptált szemre jellemző. Éterre igen érzékeny és teljesen legátlódik. Viszont adrenalin és nátrium-azid felerősíti. GRANIT és NOELL adatai szerint a P_1 a receptorsejtek külső tagjainak az epithelium pigmentosummal való érintkezési területén keletkezik. Feltehetően ezek szerint a P_1 a festékes hámon keresztüli aktív ion átvitel dinamikáját tükrözi. NOELL igen lényeges P_1 formának tartja a fénykikapcsoláskor keletkező lassú — a P_1 paramétereivel egyező de ellenkező előjelű — corneanegatív potenciált [83].

A P_{II} komponens természetének és keletkezésének kérdésével később, BIZOV munkáival kapcsolatban fogunk foglalkozni.

A P_{III} komponens viszonylag erőteljesebben kifejezett a csap-receptorokat tartalmazó szemben, jóllehet jelen van a pálcikákat tartalmazó retinában is. THERMAN megállapította, hogy sötétadaptáció során a retinabíbor spektrumgörbéje egyezik a P_{III} érzékenységet leíró görbével. Depolarizáló

ágensek, amelyek a P_{III} kezdeti negatív fázisát növelik, azt bizonyítják, hogy a P_{III} a depolarizáció folyamatával kapcsolatban van. GRANIT komponens elmélete szerint a P_{III} két különböző, de egyforma elektromos polaritású folyamatot tükröz és feltehetően e két alkotórész különböző struktúrák terméke. Az összegezett formájú ERG-ből a P_{III} -at ki lehet emelni 1–2%-os kálium-klorid vagy dicain (tetracain) oldat, továbbá karbamid, asphyxia, anoxia, mélyhűtés stb. segítségével. Fényadaptált retinánál kisintenzitású (2 lux) inger alkalmazva az összegezett ERG-ből csak a P_{III} komponens marad meg. A P_{III} amplitúdója széles határok között arányos a stimulus intenzitásának logaritmusával. Időállandója az inger intenzitásának növekedésével arányosan csökken. Polarizáló áram viszonylag kis mértékben hat a P_{III} -ra.

Nátriumjodát károsítja az epithelium pigmentosumot és a receptor-sejtek külső tagjainak degenerációját váltja ki. Hatására a P_{III} kezdeti gyors összetevője kissé csökken, a lassú alkotórész pedig ellenkezőleg erősen növekszik. Az utóbbi változást valószínűleg a P_{III} -mal ellenhatású P_I komponens megszűnése eredményezi. A P_{III} lassú összetevője — NOEL szerint — az ionok passzív átvitelével kapcsolatos, és a szöbanforgó esetben a festékhám membrán-funkciója sérülésekor a permeabilitás abnormálisan felfokozódik.

A P_{III} gyors összetevője — a fent említett vizsgálati adatok szerint — valahol a receptor-sejtek közelében keletkezik.

GRANIT komponens analízise, jóllehet az idők során az elektroretinográfia klasszikus elméletévé vált, a struktúra és funkció összefüggése kérdésében csak közvetett bizonyítékokkal rendelkezik és tulajdonképpen — ahogy ezt már említettük — az ERG eredetének egyértelmű experimentális bizonyítása továbbra is központi kérdés maradt.

Erre vonatkozóan a közvetlen bizonyítékokat jelentő kísérleti tényanyagot a mikroelektródos irányszat lett hivatott szolgáltatni.

II. Mikroelektródos Elektroretinográfia.

A bevezetőben szó volt arról, hogy a retina elektromos vezető közeg és amikor felületéről elektróddal a különböző struktúrák által generált potenciálokat elvezetjük, a retina a summator szerepét játssza. A struktúra és funkció kérdésében ezen összegezett biopotenciál regisztrálásával szemben összehasonlíthatatlan előnnyel rendelkezik a mikroelektródos módszer, amikor is magából a retina rétegeiből, közvetlenül a kérdéses struktúrából vezetjük el a struktúra (avagy szomszédos struktúrák) által keltett áramot.

A mikroelektródos elektroretinográfia megteremtői között elsősorban ADRIAN, MATTHEWS, HARTLINE, GRAHAM, GRANIT és SVAETICHIN munkásságát kell megemlíteni. Az ERG-ban a mikroelektródos irányszat kialakulásának bizonyos elvi és technikai előfeltételei voltak.

1927-ben, felhasználva a tökéletesített és széles sávval rendelkező elektronikus erősítő és regisztráló berendezéseket ADRIAN-nak és MATTHEWS-nek sikerült először [1] tengeri angolna látóidegéből impulzusokat regisztrálni és megvizsgálni az összegezett ERG és az idegrostok aktivitása közötti korrelációt.

Az ideghártya kutatásának másik nagy eseménye volt, amikor HARTLINE-nek és GRAHAM-nak [57] majd később HARTLINE-nek [58] mikrodisszekció

segítségével sikerült egyetlen látóideg rostot elkülöníteni és ennek aktivitását regisztrálni. Az ERG szempontjából e történelmi jelentőségű munka a *Limulus* egyszerű szemének aktivitás-analízisével foglalkozott. A következő kísérlet már az ERG klasszikus objektumán, kétéltűn lett végrehajtva, és HARTLINE békaretinán fedezte fel az „on” (bekapcsolási) és „off” (kikapcsolási) elemeket [59]. Ugyancsak HARTLINE alkotta meg a „receptív mező” fogalmát az ideghártya azon meghatározott terület nagysága megjelölésére, amelynek megvilágítása egyetlen látósejt kisüléseit váltja ki. E fogalmat KUFFLER fejlesztette tovább [66].

Békaretina látósejt spike-aktivitás fémmikroelektród segítségével történő regisztrációja először HARTLINE [59], GRANIT és SVAETICHIN [51] vizsgálataiban szerepelt.

Az ideghártya modern üveg-mikroelektródos vizsgálati technikája GRAHAM és GERARD [47] munkáival veszi kezdetét. Lokális elvezetés céljaira ők dolgozták ki a nem polarizálódó üveg mikropipetta alkalmazásának módszerét.

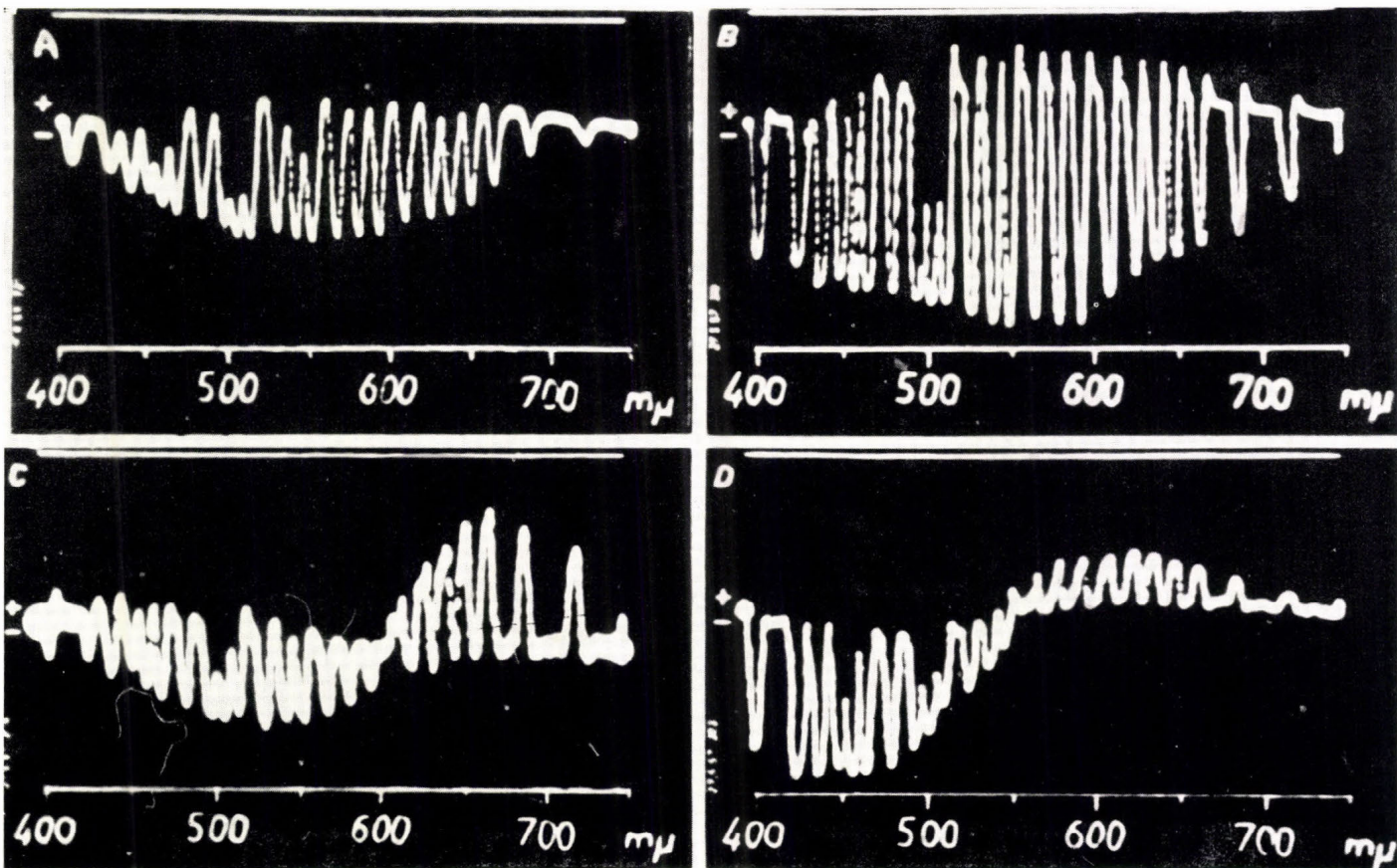
A mikroelektródos irányzat kísérleti kutatómunkája a kezdeti ragyogó sikerek után a továbbiakban nagy nehézségekbe ütközött [69, 82]. A kutatás eddigi klasszikus objektuma, a békaretina, amellyel a felhalmozott ismeretanyag döntő többsége volt kapcsolatos, igen kisméretű idegsejtjei miatt, nem volt alkalmas mikroelektródos kutatások céljaira. A kísérleteket más, megfelelőbb objektumokon kezdték folytatni. Igen hálásnak bizonyult a HARTLINE munkáiban említett *Limulus*. A továbbiakban ezen az objektumon nyerték a fotorecepció természetét érintő alapvető adatokat: a fénykvantum elnyelési körülményeivel, azon fotokémiai reakcióval kapcsolatban, mely a receptorsejt generátorpotenciáljának keletkezését idézi elő; továbbá a receptorsejtek lokális depolarizációjára és az idegimpulzusok keletkezésére vonatkozó adatokat [81].

A *Limulus* szemén demonstrálták a depolarizáció szintje és az idegimpulzusok frekvenciája közötti összefüggést; a generátorpotenciál karakterisztikája és az összeolvadási frekvencia (fusion frequency) kapcsolatát; a megvilágítás tartama és intenzitása egymást helyettesíthető voltát; a horizontális kölcsönhatás, a szomszédos receptorsejtek kölcsönös gátlásának jelenségét stb.

Másik igen alkalmas objektumnak a hal retinája bizonyult. Itt az idegsejtek sokkal nagyobb méretűek a kétéltűek idegsejtjeinél és ezért alkalmasabbak intracelluláris elvezetés céljaira. Történelmi érdem ezen a területen mindenekelőtt SVAETICHIN munkásságához fűződik.

Mélytengeri hal (*Bream* sp.) retinájában levő idegsejtek elektromos aktivitását intracelluláris elvezetés módszerével vizsgálva, SVAETICHIN különböző hullámhosszú fényingert alkalmazott [97]. A retina rétegeiből mikroelektróddal elvezetett reakció nem impulzusaktivitás, hanem graduális negatív potenciálváltozás formájában jelentkezett. Ez az adat abban az időben (1953) meglepetésnek számított nemcsak az elektroretinográfiában, hanem általában az idegsejt elektrofiziológiájában.

SVAETICHIN adatai két igen fontos problémát tűztek napirendre, melyek mind a mai napig a retina elektrofiziológiai kutatásának elsőrendű fontosságú területei közé tartoznak. Az egyik ezek közül a receptorsejtek elektromos potenciáljával kapcsolatos. SVAETICHIN úgy vélte, hogy az általa regisztrált graduális potenciál a receptorsejtekből származik. Későbbi saját és McNICHOLLAL végzett kísérletei [71, 72, 98] azt mutatták, hogy a szóbanforgó potenciál forrása nem a receptor, hanem a középső sejtréteg (a bipoláris és horizontális sejtek rétege) volt.



5. ábra. Csaprendszerhez tartozó horizontális és bipoláris sejtek reakcióinak SVAETICHIN-féle típusai (MACNICHOL, SVAETICHIN, 72). A és B oszcillogram az L-típusú választ ábrázolja. C a Y—B típusú, D a R—G típusú válaszokat. (További magyarázat a szövegben).

Itt jegyezzük meg, hogy a gerinces retinareceptorsejtek potenciáljának problémája azóta is vita tárgyát képezi. Számos kísérleti adat szól a receptorpotenciál létezése mellett és ellene. Újabban BORTOFF [27] és TOMITA [105] közöltek intracellulárisan regisztrált receptorpotenciálról adatokat. BIZOV [25] véleménye szerint az ingerületvezetés mechanizmusa más az ideg-, ill. a receptorsejtekben és az említett szerzők által regisztrált potenciálok nem receptoreredetűek, hanem másodlagosak, idegsejtekből — a retina passzív elektromos tulajdonságai folytán — tovaterjedt postsynaptikus jellegűek.

A másik SVAETICHIN adatai által feltárt probléma az idegsejtek működési módjával kapcsolatos. Az idegsejt elektrofiziológiában sokáig vita tárgyát képezte az a kérdés, hogy neuron működhet-e a „minden vagy semmi” szabálytól eltérően, vagyis nem impulzus aktivitást, hanem folyamatos graduális potenciálváltozást mutatva. Ismeretes, hogy idegsejtekből gyors impulzusaktivitás és lassú folyamatos potenciálváltozás regisztrálható. A SVAETICHIN-féle ún. S potenciál (hyperpolarizáció a megvilágítás tartama alatt) formájában reagáló sejtek azonban a „minden vagy semmi” törvénynek ellentmondóan nem rendelkeznek impulzus aktivitással! SVAETICHIN és GERSCHENFELD „neuroglialis szabályozás” koncepciója szerint az ilyen típusú sejtek gliális elemek.

Egyre növekszik azonban azon vizsgálati adatoknak a száma, amelyek azt bizonyítják, hogy az opticus (ill. DOCEL) sejteken kívül a retina neuronjai nem mutatnak impulzus aktivitást [24]. Információ feldolgozás és jeltovábbítással kapcsolatos elméleti megfontolásokat figyelembe véve, ez a körülmény a következőképpen magyarázható: bipoláris sejtektől ganglion sejtekig, vagyis igen rövid (50–100 μ) távolságra történő jeltovábbítás esetében szükségtelen a digitális elven szervezett szignalizáció, és egyszersmind így elkerülhető a folyamatos jel-, postsynaptikus potenciál diszkrét, impulzus formájú jellé való átalakításának, valamint ennek ismét folyamatos jellé való visszaalakításának munkája. A neuron ezt a helyzetet felhasználva specializálódhat az információ feldolgozás feladatára és egészében egy analóg gép mintájára épülhet fel, ill. működhet. Ezt alátámasztó több hisztológiai adat [15, 40, 73, 91, 96] utal a retina sejtállomány bámultatos specializáltságára. Nyúl, tengerimalac, galamb, béka stb. retina receptorsejtjeinek synapsisai például mitochondrium nélküliek és LASANSKY [70] a Müllersejtek mitochondriuma és receptorsejtek között metabolikus természetű transzcelluláris kapcsolatot figyelt meg. Különböző a retina két synaptikus rétegének biokémiai mechanizmusa és eltérő a két réteg fiziológiája. Feltehetően a neuronoknak csak ilyen egyedülálló specializációja mellett lehetséges az az igen magasfokú információ feldolgozási szint, ami a retina kimenetét (n. opticus) jellemzi.

Térjünk azonban vissza SVAETICHIN vizsgálataihoz. Folytatva a hal retináján az idegsejtek intracelluláris reakciójelleg — fénystimulus hullámhosszától való — függésének tanulmányozását, SVAETICHIN-nek a sekélyvízi halon (*Mugil* sp.) sikerült meghatároznia [98] a retina csaprendszer reakciójának alapvető típusait (5. ábra).

Az első választípus az ún. L (luminosity) típus, amelyet széles negatív, hyperpolarizációs maximum jellemez a látható spektrum középrészén.

A második a Y—B (yellow-blue) típus, amely pozitív, depolarizációs potenciálmaximumot mutat 600 $m\mu$ körüli tartományban és negatív, hyperpolarizációs maximumot a 450 $m\mu$ körüli tartományban.

A harmadik R—G (red-green) típus pozitív maximummal rendelkezik a 650 $m\mu$ körül és negatív maximummal 490 $m\mu$ körül.

SVAETICIHIN megfigyeléseinek általánosan érvényes jellegét megerősíteték MITARAI és JACASAKI [75]; valamint MOTOKAWA halon [78]; MOTOKAWA, OIKAWA és TASAKI halon és macskán [79]; TOMITA halon [101, 102]; GRÜSSER macskán [54]; BROWN és WIESEL macskán [30] végzett vizsgálatai.

Hisztológiai adatok [71, 72] szerint az *L* típusú választ a halretina óriás horizontális sejtjei generálják. Az ismertetett reakciók további típusai a bipoláris sejtek működését tükrözi. Az idézett szerzők megjegyzik, hogy a bipoláris sejtek válaszait szelektív színadaptációval két komponensre lehet felbontani.

Az *L*-válasz feltehetően olyan sejt postsynaptikus potenciálja, amelynek csak ingerületi synaptikus végződése van. Ugyanakkor a bipoláris sejtek válasza ingerületi és gátlási postsynaptikus potenciálból áll. A bipoláris sejtek válaszainak adaptációs szétválaszthatósága arról tanúskodik, hogy ezen sejtek különböző spektrumérzékenységu csap receptorsejteket tartalmazó funkcionális rendszerhez tartoznak.

A kétéltűek ERG eredetének vizsgálatát TOMITA [99], TOMITA és FUNAISU [100], OTTOSON és SVAETICHIN [85], BARLOW [6], BRINDLEY [28] és GOURAS [46] folytatták. E területen az elektrofiziológiát lényegesen gazdagították BIZOV munkái [8–25].

BIZOV és munkatársainak vizsgálatai lényegében megadták ezen évszázados probléma megoldását. Az alábbiakban BIZOV laboratóriumának a kétéltűek ERG analízisével kapcsolatos munkáira fogunk kitérni. BIZOV a retina labilitásával foglalkozó korai munkáiban [8–11] az összegezett ERG és egyedi ganglion sejtek impulzus aktivitásának, valamint a látóideg-rostok aktivitásának egyidejű regisztrálása útján kimutatta, hogy a fénystimuláció folyamán a retina elemeinek funkcionális átépülése megy végbe, vagyis a retina labilitása szakadatlanul folyamatosan maga a fényinger által szabályozódik.

E folyamatban vezető szerepet játszanak a kikapcsolási (off) elemek. Tőlük függ például, a kritikus összeolvadási frekvencia (fusion frequency). A labilitás átmeneti fokozódása következik be a villogó fény intenzitásának csökkenésekor, ugyancsak a periodikus fényvel együtt adott alapmegvilágítás csökkenése avagy kikapcsolása esetében, továbbá a frekvencia hirtelen csökkenésekor [11]. BIZOV különös részletességgel a középső sejtréteget tanulmányozta, leírta a DOGEL sejtek sajátosságait és a bipoláris sejtek elektromos jellemzőit [14]. A retina különböző rétegei pontos elektromos ellenállásértékeinek meghatározásával kapcsolatos munkái lehetővé tették az egyes rétegekben keletkezett áram valódi értékeinek kiszámítását [12].

BIZOV a retina réteganalízise során vizsgálta a mélység szerint egymásra következő pontok elektromos potenciálnagyságainak különbségét és ily módon az egyes rétegekben meg tudta határozni az áram forrását. A kapott eredmények azt mutatták, hogy az ERG (ennek P_{II} komponensét) generáló alapvető struktúrákhoz a bipoláris sejtek két típusa tartozik, amelyeket funkcionális jellegük szerint BIZOV „lassú” és „gyors” bipoláris sejteknek nevezett el. A kisebb labilitású (lassú) bipoláris sejtek a középső sejtréteg belső zónájában, a magas labilitású (gyors) bipoláris sejtek a retina középső sejtréteg külső zónájában helyezkednek el.

A belső zóna bipolárisai mind a fényinger bekapcsolására, mind a kikapcsolására tartós ingerülettel, depolarizációs potenciállal reagálnak. A külső zóna bipolárisai a fényinger kikapcsolásra gyors magas amplitúdójú ingerület formájában (depolarizációval) reagálnak és legatlódnak a fényinger bekapcsolás

lásakor (hyperpolarizáció). A retina középső sejtrétege sejtjeinek ezen különbsége eredményezi azt, hogy villogó fényingerkor a ritmikus reakció 3 Hz-nél magasabb gyakoriság esetében csak a külső zóna sejtjeinél regisztrálható [14].

Ezt a tényt UTYINA [109, 110] megerősítette a középső sejtréteg sejtjei ribonukleinsav tartalom mennyiségi meghatározása során kapott adatokkal. Ritka villódzás esetén az RNS tartalom mennyisége a középső sejtréteg mindkét zónájában növekszik. Gyakori villódzás esetében viszont, amikor elektrofiziológiai adatok szerint már csak a „gyors” bipoláris sejtek funkcionálnak, RNS felhalmozódást csak a külső zónában lehetett kimutatni.

A mikroelektrodos irányzat sokban gazdagította a klasszikus grániti analízis P_{III} komponenséről szóló ismereteinket is. BIZOV ezzel kapcsolatos vizsgálataiban [22, 23] kimutatta, hogy a P_{III} , mint ahogy erre az összegezett ERG és farmakológiai analízis adatai utaltak, valóban összetett potenciál. Eredője azon legkorábbi postsynaptikus potenciáloknak, amelyek a csapok és pácikák ingerületek keletkeznek.

P_{III} arányos a pácikák és a csapok külön-külön vett sugárspektrum intenzitásának logaritmikus összegével. A pácikák és csapok közötti kölcsönhatás a P_{III} -mal kapcsolatban nyert adatok szerint egyoldalú. Kizárólag a pácika-reakció egyoldalú, a csapokra gyakorolt gátló hatása figyelhető meg.

Az ERG P_{III} komponense a mikroelektrodos analízis adatai szerint a külső synaptikus rétegben és a középső sejtréteg külső zónájában keletkezik. A P_{III} szubsztrátumai, minden bizonnyal, a horizontális sejtek.

BIZOV fent felsorolt adatai jól összeegyeztethetők TOMITA és HASHIMOTO vizsgálatainak [60, 103] eredményeivel. BRINDLEY az utóbbi időben [29], előző felfogásával ellentétben [28], az ERG alapvető forrásának szintén a bipoláris sejteket tartja.

BIZOV egyik legújabb keletű munkájában kimutatta [24], hogy a retina idegsejtek intracelluláris elektrofiziológiai vizsgálatának eredményei jól összeegyeztethetők a réteganalízis adataival.

BIZOV és HANITZSCH a béka és axolotl retinájának meghatározott mélységein regisztrálni tudták a DOGEL sejtek aktivitását és a „lassú” bipoláris sejtek működési potenciáljait. A sejtenbelüli elvezetés igen jól reprodukálta ezen utóbbi sejtek jellegzetes, előzetesen a réteganalízis során már leírt, egyfázisos válaszát a fényinger be- és kikapcsolásakor. Periodikus fényre — az intracelluláris adatok szerint is — ezen sejtek csak 2–3 Hz-ig reagáltak.

A réteganalízis útján megállapított mélységben, a sejtenbelüli elvezetés esetében is valóban megjelentek az ún. „gyors” bipoláris sejtek tipikus kétfázisos reakciói. A jellemző tulajdonságok szempontjából (mint pl: a ritmusfelvétel, az off reakció amplitúdójának függése az előzetes megvilágítás idejétől, stb.) az intracelluláris adatok pontosan egyeznek a korábban, a réteganalízis során extracellulárisan nyert eredményekkel.

A funkcionális állapotváltozás, a labilitás változásának kérdéseivel kapcsolatban a „gyors” bipoláris sejtek intracelluláris analízise teljes mértékben megerősíti azokat a következtetéseket, amit BIZOV már egy évtizede levont.

BIZOV ezen legújabb vizsgálataiban igen érdekes adatot nyert a horizontális sejtek reakció formájának alapmegvilágítástól függő változékonyságára vonatkozóan. Alapmegvilágítás nélkül periódikus fényre ezek a sejtek tipikus L (SVAETICHIN szerinti) reakcióval válaszolnak. Alapmegvilágítással kombinált periódikus fényre reakciójuk a gyors bipoláris sejtek tipikus válaszformáját veszi fel.

Jelenleg e problémával még, emberi izolált retinával kapcsolatban HANITZSCH, BIZOV és DETTMAR [55, 56], békaretinán MÜLLER—LIMPROTH [80], DEMIRSOGLJAN [38, 39], PECKHAM és HART [86]; macska és majomretinán OGAWA, BISOP és LEVICK, ill. BROWN és munkatársai [30—35, 84]; galambretinán TRIFONOV [106]; a rovarok szemén pedig MAZOHIN—PORSNYAKOV [74] foglalkoznak.

A retina élettanának elektrofiziológiai módszerrel történő kutatása terén egy újabb fontos irányzat keletkezett a neurokibernetika és bionika kialakulásával. Bár még igen fiatal, máris értékes munkák sorával tűnik ki és bebizonyította rendkívül perspektivikus voltát a retina fiziológiai kutatása terén. Az elektroretinográfia ezen harmadik alapvető irányzatával e cikk folytatásában fogunk foglalkozni.

IRODALOM

1. ADRIAN E. D., MATTHEWS R. — (1928) The action of light on the eye. The interaction of retinal neurones. *J. Physiol.*, **65**, 273—298.
2. ADRIAN E. D. — (1946) Rod and cone components in the electric response of the eye. *J. Physiol.*, **105**, 24—37.
3. ARMINGTON J. C., JOHNSON E. P., RIGGS L. A. — (1952) The scotopic A-wave in the electrical response of the human retina. *J. Physiol.*, **118**, 289—298.
4. ARMINGTON J. C. — (1953) Electrical responses of the light adapted eye. *J. opt. Soc. Amer.*, **43**, 450—456.
5. ÁBRAHÁM A. — (1960) Adalékok a retina szerkezetének ismeretéhez, tekintettel az idegsejtek rétegére és központi kapcsolatokra. *MTA Biol. orv. Tud. Oszt. Közl.* **11**, 211—238.
6. BARLOW H. B. — (1953) Action potentials from the frog's retina. *J. Physiol.*, **119**, 58—68.
7. BEST W. — (1953) Das menschliche Elektroretinogramm während der Dunkeladaptation. *Acta ophthalm. Copenhagen*, **31**, 95—116.
8. БЫЗОВ А. Л. — (1955) Физиологическая лабильность сетчатки лягушки. *Физиол. Журн. СССР* т. 41 № 3, 363—372.
9. БЫЗОВ А. Л. — (1956) Лабильность одиночных функциональных элементов некоторых млекопитающих. *Физиол. Журн. СССР*, т. 42 № 12, 1011—1019.
10. БЫЗОВ А. Л. — (1957) К методике микроэлектродного отведения потенциалов действия одиночных ганглиозных клеток сетчатки. *Биофизика* **2**, 252—258.
11. БЫЗОВ А. Л. — (1958) Физиологическая лабильность сетчатки и ее элементов, *Проблемы Физиологич. оптики* т. 12, 359—366.
12. БЫЗОВ А. Л. — (1958) Сопротивленные и емкость разных слоев сетчатки. *Биофизика* **3** 658—670.
13. БЫЗОВ А. Л. — (1959) Об источнике импульсов, отводимых из внутренних слоев сетчатки лягушки. *Биофизика* **4**, 417—422.
14. БЫЗОВ А. Л. — (1959) Анализ распределения потенциалов и токов внутри сетчатки при световом раздражении. *Биофизика* **4**, 689—701.
15. БЫЗОВ А. Л., УТИНА И. А. — (1959) Движение ядер палочек сетчатки лягушки и место возникновения ЭРГ. *Биофизика* **4**, 187—197.
16. БЫЗОВ А. Л. — (1960) Анализ распределения потенциалов и токов внутри сетчатки при световом раздражении. II. Пассивное распределение потенциалов и токов в сетчатке как объемном проводнике. *Биофизика* **5**, 284—292.
17. БЫЗОВ А. Л., ЧЕРНЫШЕВ В. И. — (1961) Автомат для изготовления микроэлектродов. *Биофизика* **6** 485—489.
18. БЫЗОВ А. Л. — (1961) О природе R-мембраны в сетчатке лягушки. *Биофизика* **6**, № 5, 620—623.
19. БЫЗОВ А. Л. — Электрофизиология нейронов сетчатки. В сб. «Основные вопросы электрофизиологии центральной нервной системы» 29—40. Изд. АН УССР. Киев, 1962.
20. БЫЗОВ А. Л., ОРЛОВ О. Ю. — (1962) Источники электроретинограммы головоногих. *Физиол. Журн. СССР*, т. 48 № 1, 16—23.
21. БЫЗОВ А. Л., ОРЛОВ О. Ю., УТИНА А. И. — (1962) Исследование по адаптации на глазе головоногих моллюсков. *Биофизика* **7** 318—327.

22. Бызов А. Л. — (1963) Происхождение и некоторые свойства компонента Р III электроретинограммы лягушки. *Физи. Журн. СССР* т. 49, № 4, 440—448.
23. Бызов А. Л., Орлов О. Ю. — (1963) О взаимодействии палочковых и колбочковых сигналов в компоненте Р III электроретинограммы лягушки. *Физиол. журн. СССР* т. 49, № 7, 806—811.
24. Бызов А. Л., Ханич Р. — (1966) Внутриклеточное отведение реакции различных клеток лягушки и оксолотля. *Физиологич. Журнал* 52, № 3, 250—258.
25. Бызов А. Л. — Электрофизиологические исследования сетчатки. Изд. Наука. 1966.
26. BORNSCHNEIN H. — (1953) Der Einfluss von Adaptationszustand und Reizintensität auf die Komponenten des menschlichen Electroretinogramms. *Z. Biol.*, 105, 454—463.
27. BORTOFF A., NORTON A. L. — (1965) Positive and negative potential responses associated with vertebrate photoreceptor cells. *Nature*, 206, 626—627.
28. BRINDLEY G. S. — (1956) Responses to illumination recorded by microelectrodes from the frog's retina. *J. Physiol.*, 134, 360.
29. BRINDLEY G. S. — Physiology of the retina and visual pathway. London. 1960.
30. BROWN K. T., WIESEL T. N. — (1958) Intraretinal recording in the unopened cat eye. *Amer. J. Ophthalm.*, 46, pt 2, 91—99.
31. BROWN K. T., WIESEL T. N. — (1961) Analysis of the intraretinal electroretinogram in the intact cat eye. *J. Physiol.*, 158, 229—256.
32. BROWN K. T., WIESEL T. N. — (1961) Localisation of origins of electroretinogram components by intraretinal recording in the intact cat eye. *J. Physiol.*, 158, (x) 257-280.
33. BROWN K. T., TASAKI K. — (1961) Localisation of electrical activity in the cat retina by an electrode marking method. *J. Physiol.*, 158, (2), 281—295.
34. BROWN K. T., WATANABE K. — (1962) Isolation and identification of a receptor potential from the pure cone fovea of the monkey retina. *Nature*, 193, N 4819, 958—960.
35. BROWN K. T., WATANABE K. — (1962) Rod receptor potential from the retina of the night monkey. *Nature*, 196, N 4854, 547—550.
36. BRUESCH S. R., AREY L. B. (1942) The number of myelinated and unmyelinated fibers in the optic nerve vertebrates. *J. Comp. Neurol.* 77, 631—665.
37. COBB W., MORTON H. B. — (1952) The human retinogram in response to high-intensity flashes. *EEG Clin. Neurophysiol.*, 4, 547—556.
38. Демирчоглян Г. Г. — (1961) О механизме происхождения ЭРГ. *Биофизика*, 6 249—252.
39. Демирчоглян Г. Г. — Физиология и патология сетчатки глаза. Изд. «Медицина», Москва, 1964.
40. DE ROBERTIS E. — Histophysiology of Synapses and Neurosecretion. Pergamon Press. 1964
41. DEWAR J., M'KENDRICK J. G. — (1873) On the physiological action of light. *J. Anat. Physiol.*, 7, 275—282.
42. DEWAR J., M'KENDRICK J. G. — (1873) On the physiological action of light. *Trans. Roy. Soc. Edinb.*, 27, 141—166.
43. EINTHOVEN W., JOLLY W. A. — (1908) The form and magnitude of the electrical response of the eye to stimulation by light at various intensities. *Quart. J. Exp. Physiol.*, 1, 373—416.
44. FRÖHLICH F. W. — (1914) Beiträge zur allgemeinen Physiologie der Sinnesorgane. *Z. Sinnesphysiol.*, 48, 28—164.
45. FRÖHLICH F. W. Grundzüge einer Lehre vom Licht und Farbensinn. Ein Beitrag zur allgemeinen Physiologie der Sinne. Fischer, Jena, 1921.
46. GOURAS P. — (1958) Electric activity of toad retina. *Amer. J. Ophthalm.* 46, 59—72.
47. GRAHAM J., GERARD R. W. — (1946) Membranes potentials and excitation of impaled single muscle fibres. *J. Cell Comp. Physiol.*, 28, 99—117.
48. GRANIT R., RIDDEL H. A. — (1934) The electrical response of light and dark adapted frog's eye to rhythmic and continuous stimuli. *J. Physiol.*, 81, 1—28.
49. GRANIT R., MUNSTERHELM A. — (1937) The electrical response of dark adapted frog's eyes to monochromatic stimuli. *J. Physiol.*, 88, 436—458.
50. GRANIT R., THERMAN P. O. — (1938) The „slow potentials” associated with excitation and inhibition in the excised eye. *J. Physiol.*, 93, 9.
51. GRANIT R., SVAETICHIN G. — (1939) Principles and technique of the electrophysiological analysis of colour reception with the aid of microelectrodes. *Upsala läkeref. förh.*, 65, 161—177.
52. GRANIT R. — Sensory mechanisms of the retina. Oxford University Press, London. 1947.
53. Гранит Р. — Электрофизиологические исследования рецепции. ИЛ, Москва, 1957.
54. GRÜSSER O. I. — (1957) Rezeptorpotenziale einzelner retinaler Zapfen der Katzen. *Naturwissenschaften*, 19, 522.

55. HANITZSCH R., BYSOV A. L. — (1963) Metodische Voraussetzungen zur Ableitung mit microelectroden an den isolierten menschlichen Netzhaut. *Vision Research*, **3**, 207—212.
56. HANITZSCH R., DETTMAR P. — (1964) Das Ektroretinogramm der isolierten menschlichen Netzhaut bei Einzel- und Flimmerreizen und Potentialverläufe aus verschiedenen Netzhauttiefen. *Docum. Ophthalm.*, **18**, 412.
57. HARTLINE H. K., GRAHAM C. H. — (1932) Nerve impulse from single receptors in the eye. *J. Cell. Comp. Physiol.*, **1**, 277—295.
58. HARTLINE H. K. — (1935) Impulses in single optic nerve fibers of the vertebrate retina. *Amer. J. Physiol.*, **113**, 59.
59. HARTLINE H. K. — (1938) The response of single optic nerve fibers of the vertebrate eye to illumination of the retina. *Amer. J. Physiol.*, **121**, 400—415.
60. HASHIMOTO I., MURAKAMI M., TOMITA T. — (1961) Localisation of the ERG by aid of histological method. *Japan J. Physiol.*, **11**, 62.
61. HOLMGREN F. (1865—1866) Method att objectivera effecten av ljusintyck pa retina. *Uppsala läkeref. förh.*, **1**, 177—191.
62. HOLMGREN F. — (1870—1871) Om retinaströmmen. *Uppsala läkeref. förh.*, **6**, 419—455.
63. JACOBSON M. — (1961) The recovery of electrical activity in the optic tectum of the frog during early regeneration of the optic nerve. *J. Physiol.*, **157**, 27 P.
64. KOHLRAUSCH A. — (1918) Die Netzhautströme der Wirbeltiere in Abhängigkeit von der Wellenlänge des Lichts und dem Adaptationszustand des Auges. *Arch. Anat. Physiol. Leipzig*, 195—241.
65. KÖNIG A. — Gesammelte Abhandlungen zur physiologischen Optik. Barta, Leipzig, 1903.
66. KUFFLER S. W. — (1953) Discharge patterns and functional organizations of mammalian retina. *J. Neurophysiol.*, **16**, 37—68.
67. LANGE DE H. DZN — (1952) Experimental on flicker and some calculations on an electrical analogue of the foveal system. *Physica*, **18**, 935—950.
68. LANGE DE H. DZN — (1954) Relationship between critical flicker frequency and a set of lowfrequency characteristics of the eye. *J. Opt. Soc. Amer.*, **44**, 380—398.
69. LING G., GERARD R. W. — (1949) The normal membrane potential of frog sartorius fibers. *J. Cell. Comp. Physiol.*, **34**, 383—396.
70. LASANSKY A. — (1961) Morphological bases for a nursing role of glia in the toad retina. Electron microscope observations. *J. Biochem. Biophys. Cytol.* **11**, 237.
71. MACNICHOL E. F., MACPHERSON, L., SVAETICHIN, G. — (1957) Studies of spectral response curves from the fish retina. *Symp. on visual problem of colour*. Teddington, England.
72. MACNICHOL E. F., SVAETICHIN G. — (1958) Electrical responses from the isolated retinas of fishes. *Amer. J. Ophthalm.* Sympos. Electrophysiology of the visual system, **46**, (3), pt. 2, 24—46.
73. MATURANA H. R. — (1959) Number of fibers in the optic nerve and the number of ganglion cells in the retina of anurans. *Nature*, **183**, 1406—1407.
74. МАЗОХИН—ПОРШНЯКОВ Г. А. — Зрение насекомых. Изд. Наука. 1965.
75. MITARAI G., JAGASAKI Y. — (1955) Resting and action potentials of single cone. *Amer. Rep. Res. Inst. Environm. Med. Nagoya Univ.* 54—64.
76. MONNIER M. — L'Excitation électrique des tissus. Essai d'interprétation physique. Hermann, Paris, 1934.
77. МОТОКАВА К., МИТА Т. — (1942) Über eine einfachere Untersuchungsmethode und Eigenschaften der Actionsströme der Netzhaut des Menschen. *Tohoku J. Exp. Med.*, **42**, 114—133.
78. МОТОКАВА К. — (1956) Analysis of photoreceptor potentials. *Abstr. XX. Internat. Physiol. Congress*, 622.
79. МОТОКАВА К., ОИКАВА Т., ТАСАКИ К. — (1957) Receptor potential of vertebrate retina. *J. Neurophysiol.* **20**, 186—199.
80. MÜLLER—LIMPROTH H. W. — (1960) Die Entstehung des Electroretinogrammes. *Electroretinographia. Vrno. Lékar. fac. Univ. J. E. Purkyne*, **77**, 93.
81. Миллер У., Ратклиф Ф., Хартлайн Х. — Как клетки воспринимают раздражения. Сб. Живая клетка. ИЛ. Москва, 183—202, 1962.
82. NASTUK W. L., HODGKIN A. L. — (1950) The electrical activity of single muscle fibers. *J. Cell. Comp. Physiol.*, **35**, 39.
83. NOELL W. K. — Studies on the electrophysiology and the metabolism of the retina.-USAF School of Aviation Medicine, Randolph Field Texas. 1953.
84. OGAWA T., BISHOP P. O., LEVICK W. R. — (1966) Temporal characteristics of responses to photic stimulation by single ganglion cells in the unopened eye of the cat. *J. Neurophysiol.*, **29**, 1—31.

85. OTTOSON D., SVAETICHIN G. — (1953) Electrophysiological investigations of the origin of the ERG of the frog retina. *Acta physiol. Scand.*, 29. Suppl., 106, 538.
86. PECKHAM R. H., HART W. M. — (1961) The geometrical analysis of the photopic corneal ERG. I. On and off responses. *Experim. Eye Res.*, 1, 5.
87. PIPER H. — (1905) Untersuchungen über das Electromotorische Verhalten der Netzhaut bei Warmblütern. *Arch. Anat. Physiol.*, Leipzig, Suppl., 133—192.
88. PIPER H. — (1910) Die Aktionsströme der Vögel und Säugernetzhaut bei Reizung durch kurzdauernde Belichtung und Verdunkelung. *Arch. Anat. Physiol.*, Leipzig, Suppl. 461—466.
89. PIPER H. — (1911) Über die Netzhautströme. *Arch. Anat. Physiol.*, Leipzig, 85—132.
90. POLYÁK S. L. — The retina. Chicago. 1941.
91. POLYÁK S. L. — The vertebrate visual system. Chicago. 1957.
92. PORTER T. C. — (1898) Contributions to the study of „flicker”. *Proc. Roy. Soc. London*, 63, 347—356.
93. RAMÓN y CAJAL S. — (1933) La rétine des vertébratés. *Trav. Lab. Rech. biol.* Madrid, 28. Suppl.
94. RENDAHL L. — (1952) Klinisk electroretinografi med. electron blixten som retningsljus. (Preliminary report). *Mord. Med.*, 48, 1504.
95. SCHUBERT G., BORNSCHEIN H. — (1952) Beiträge zur Analyse des menschlichen Electroretinogramms. *Ophthalmologica*, Basel, 123, 396—413.
96. ШКОЛЬНИК—Яррос Е. Г. — Нейроны и межнейронные связи. Зрительный анализатор. Изд. Медицина. Л. 1965.
97. SVAETICHIN G. — (1953) The cone action potential. *Acta physiol. scand.* 29, Suppl. 106, 565—600.
98. SVAETICHIN G. — (1956) Spectral responses from single cones. *Acta physiol. scand.* 39. Suppl. 134, 17—46.
99. ТОМИТА Т. — (1950) Studies on the intraretinal action potential. I. Relation between the localisation of micro-pipette in the retina and the shape of the intraretinal action potential. *Jap. J. Physiol.*, 1, 110—116.
100. ТОМИТА Т., FUNAISHI A. — (1952) Studies on intraretinal action potential with low-resistance microelectrode. *J. Neurophysiol.*, 15, 75—84.
101. ТОМИТА Т. — (1957) A study of the origin of the intraretinal action potential of cyprinid fish by means of a pencil-type microelectrode. *Jap. J. Physiol.*, 7, 80—85.
102. ТОМИТА Т., TOSAKA T., WATANABE K., SATO Y. — (1958) The fish ERG in response to different types of illumination. *Jap. J. Physiol.*, 8, 41—50.
103. ТОМИТА Т., МУРАКАМИ М., HASHIMOTO I. — (1960) Oh the R-membrane in the Frog's eye: its localisation and relation to the retinal action potential. *J. Gen. Physiol.*, 43, N 6, part II. 81.
104. ТОМИТА Т. — (1966) Cold Spring Harbour Symposium. (Nyomtatásban).
105. ТОТТ Ш. — (1964) Динамические подсистемы сетчатки и перестройка их характеристик в зависимости от условий световой стимуляции. *Кандидатская диссертация*. Москва. МГУ.
106. Трифонов Ю. А. — (1964) Анализ электроретинограммы голубя. *Биофизика* т. 9, 350—364.
107. Воронин Г. В., ТОТТ Ш., Соколов Е. Н. — (1964) Амплитудно-фазовый частотный анализ биопотенциалов сетчатки при синусоидальной световой стимуляции. *Биофизика*. 9, 94—103.
108. Воронин Г. В. — (1964) Применение методов теории управления для исследования динамической структуры сетчатки. *Кандидатская диссертация*. Москва. ИАТ.
109. Утина И. А., Нечаева Н. В., Бродский В. Я. — (1960) РНК в ганглиозных клетках сетчатки лягушки в темноте и при освещении постоянным и мелькающим светом. *Биофизика* 5, 749—750.
110. Утина И. А. — (1960) Исследование активности биполяров двух типов методом ультрафиолетовой цитофотометрии. *Биофизика*. 5, 626.
111. WIRTH A., LETTERSTRÖM B. — (1954) The effect of area and intensity on size shape of the ERG. The exclusion of stray light effect. *Brit. J. Ophthal.*, 38, 257—265.
112. PROCEEDINGS of the 2nd symposium of the International Society for Clinical Electretinography (ISCERG) on flicker Electretinography. (1964) *Docum. Ophthal.*, 18, 396—540.

NORMÁLIS ÉS MUTÁNS KUKORICALEVELEK $^{14}\text{CO}_2$ ASSZIMILÁCIÓJA KÜLÖNBÖZŐ MEGVILÁGÍTÁSI VISZONYOK KÖZÖTT

GYURJÁN ISTVÁN, LÁNG FERENC és PACSÉRY MÁRIA

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Származás- és Örökléstani Tanszék, Budapest
(Igazgató: Dr. Faludi Béla)

Beérkezett: 1966. június 8-án

Bevezetés

A fény a kloroplasztisz szerveződés egyik legfontosabb külső feltétele [18, 21, 33]. Szerepe főként a pigmentszintézisben nyilvánul meg [24, 38] és energiát szolgáltat a kloroplasztisz differenciáció utolsó lépéseihez [22, 39, 44].

Fénnyel kezelt levelekben a megvilágítás erősségétől függően a kloroplasztisz teljes kialakulása 6—24 óra alatt megy végbe [32, 42] és a fokozatos zöldüléssel párhuzamosan a kloroplasztproteinek mennyisége [6] és a CO_2 asszimilációja [4] megnövekszik.

A funkcióképes kloroplasztisz kialakulását azonban belső — genetikai és differenciációt szabályozó — tényezők gátolhatják [45] és az így létrejött mutáns növényekre a plasztiszstruktúra rendellenességein kívül alacsony pigmenttartalom [46] és fokozott fényérzékenység [9, 11, 43] jellemző.

A pigmentmutáns növényeknél az alacsony pigmenttartalom mellett a komponensek egymáshoz viszonyított aránya is kisebb-nagyobb eltérést mutat a normálistól [25, 36], sőt több mutánsban valamely klorofill komponens hiányzik [19, 20].

A klorofill mutáns növények fotoszintetikus kapacitását vizsgálva WOLF [47] azt találta, hogy az egyes mutáns törzsek CO_2 asszimilációjában szignifikáns különbség nem mutatkozik annak ellenére, hogy az összklorofill tartalomban a különbség 50%-os. SAGER [37] Chlamydomonas kloroplasztmutánsokkal végzett vizsgálataiban azt találta, hogy a halványzöld mutáns klorofill-egységre vonatkoztatott CO_2 beépítése felülmúlja a normális vad törzset. E vizsgálatokból jól látszik, hogy a fotoszintézis intenzitása ezekben az esetekben nem lineáris a pigmenttartalommal.

A pigmentek kvalitatív és kvantitatív összetételének CO_2 beépülésre gyakorolt hatását vizsgálva ROUX és mti [35] megállapították, hogy a klorofilok által elnyelt fényenergia elsősorban a szénhidrátok szintézisét segíti elő, míg a karotinoidok által elnyelt fény a nitrogén anyagcserében játszik fontos szerepet.

Ezek a szempontok elsősorban a kloroplaszt rendellenes mutáns növények CO_2 asszimilációjában figyelemre méltók és főképpen a fokozott fényérzékenységgel kapcsolatos [12].

Dolgozatunkban különböző mértékben rendellenes kloroplasztmutáns kukoricánövények különböző ideig, eltérő fényintenzitásokkal kezelt leveleinek $^{14}\text{CO}_2$ beépítését tanulmányoztuk.

Anyag és módszer

Objektumunk a *Zea mays L.* normális, valamint likopint, illetve ζ -karotint szintetizáló mutánsai.

A likopinos mutánsra jellemző, hogy összkarotinoid tartalmának zömét likopin képezi, ami a normális törzs leveleiben nem fordul elő mérhető mennyiségben [13]. A ζ -karotinos mutáns leveleiben a pigmentszintézis a ζ -karotinnál megakad, alacsony fényintenzitásnál kevés klorofill-a-t és klorofill-b-t tartalmaznak [10]. A homozigóta recesszív mutánsok likopinra és ζ -karotinra jellemző színe az endospermiumon is látható és könnyen felismerhető. A mutációra nézve heterozigóta egyedek öntermékenyítésekor az utódok csövein 3 : 1 arányban homozigóta és heterozigóta normális, valamint homozigóta recesszív mutáns szemeket kaptunk.

A magvakat 28 C°-os termosztátban, sötétben csíráztattuk, majd 7–8 napos csíranövényeket 6, 12, 24 óráig Xenon lámpából származó 5, 100, 1000 és 10 000 lux fényintenzitásokkal megvilágítottuk. A megvilágítás után a csíranövények excizált leveleit fonákkal felfelé phtalát pufferrel (pH = 4,5) átitatott szűrőpapírra fektetve, $^{14}\text{CO}_2$ -t tartalmazó zárt rendszerbe helyeztük és az előbbi fényintenzitásokat biztosítottuk. A zárt rendszer CO_2 tartalmát 0,5%-osra állítottuk be, hogy a 3 órás expozíció alatt koncentrációja ne csökkenjen le jelentős mértékben, mert alacsony CO_2 tartalomnál a fotoszintetikus aktivitás már függvénye a CO_2 koncentrációnak [48].

Az alkalmazott ^{14}C aktivitás 200 $\mu\text{C}/2$ I volt, melyet $\text{Ba}^{14}\text{CO}_3$ -ból 1 N HClO_4 -al szabadítottuk fel, metilnarancs indikátor jelenlétében. A zárt rendszer légterének mozgását akvárium szellőztetővel, a hűtést vízréteggel biztosítottuk. Az expozíció után a légtér $^{14}\text{CO}_2$ tartalmát telített $\text{Ba}(\text{OH})_2$ -al köttöttük le.

A leveleket 96%-os etilalkohollal dörzsöltük el és ezt addig ismételtük, míg a csapadék szintelen nem lett. A szupernatanshoz benzolt adva a pigmenteket leválasztottuk. A csapadékot 70, 50 és 20%-os etilalkohollal extraháltuk, majd extraktumot egyesítettük a pigmentektől elkülönített vizes-alkoholos frakcióval. A fehérje és keményítő frakciók elválasztása érdekében csapadékot 24 óráig nyálamilázzal inkubáltuk 37 C°-os termosztátban. A fehérje frakciót 24 órás 6 N HCl-as főzéssel hidrolizáltuk el [31].

Az egyes frakciókat ismert térfogatra töltöttük fel, majd aliquot mennyiségüket alumínium tálkákra vittük. Az aktivitásokat végablakos GM csővel mértük (hatásfok 10%-os).

Az alkohololdékony frakcióból — amely az aminosavakat, szerves savakat és cukrokat foglalja magába — 1%-os oxálsavval mosott Whatman I-es papírra 2×10^4 tpm-t cseppentettünk fel, majd BENSON [3] szolvensrendszerével, kétdimenziós kromatogramokat készítettünk. Az I. dimenzió vízzel telített fenol, a II. dimenzió n-butanol-propionsav-víz 10/50/70 arányú térfogatelege volt.

A kifuttatott kromatogramokat ORWO ernyőzetlen röntgenfilmre helyeztük, majd 2 hónapi expozíció után a filmeket előhívtuk. Az egyes foltok azonosítását Rf és színreakciók alapján végeztük.

Az eredmények számadatai három ismétlésből és két parallel mérésből származnak.

Eredmények

A 3 órás $^{14}\text{CO}_2$ expozíció után meghatároztuk a normális és mutáns levelek által beépített össz ^{14}C tartalmat. Az eredményeket az I. táblázat mutatja be.

5 luxon — amely fényintenzitás gyakorlatilag sötétnek felel meg — a normális és mutáns levelek $^{14}\text{CO}_2$ beépítése gyakorlatilag azonos mértékű. Nagyobb fényintenzitásokon a normális levelek az elővilágítás idejének növelésével fokozottabb $^{14}\text{CO}_2$ beépítésére képesek.

A likopinos levelek fényintenzitástól és elővilágítástól függő ^{14}C beépülésének fokozódása a normálisnál kisebb mértékű. 100 lux intenzitásnál az elővilágítás idejének növelése egyértelműen fokozza a $^{14}\text{CO}_2$ beépülést. A maximális $^{14}\text{CO}_2$ felvételt az 1000 luxos, 12 óráig elővilágított variáns mutatja.

10 000 luxon a beépülés maximuma a 6 óráig elővilágított variánsban jelentkezik, majd a megvilágítás idejének további növelésével a beépülés csökken.

A ζ -karotinos levelek ^{14}C jelződését az elővilágítás nem fokozza és a különböző fényintenzitásokon kapott értékek az 5 luxon kapott értéktől alig térnek el.

Következésképpen ennek a mutánsnak a $^{14}\text{CO}_2$ beépítését sem a fényintenzitás, sem az elővilágítás ideje nem befolyásolja.

A normális és mutáns törzsek adatait egybevetve a legszembetűnőbb különbség 1000 lux fényintenzitásnál jelentkezik. Normális levelekben a 6 órás elővilágítás nagymértékben fokozza a $^{14}\text{CO}_2$ asszimilációt, a további fénykezelés ebből a szempontból kevésbé hatékony. A likopinos mutáns leveleknek ^{14}C jelződése 12 órás elővilágításnál mutat maximumot, majd hirtelen csökken. A ζ -karotinos levelekben a ^{14}C aktivitások nem haladják meg az 5 luxon kapott értéket.

A II. táblázat a pigmentekbe épült ^{14}C aktivitások alakulását mutatja be.

5 lux fényintenzitáson a lipoid frakció aktivitását illetően az elővilágításnak nincs nagy jelentősége. 100 lux fényintenzitással megvilágított levelekben a pigmentekbe épült ^{14}C mennyisége az elővilágítás 12 órájáig nagymértékben fokozódik, a további megvilágítás csak kismértékben serkent, sőt a ζ -karotinos levelekben aktivitáscsökkenés mutatkozik. Hasonló kép látható 1000 lux fényintenzitásnál is, de a 12 óráig elővilágított likopinos levelek pigmentaktivitásának növekedése eléri a normális levelekét, majd hirtelen lecsökken, ha a megvilágítási időt növeljük.

Hasonló kép látható a 10 000 luxos variánsnál is, de a likopinos levelekben a pigmentfrakció ^{14}C jelződés üteme lényegesen lecsökken.

Mindhárom törzs adatait figyelembe véve jól látható, hogy a ^{14}C pigmentfrakcióba való beépülése az elővilágítás 12. órájáig intenzív, a további megvilágítás már a normális levelek lipoid frakciójának jelződését sem fokozza. A 12 órás megvilágítás, úgy látszik lényeges a plasztisz szerveződés szempontjából.

A III. táblázat a 12 óráig elővilágított levelek keményítő és fehérje frakcióinak ^{14}C jelződését mutatja be.

A normális levelek keményítő frakciójának ^{14}C aktivitása 100 lux-tól kezdődően intenzív emelkedést mutat. Annak ellenére, hogy a fényintenzitás növelésével a fehérje ^{14}C tartalma is fokozódik, de a jelződés ütemében elmarad a keményítőtől.

I. táblázat

Fényintenzitás és elővilágítás hatása normális és mutáns levelek össz $^{14}\text{CO}_2$ beépítésére
($\mu\text{M CO}_2/\text{g. fs}$)

Fényintenzitás	5 lux			100 lux			1000 lux			10 000 lux		
	Mutáns*			+/+	ly/ly	z/z	+/+	ly/ly	z/z	+/+	ly/ly	z/z
Elővilágítás (óra)	+/+	ly/ly	z/z									
0	8,3	7,1	8,4	8,9	6,9	9,5	9,9	8,4	6,5	16,2	7,1	6,8
6	9,0	8,1	6,0	15,2	13,7	7,6	232,7	74,0	7,5	564,0	62,7	7,2
12	7,9	7,2	7,1	45,2	24,3	9,8	263,3	84,9	8,8	720,9	42,4	5,8
24	8,7	8,3	7,7	66,4	36,5	8,2	249,0	42,2	8,2	824,4	24,5	6,5

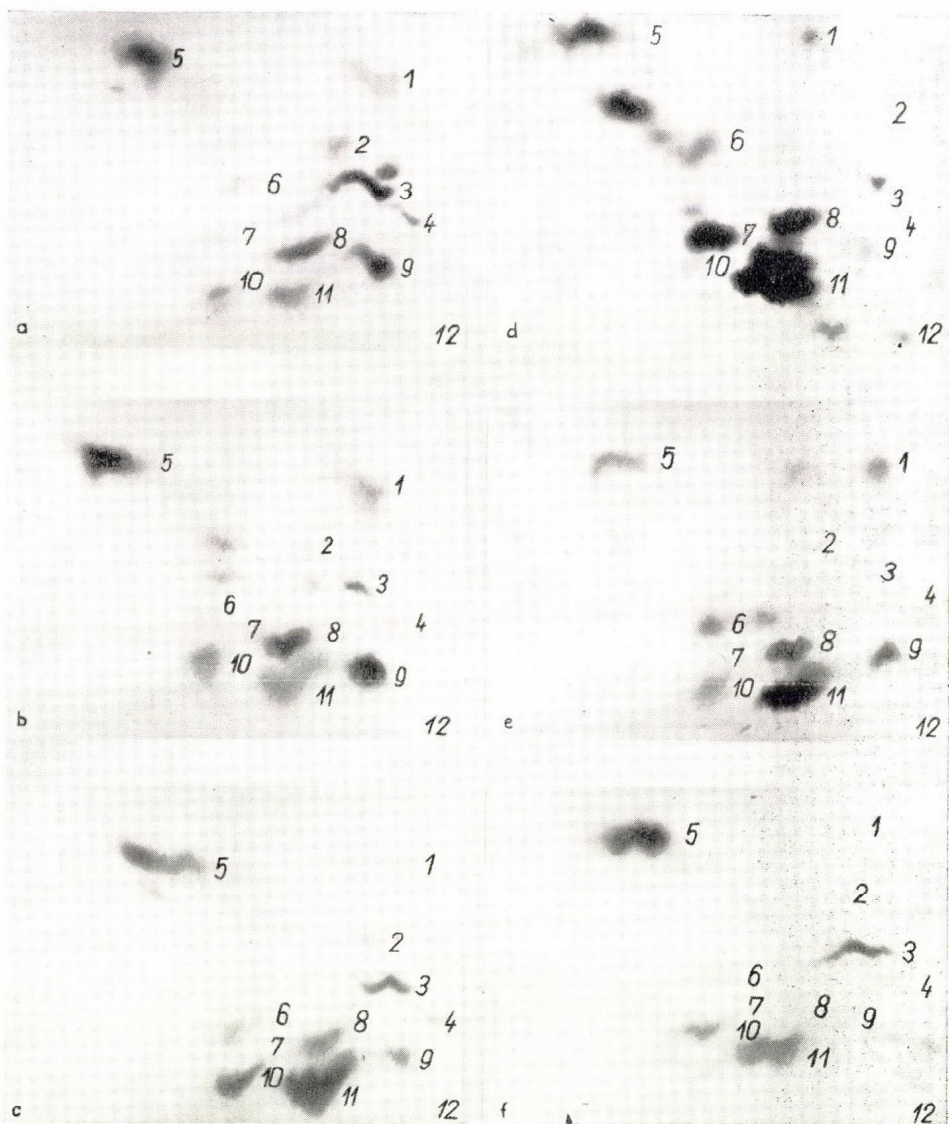
* +/+ = normális; ly/ly = likopinos; z/z = ζ karotinos.

II. táblázat.

Elővilágítás hatása a normális, likopinos és ζ -karotinos levelek pigmentfrakciójába épült ^{14}C aktivitására
($\mu\text{M CO}_2/\text{g. fs}$)

Fényintenzitás	5 lux			100 lux			1000 lux			10 000 lux		
	Mutáns*			+/+	ly/ly	z/z	+/+	ly/ly	z/z	+/+	ly/ly	z/z
Elővilágítás (óra)	+/+	ly/ly	z/z									
0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0
6	1,5	1,5	1,0	4,7	3,0	2,0	31,8	29,0	2,0	63,6	17,0	2,0
12	2,5	2,5	2,0	14,7	9,0	5,0	49,0	46,0	4,0	95,0	19,0	2,0
24	3,0	2,0	1,5	16,0	10,0	3,0	31,0	11,0	2,0	87,0	4,0	2,0

* jelölés azonos az előbbi táblázatával.



I. ábra. 24 óráig 5 és 10 000 lux fényintenzitásokkal kezelt normális, likopinos és ζ -karotinos levelek alkohololdékony frakcióiból készült autoradiogramok.
 a = normális 5 lux, b = likopinos 5 lux, c = ζ -karotinos 5 lux, d = normális 10 000 lux,
 e = likopinos 10 000 lux, f = ζ -karotinos 10 000 lux
 1 = fumársav + borostyánkősav, 2 = glikolsav, 3 = almasav, 4 = citromsav, 5 = leucín,
 6 = alanin, 7 = glicin, 8 = glutaminsav, 9 = aszparaginsav, 10 = glutamin, 11 = szacharóz
 + aszparagin, 12 = foszforglicerinsav,

12 óráig különböző fényintenzitásokkal elővilágított normális, likopinos és ζ -karotinos levelek keményítő és fehérje frakcióinak ^{14}C aktivitása a beépült össz ^{14}C %-ában

Fényintenzitás		5 lux		100 lux		1000 lux		10 000 lux	
Mutáns*	Frakció	10^{-7} M/g	K/F	10^{-7} M/g	K/F	10^{-7} M/g	K/F	10^{-7} M/g	K/F
+/+	Kem.	0,5	0,01	17,0	0,17	233,0	0,74	746,0	1,10
	Feh.	3,0		96,0		398,0		697,0	
ly/ly	Kem.	0,4	0,02	7,0	0,12	16,0	0,13	6,0	0,05
	Feh.	21,0		57,0		124,0		116,0	
z/z	Kem.	0,3	0,02	0,4	0,02	0,4	0,03	0,3	0,02
	Feh.	19,0		19,0		14,0		13,0	

* jelölés azonos az előbbi táblázatával.

Likopinos levelekben a keményítő ^{14}C aktivitása 1000 luxig fokozódik, majd 10 000 luxon nagymértékben csökken. A fehérje ^{14}C tartalmának csökkenése nem számottevő, így a keményítő/fehérje (K/F) arány az 5 luxon kapott értékre esik vissza.

A ζ -karotinos levelekben a fényintenzitás nem fokozza a keményítő jelződését. A likopinos levelek adatait is újra figyelembe véve az látszik, hogy a mutáns levelekben erős megvilágításoknál a fehérje ^{14}C tartalma viszonylag kismértékben, a fotoszintézisre jellemző keményítő aktivitása nagymértékben csökken.

A levelek össz ^{14}C tartalmának 60–80%-át magába foglaló alkohololdékony frakciókból autoradiogramokat készítettünk.

Az 1. ábra a 24 óráig 5, ill. 10 000 lux fényintenzitásokkal kezelt levelek alkohololdékony frakcióiból készült autoradiogramok képét mutatja be.

Az egyes foltok feketedésének mértékét véve figyelembe, 5 lux fényintenzitáson a három törzs vonatkozásában lényeges különbség nem mutatkozik. Nagyobb mértékű ^{14}C jelződést a szervessavak — fumársav, almasav, glikolsav és citromsav — mutatják. Az aminosavak közül az aszparaginsav, glutaminsav, glutamin és leucin ^{14}C aktivitása számottevő.

10 000 luxon az alkohololdékony frakciók összetétele a három törzs vonatkozásában lényegesen eltérnek egymástól.

A ζ -karotinos levelek radiogramja lényegében nem különbözik az 5 luxos variánsétól. A likopinos levelek alkohololdékony frakciójában alanin, a szacharóz nagymértékben jelződik és cukorfoszfat is megjelenik a komponensek között.

Normális levelek alkohololdékony frakciójában a fotoszintézisre jellemző aminosavak szénhidrátok jelződése nagymértékű, a szervessavak ^{14}C aktivitása csak elenyésző.

Megvitatás

Kísérletünkben a különböző fényintenzitások és elővilágítási időtartamok alkalmazásával lehetőséget kívántunk adni az egyes mutáns levelekben a funkcióképes fotoszintetikus apparátus kialakulására. A plasztisz szervező-

dés mértékét a $^{14}\text{CO}_2$ asszimiláció intenzitásával, a beépült ^{14}C frakciók közötti megoszlásával igyekeztünk követni.

A normális levelek össz ^{14}C beépítését a fényintenzitás és a megvilágítási idő fokozása nagymértékben serkenti. A likopinos levelek ^{14}C beépítésében egy maximum jelentkezik, amely a fényintenzitás és elővilágítási időtartam közös eredője. A ^{14}C beépülés mértékét az alkalmazott fényenergia mennyisége szabja meg, függetlenül az adagolás módjától.

A levelek pigmenttartalmát két fényindukciós folyamat határozza meg [17, 29]. Alacsonyabb fényintenzitásnál pigment szintézis, erős megvilágításnál a pigmentek fotooxidációja megy végbe. Amint azt korábban említettük, a mutáns levelek pigmentjeinek fotooxidációja viszonylag alacsony — a normális levelek pigmentjeire még ártalmatlan — fényintenzitásokon bekövetkezik, a levelek kiféhérednek. A likopinos levelek maximális $^{14}\text{CO}_2$ megkötéséhez 43 200 erg/cm² fényenergia szükséges. Valószínű, hogy a ζ -karotinos levelekben a fotoszintetikus apparátus fénydestrukciója már olyan fényintenzitásnál bekövetkezik, ahol a fotoszintetikus $^{14}\text{CO}_2$ beépülés még jelentéktelen. F. DÁNIEL és mti [14] vizsgálatai szerint ez a fényintenzitás 30 lux körüli.

1000 lux fényintenzitásig a likopinos levelek pigmentjeibe a ^{14}C beépülés üteme megegyezik a normális levelekével, az össz ^{14}C beépülés fokozódása azonban elmarad a normálistól. Ez abból adódhat, hogy a likopinos levelekben a sajátos kvalitatív pigmentösszetétel nem előnyös a kloroplasztisz normális kialakulásához [14].

A fénykezelésnek plasztisz struktúra állapotára gyakorolt hatását a kloroplasztisz struktúreleme a fehérje és fő produktuma a keményítő ^{14}C jelződése is jól mutatja.

Sötétben és alacsony fényintenzitásnál — más irodalmi adatokkal megegyezően — a fehérjefrakció viszonylag korán jelződik [1, 5]. Normális levelekben a keményítő nagyfokú jelződése a fotoszintézis intenzív menetére mutat. A likopinos levelekben a fehérje nagyobb fokú jelződéssel csak kismértékű a keményítő ^{14}C tartalmának növekedése, tehát a fő struktúrelemen a fehérjén kívül valami más a fotoszintézis limitáló tényezője. Az egyes frakciók ^{14}C jelződése alapján a ζ -karotinos levelek plasztiszai leukoplasztiszokra [40] emlékeztetnek.

5 lux fényintenzitással 24 óráig előkezelt levelek alkohololdékony frakciójában az egyes komponensek jelződése hasonló és mint azt más munkák is mutatják [7, 8, 23, 41] a sötét fixálás termékeit érinti.

10 000 lux fényintenzitásnál az 5 luxos variánshoz hasonlóan a ^{14}C zöme szervessavakba és aminosavakba épül. ROUX [34] is a normális és albino mutáns sárgarépa levelekkel végzett $^{14}\text{CO}_2$ asszimilációs vizsgálataiban azt találta, hogy a kiféhéredett levelek a CO_2 -t főként szerves és aminosavakba építik be. Szerinte a klorofillmentes levelekben a fotoszintézis hiányától eltekintve az anyagcsere normálisan folyik.

Normális levelekben, kisebb mértékben a likopinosokban is, a fotoszintézisre jellemző [28, 30] aminosavak és szénhidrátok nagy mértékben jelződnék. Annak ellenére, hogy a fényen a foszfoenolpiroszölősavkarboxiláz és a ribulóz-1-5-difoszfátkarboxiláz működése együtt halad [26], a szervessavak jelződése csökken. Erős fény hatására a szervessavak eloxidálódnak s belőlük aminosavak és szénhidrátok képződnek [2, 16, 27].

Az egyes mutáns levelekben a ^{14}C útjának pontosabb megközelítése érdekében az alkohololdékony komponensek ^{14}C tartalmának molekulán belüli megoszlását kívánjuk elkövetkező munkánkban tanulmányozni.

Összefoglalás

Normális, likopinos és ζ -karotinos mutáns kukorica csíranövények leveleinek $^{14}\text{CO}_2$ asszimilációját tanulmányoztuk különböző megvilágítási viszonyok között. A megvilágítási körülményeket úgy variáltuk, hogy lehetőség nyíljon a kloroplasztisz szerveződés és fotoszintetikus aktivitása közötti kapcsolat tanulmányozására.

A normális levelek össz ^{14}C beépítését a fényintenzitás és a megvilágítási idő fokozása egyaránt serkenti, míg a likopinos levelek ^{14}C aktivitásában egy maximum jelentkezik, amely minden esetben az alkalmazott fényintenzitás és megvilágítási időtartam közös eredője. Erős megvilágításnál a likopinos levelek $^{14}\text{CO}_2$ asszimilációja erősen lecsökken. A ζ -karotinos levelek össz ^{14}C beépítését a fényintenzitás fokozása és az előmegvilágítási idő növelése nem serkenti.

1000 lux fényintenzitásig a normális és likopinos levelekben a pigmentfrakció ^{14}C jelződésének üteme közel azonos, de a likopinos levelek fotoszintetikus aktivitásának fokozódása nem tud lépést tartani a normális levelekével.

A fényintenzitás és megvilágítási idő növelése a normális levelek fehérje és keményítő frakciójának nagyfokú ^{14}C jelződésével jár. A keményítő ^{14}C aktivitása erős megvilágításnál jóval meghaladja a fehérje frakciót.

Mindkét mutánsban a fehérje frakció viszonylag nagyobb fokú jelződése mellett a fotoszintézisre jellemző keményítő ^{14}C aktivitása jelentéktelen.

5 lux fényintenzitással megvilágított levelekben a sötét fixációra jellemző alkohololdékony komponensek (szervessavak, aminosavak) jelződnek mindhárom törzsben.

10 000 luxon a normális levelekben a fotoszintézisre jellemző aminosavak (alanin, glicin, szerin) és szénhidrátok (elsősorban szacharóz) foltjai mutatnak erős ^{14}C jelződést. Ez kisebb mértékben a likopinos levelek alkohololdékony frakciójára is jellemző, mutatván, hogy képesek kisebb mértékű fotoszintézisre. ζ -karotinos levelekben a ^{14}C aktivitás a sötét fixálás termékeiben jelentkezik.

IRODALOM

1. Андреева, Т. Ф., Коржева, Г. Ф. (1961) Особенности образования аминокислот и белка в листьях растений при фотосинтезе. Физиол. Раст. **8**: 441—448.
2. BENEDICT, C. R., BEEVERS, H. (1961) Formation of sucrose from malate in germinating castor beans. I. Conversion of malate to phosphoenol pyruvate. Plant Physiol. **36**: 540—544.
3. BENSON, A. A. (1955) Phosphorylated sugars. In: Peach K., Tracey M. V.: Modern Methods of Plant Analysis. Berlin, Springer Verlag **2**: 113—144.
4. BILLOT, I., LEROY, C. (1960) Sur la genèse des pigments et l'activité photosynthétique des feuilles étiolées de Phaseolus vulgaris au cours du verdissement. Rev. gen. bot. **797**: 477—521.
5. CHAMPIGNY, M. L. (1960) L'influence de la lumière sur la genèse des acides aminés dans les feuilles de Bryophyllum daigremontianum Berger. Rev. gen. bot. **792**: 65—216.
6. DE DEKEN—GRENSON, M. (1954) Grana formation and synthesis of chloroplastic proteins induced by light in portion of etiolated leaves. Biochim. Biophys. Acta **14**: 203—212.
7. DUPERON, R. (1961) Fixation du $^{14}\text{CO}_2$ à l'obscurité par les graines de Phaseolus vulgaris en germination. genèse des acides organiques. Compt. rend. Soc. biol. **115**: 1356—1359.
8. FABIAN, G. (1961) L'action de CO_2 sur le métabolisme des feuilles de Bryophyllum daigremontianum. Bull. Soc. chim. biol. **43**: 801—809.
9. FALUDI, B., DÁNIEL, F. A., KELEMEN, G. (1960) Increased photosensitivity of leaf pigments and its relation to the respiratory system in albino mutants of corn. Physiol. Plant. **13**: 227—236.

10. FALUDI, B., FALUDI-DÁNIEL, Á., GYURJÁN, I. (1960) Genetical differences in the photosynthetic utilization of light. I. Lability of assimilatory pigments at different light intensities. *Acta Biol. Acad. Sci. Hung.* **9**: 285—293.
11. FALUDI-DÁNIEL, Á., FALUDI, B., GYURJÁN, I., SZÁRAZ, I. (1962) Kinetic investigation of the photodestruction of pigments in normal and albino maize leaves. *Ann. Univ. Sci. Sect. Biol.* **5**: 69—85.
12. FALUDI-DÁNIEL, Á., GALMICHE, J. (1963) The role of the chloroplast structure in the efficiency of the photosynthetic CO₂ fixation in chloroplast mutants of barley. *Hereditas* **50**: 136—138.
13. FALUDI-DÁNIEL, Á., LÁNG, F. (1964) Characteristics of chloroplast mutants with abnormal carotenoid synthesis. *Ann. Univ. Sci. Sect. Biol.* **7**: 77—80.
14. FALUDI-DÁNIEL, Á., NAGY, A., GYURJÁN, I., FALUDI, B. (1965) Characteristics of pigment-protein complexes in normal and chloroplast mutant leaves. *Photochem. Photobiol.* **4**: 359—367.
15. FALUDI-DÁNIEL, Á., LÁNG, F., FRADKIN, L. I. (1966) The state of chlorophyll „a” in leaves of carotenoid mutant maize. *Biochemistry of Chloroplast I*: 269—274. Acad. Press. New York.
16. GIBBS, M. (1960) Absorption and incorporation of carbon in cell metabolism. *Symp. Radioisotopes Biosphere*. Minneapolis. 97—109.
17. GODNEV, T. N., TURCHIN, F. V., SHLYK, A. A. (1958) On the renewal of chlorophyll and proteins in plants. *Radioisotopes in Scient Res. I. UNESCO Conf. IV.* 471—478.
18. GRANICK, S. (1961) The chloroplasts, inheritance, structure and function. In: Brachet J., Mirsky, A. *The Cell*. Acad. Press, New York. **2**: 482—602.
19. HIGHIN, H. R., FRENKEL, A. W. (1962) Studies of growth and metabolism of a barley mutant lacking chlorophyll „b”. *Plant Physiol.* **37**: 814—820.
20. HIRONO, Y., RÉDEI, G. P. (1963) Multiple allelic control of chlorophyll ”b” level in *Arabidopsis thaliana*. *Nature* **197**: 1324—1325.
21. KLEIN, S. (1962) Physiology of chloroplast development. The effect of light intensity and sucrose feeding. *Plant Physiol.* **37**: suppl. XXXVIII.
22. KLEIN, S. (1962) Phytilation of chlorophyllide and the formation of lamellae in chloroplasts. *Nature* **196**: 992—993.
23. KUNITAKE, G., STITT, C., SALTMAN, P. (1959) Dark fixation of CO₂ by tobacco leaves. *Plant Physiol.* **34**: 123—127.
24. KUPKE, D. W. (1962) Correlation of a soluble leaf protein with chlorophyll accumulation. *J. Biol. Chem.* **237**: 3287—3291.
25. LEFORT, M. (1957) Structure inframicroscopique des chloroplastes de deux types de mutants chlorophylliens; Xantha et Viridis. *C. R. Acad. Sci.* **243**: 437—444.
26. MOYSE, A., JOLCHINE, G. (1957) L'action de la lumière sur la β -carboxylation et les oxidations dans les feuilles de Bryophyllum. *Bull. Soc. chim. biol.* **39**: 725—745.
27. МОИЗ, А. (1959) Некоторые аспекты фотосинтеза в связи с метаболизмом органических кислот и аминокислот. *Физиол. Раст.* **6**: 274—285.
28. Незговорова, Л. А. (1956) К вопросу о продуктах фотосинтеза. *Физиол. Раст.* **3**: 497—507.
29. NIELSON, E. (1962) Inactivation of the photochemical mechanism in photosynthesis as a means to protect the cells against to high light intensities. *Physiol. Plant.* **15**: 161—171.
30. NISHIDA, K. (1962) Effects of internal and external factors on photosynthetic ¹⁴CO₂ fixation in general and on formation of ¹⁴C-maltose in *Acer* leaf in particular. *Physiol. Plant.* **15**: 47—58.
31. PAECH, K., TRACEY, M. V. (1955) *Modern Methods of Plant Analysis*. Berlin, Springer Verlag **4**: 29—33.
32. POGO, T. B., POGO, O. (1964) DNA dependence of plastid differentiation inhibition by actinomycin. *D. J. Cell. Biol.* **22**: 296—301.
33. RHODES, M. J. C., YEMM, E. W. (1963) Development of chloroplasts and the synthesis of proteins in leaves. *Nature* **200**: 1077.
34. ROUX, E., TENDILLEC, C. (1954) Pigments des chloroplastes et photosynthese. *C. R. Acad. Sci.* **238**: 1261—1263.
35. ROUX, E., GALMICHE, J., DURANTON, J. (1960) Quelques exemples de l'utilisation des isotopes dans l'étude de la photosynthese. *Bull. inform. scient. et techn. Commissar. energie atom.* **46**: 52—66.
36. SAGER, R. (1958) The architecture of the chloroplast in relation to its photosynthetic activities. *Brookhaven Symp. Biol.* **11**: 101—117.
37. SAGER, R., ZALOKAR, M. (1958) Pigments and photosynthesis in a carotenoid-deficient mutant of *Chlamydomonas*. *Nature* **182**: 98—100.

38. SHIHARA—ISHIKAWA, J., HASE, E. (1965) Effects of glucose on the process of chloroplast development in *Chlorella protothecoides*. *Plant Cell Physiol.* **6**: 101—110.
39. STERN, I. A., EPSTEIN, T. H., SCHIFF, A. J. (1964) Studies of chloroplast development in *Euglena*. VI. Light intensity as a controlling factor in development. *Plant Physiol.* **3**: 226—231.
40. СИСАКЯН, Н. М., ФИЛИППОВИЧ, И. И. (1955) О синтезе белка в изолированных хлоропластах. Докл. А. Н. СССР **102**: 579—583.
41. Тарчевский, И. А. (1962) О пути углерода в процессе темновой фиксации CO₂. *Биохимия* **27**: 38—41.
42. VIRGIN, H. J., KAHN, A., WETTSTEIN, D. von (1963) The physiology of chlorophyll formation in relation to structural changes in chloroplasts. *Photochem. Photobiol.* **2**: 83—91.
43. WALLACE, R. H., HABERMANN, H. H. (1959) Genetic history and general comparisons of two albino mutations of *Helianthus annuus* L. *Amer. J. Bot.* **46**: 157—162.
44. WETTSTEIN, D. von, KAHN, A. (1960) Macromolecular physiology of plastids. *Proc. Eur. Conf. on Electron Microscopy* **2**: 1051—1054.
45. WETTSTEIN, D. von (1961) Nuclear and cytoplasmic factors in the development of chloroplast structure and function. *Canad. J. Bot.* **39**: 1537—1545.
46. WOLF, T. F. (1963) The chloroplast pigments of certain soybean mutants. *Bull. Torrey Bot. Club.* **90**: 139—143.
47. WOLF, T. F. (1965) Photosynthesis of certain soybean mutants. *Bull. Torrey Bot. Club.* **92**: 99—101.
48. Заленский, О. В., Семихатова, О. А., Вознесенский, В. И. (1955) Методы применения радиоактивного ¹⁴C для изучения фотосинтеза. А. Н. СССР.

¹⁴CO₂ ASSIMILATION OF NORMAL AND MUTANT MAIZE LEAVES UNDER DIFFERENT CONDITIONS OF ILLUMINATION

By

I. Gyurján, F. Láng and M. Pacséry

¹⁴CO₂ assimilation of normal, lycopenic and ζ carotenic mutant maize cotyledon was studied different conditions of illumination. The conditions were varied to make the study of the connection between chloroplasts organization and photosynthetic activity possible.

The total ¹⁴C incorporation of the normal leaves is stimulated by intensity of light as well as by increasing of the time of illumination, while in the activity of lycopenic leaves a maximum of ¹⁴C appears, which, in every case proves to be the mutual resultant of the employed intensity of light and length of time of illumination. By a strong illumination the ¹⁴C assimilation of the lycopenic leaves greatly decreases. The total ¹⁴C incorporation of the ζ carotenic leaves is not stimulated by increase of intensity of light or by augmenting of the time of pre-illumination.

Till an intensity of light of 1000 lux the ¹⁴C labelling of the pigment fraction in normal and lycopenic leaves are nearly identical, but increase of the photosynthetic activity of lycopenic leaves cannot keep up with that of the normal ones.

Increase of the intensity of light and time of illumination goes together with a high degree of ¹⁴C labelling proteins and starchfraction of the normal leaves. The ¹⁴C activity of starch by strong illumination by far surpasses that of the protein function's.

As the label of the protein fraction in both mutants is relatively higher, starch activity of the ¹⁴C, characteristic for photosynthesis is insignificant.

In leaves illuminated with a 5 lux intensity of light alcohol-soluble components characteristic of dark fixation (organic acids, amino-acids) are labelled in all three stocks.

By 10,000 lux spots of amino-acids (alanine, glycine, serine) and carbohydrate (primarily saccharose) which are characteristics of the photosynthesis show definite ¹⁴C label. This is also characteristic, in a lesser degree for the alcohol soluble fraction of lycopenic leaves, showing that they are also capable of a slighter degree of photosynthesis. In ζ carotenic leaves activity of ¹⁴C appears in the products of dark fixations.

АССИМИЛЯЦИЯ $^{14}\text{CO}_2$ ЛИСТЬЯМИ НОРМАЛЬНОЙ И МУТАНТНОЙ КУКУРУЗЫ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ УСЛОВИЯХ ОСВЕЩЕНИЯ

И. Дюрян, Ф. Ланг и М. Пачери

Изучена ассимиляция $^{14}\text{CO}_2$ листьями нормальных, ликопиновых и ζ -каротиновых всходов кукурузы при различных условиях освещения. Условия освещения, варьировали так, чтобы стало возможно изучать связь между организацией хлоропластов и активностью фотосинтеза.

Инкорпорация всего ^{14}C в нормальных листьях увеличивается под влиянием усиления интенсивности света и удлинения времени освещения, в то же время в активности ^{14}C в ликопиновых листьях наблюдается максимум, который во всех случаях является суммой интенсивности применяемого света и времени освещения. Ассимиляция $^{14}\text{CO}_2$ ликопиновыми листьями при интенсивном освещении резко снижается. Инкорпорация всего ^{14}C ζ -каротиновыми листьями не увеличивается под влиянием усиления света и удлинения времени предварительного освещения.

При интенсивности света до 1000 лк степень метки ^{14}C в пигментных фракциях примерно одинакова в нормальных и ликопиновых листьях, но усиление активности фотосинтеза в ликопиновых листьях не идет параллельно тому, что наблюдается в нормальных листьях.

Увеличение интенсивности света и времени освещения повышает степень инкорпорации ^{14}C в фракции белка и крахмала нормальных листьев. При интенсивном освещении активность ^{14}C в крахмале значительно больше, чем в белковой фракции.

В обоих мутантах одновременно с большо-степенным мелением фракции, белка, активность ^{14}C в крахмале, характеризующая фотосинтез незначительна.

В листьях, освещенных светом, интенсивность которого 5 лк, у всех трех видов наблюдаются метки в растворимых в спирте компонентах (органические кислоты, аминокислоты), характерные для фиксации в темноте.

При 10 000 лк в нормальных листьях наблюдается высокая активность ^{14}C в характерных для фотосинтеза пятнах аминокислот (аланин, глицин, серин) и углеводов (в первую очередь, сахароз). Это в незначительной степени характерно для спирто-растворимой фракции ликопиновых листьев, которые менее способны к фотосинтезу. В ζ -каротиновых листьях активность ^{14}C появляется в продуктах темной фиксации.

FOLYAMI KAGYLÓK (UNIO PICTORUM) GANGLIONSEJTJEINEK LIPOFUSCINJÁN VÉGZETT EXPERIMENTÁLIS VIZSGÁLATOK

NAGY MÁRIA

Állatorvostudományi Egyetem, Anatómiai és Szövetani Tanszék, Budapest.

(Vezető: Dr. Kovács Gy.)

Beérkezett: 1966. június 30-án.

Az emberi élettartam meghosszabbodásával megnőtt a gerontológiai vizsgálatok jelentősége. Az elvégzett vizsgálatok igazolják, hogy az öregedés univerzális jelenség és olyan állatok (pl. folyami kagylók) is öregszenek, melyeket eddig kivételnek tekintettek ez alól a szabály alól [2].

A gerontológia egyik sokat vitatott problémája az öreg állatok egyes sejtjeiben felhalmozódott lipofuscin kérdése. Eddigi vizsgálataink során azt tapasztaltuk, hogy a folyami kagylók ganglionsejtjeiben levő lipofuscin sajátosságaiiban hasonlít az ember és az egyéb állatok lipofuscinjához [7]. Az állatok öregedésével párhuzamosan a lipofuscin egyre nagyobb mértékben halmozódik fel [8]. Hisztokémiai szempontból autoxidált, telítetlen zsírsavtartalmú foszfatidákból áll, és a mitochondriumok módosulásával jön létre [9, 10].

A lipofuscin nemcsak öregkorban, de egyes megbetegedésekben, fiatal korban is előfordul, illetve fiatal állatokban kísérletesen létrehozó lipofuscin, vagy vele rokon ceroid például: bizonyos mérgező anyagokkal, hormon túladagolással, vagy szerv kiirtással, éhezéssel, E-vitamin, illetve cholin-hiányos diétával és hypoxiával [1, 6, 11, 12, 13, 14, 17]. Ezért nem tekintik ma már a lipofuscint „kopási”, illetve „wear and tear” pigmentnek.

Tudomásunk szerint kagylókkal még nem történtek hasonló jellegű vizsgálatok. Ezért jelenlegi munkánk tájékozási jellegűnek tekintendő, amely során — ha relatíve kevés állat kapcsán is — elsősorban azokat a módszereket szerettük volna felkutatni, amelyek majd további munkánk során rendelkezésünkre állhatnak.

Kísérleti állataink vízi életmódja és biológiai adottságai miatt, a fenti módszereket nem vagy csak kivételesen alkalmazhattuk. Ezért más úton kíséreltük meg a problémát megközelíteni.

Abból a megfontolásból indultunk ki, hogy a lipofuscin kialakulásáért exogén és endogén tényezők egyaránt felelősek lehetnek. Ezért egyrészt megvizsgáltuk azokat a környezeti faktorokat, melyek vízi életmódot folytató állataink esetén szóba jöhetnek (illetve speciális mitochondriális támadáspontú anyagokat alkalmaztunk), másrészt az endogén tényezők hatását kémiai enukleálással vizsgáltuk. Ezekről a vizsgálatainkról szeretnénk dolgozatunk során beszámolni.

Módszerek és eredmények

Kísérleteinket 100 db, 1–3 évgyűrűs *Unio pictorum*-mal végeztük a II. táblázatban feltüntetett módszerekkel és eredményességgel, 50 fiatal és 30 öreg kontroll állat mellett.

Az állatokat a végzett kísérlettől függően különböző időben öltük meg, vagy megvártuk spontán pusztulásukat. Hisztológiai vizsgálatokat az állatok pedális és viscerális ganglionjain végeztük, melyeket az I. sz. táblázaton feltüntetett módon dolgoztuk fel.

I. sz. táblázat

Alkalmazott					
Fixálás		Beágyazás		Eljárás	
Serra	Champy	MBC után	Sudán f.	Gallocianin	Aoyama
Ciaccio	Kadmium clorid	paraffin	PAS	MGP	Altman- Kull

Az oxigénmentes környezetben tartott állatainkat három csoportra osztottuk, a III. sz. táblázaton feltüntetett módon, és eredményességgel annak eldöntésére, hogy hány nap szükséges a lipofuscin kialakulásához oxigénmentes környezetben, illetve az így létrejött lipofuscin a normál tartási körülmények közé történő visszahelyezés után eltűnik-e.

Eredményeink alapján úgy találtuk, hogy a lipofuscin kialakulásához pár nap, illetve pár óra is elégséges, de eltűnéséhez 1–2 hét sem elegendő.

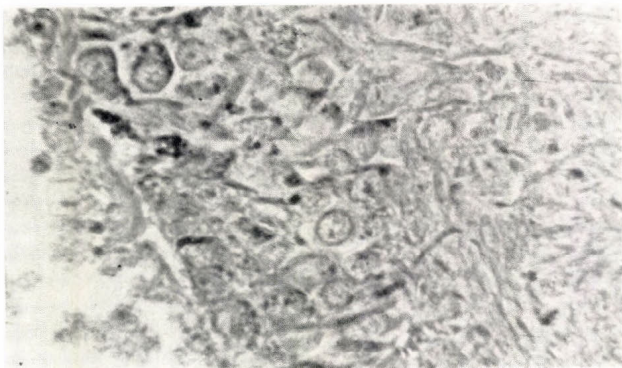
Anoxiában spontán elpusztult állataink lágyrészei a szokásostól eltérően feketék voltak. Ganglionsejtjeikben a lipofuscin szemcsék egységes masszává tömörültek, egyes esetekben a masszák homogénné váltak és bennük vakoullák léptek fel. (Janus zöldben, illetve metilén kék oldatban tartott idősebb állatok ganglionjaiban, ahol már eleve is volt lipofuscin, a fentiekhez hasonló jelenségek jöttek létre.) Nem minden lipofuscin szemcse festődött Sudan feketével és volt PAS +.

Hosszantartó anoxia esetén romlott a Golgi apparátus kimutathatósága és azokban a sejtekben, ahol különösen nagytömegű volt a lipofuscin, mitochondriumot kimutatni nem sikerült.

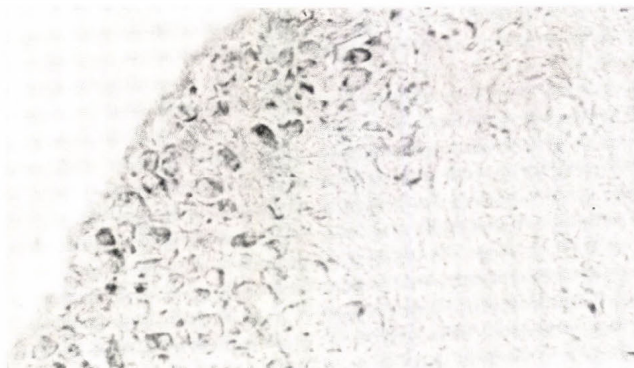
Állataink a gentiana ibolya és a metilén kék oldatot egyre kisebb mértékben színtelenítették el. A Janus zöldben tartott állatok az oldatot eleinte kihalványították, majd zöldes-kék szín helyett lilás színűre változtatták. A lilás szín intenzitása az állatok spontán pusztulásának idején volt a legerősebb.

Állataink a gentiana ibolya és metilén kék oldatot egyre kisebb mértékben színtelenítették el. A Janus zöldben tartott állatok az oldatot eleinte kihalványították, majd a zöldes-kék szín helyett lilás színűre változtatták. A lilás szín intenzitása az állatok spontán pusztulásának idején volt a legerősebb.

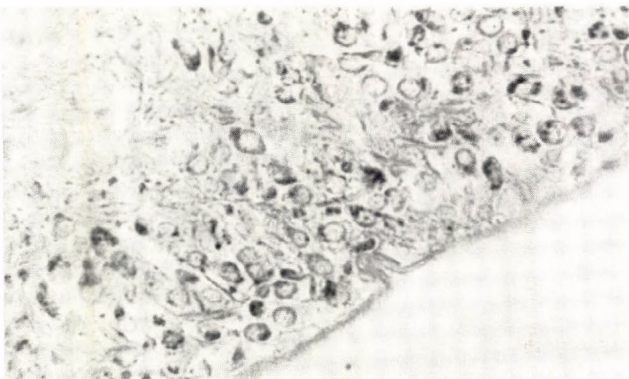
Mindhárom festékoldat esetén az állatok spontán pusztulása légzési és keringési elégtelenség következtében jött létre, melyet a kopoltyúk rendkívüli festenyzettsége kísért. Janus zöld esetén a kopoltyúk kék, de a ganglionok még rózsaszínűek voltak.



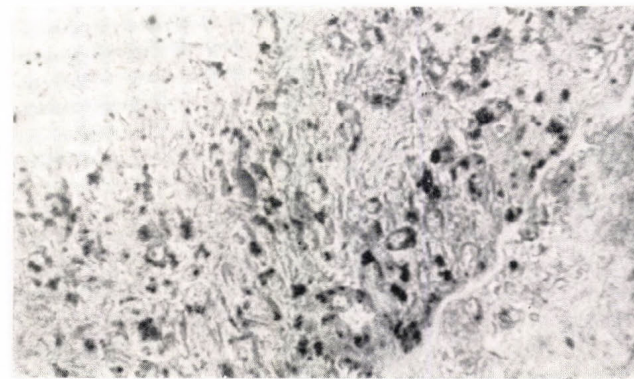
1. ábra. Kezeletlen 1 éves állat ganglionja
Sudan feketével festve. (6 × 25-ös nagyítás)



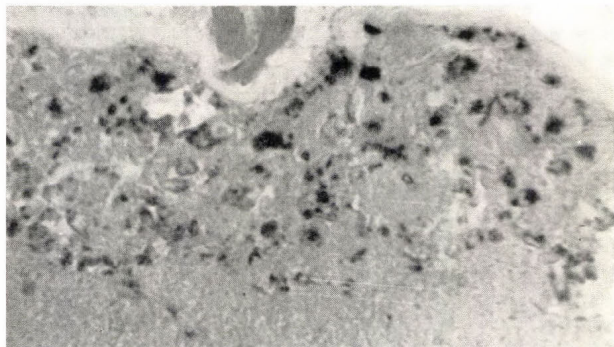
2. ábra. Gentiana ibolyával kezelt 1 éves állat ganglionja
Sudan feketével festve. (6 × 25-ös nagyítás)



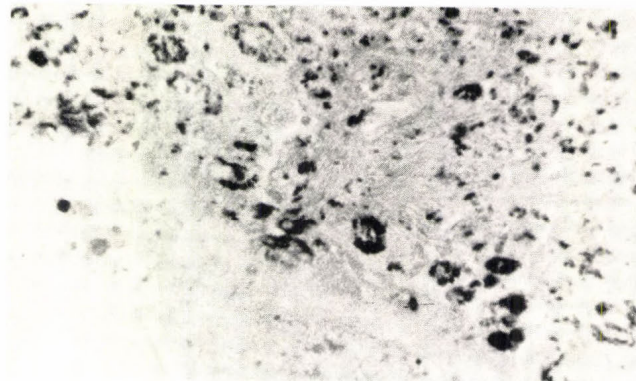
3. ábra. Janus zölddel kezelt 1 éves állat ganglionja
Sudan feketével festve. (6 × 25-ös nagyítás)



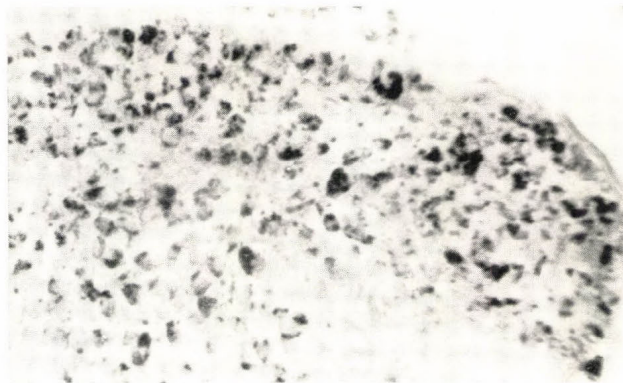
4. ábra. Metilén késsel kezelt 2 éves állat ganglionja
Sudan feketével festve. (6 × 25-ös nagyítás)



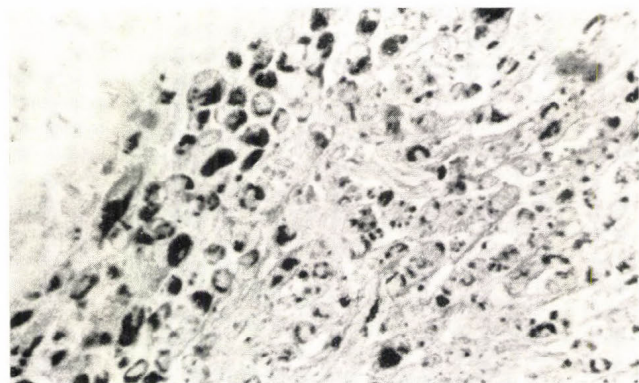
5. *ábra.* 2 éves A-hypervitaminózisos állat ganglionja
Sudan feketével festve. (6 × 25-ös nagyítás)



6. *ábra.* 2 éves Actinomycin D-vel kezelt állat ganglionja.
Sudan feketével festve. (6 × 25-ös nagyítás)



7. *ábra.* Akridin orangeval kezelt állat (2 éves) ganglionja.
Sudan feketével festve. (6 × 25-ös nagyítás)



8. *ábra.* 1 éves anoxiás állat ganglionja
Sudan feketével festve. (6 × 25-ös nagyítás)

M ó d s z e r e k				E r e d m é n y e k	
Eljárás, vegyszer	Alkalmazás módja	Mennyiség	Idő	Átlagos túlélés napokban kifejezve	Lipofuscin képződés
Termikus túlterhelés	30 C° 4 C°	2 × /nap 1 × /nap	60–60 perc	15 m	—
Hypotoniás oldat	desztillált víz		28 nap	28 m	—
Hypertoniás oldat	kiforralt d. vízben oldva	78% NaCl 11% MgCl ₂ 5% MgSO ₄	4 nap	4 s	—
Oxigénnel túlteltetett oldat		1 l./ nap	8 nap	8 m	—
Oxigénmentes oldat	1h-ig forralt paraffinnal zárt víz, csiszolt fedelű üvegben		14–24 nap	16** s	+++
Gentiana ibolya oldat		1 : 100 000* 1 : 1 millió 1 : 5 millió		4 s 11 s	++
Janus zöld oldat		1 : 100 000 1 : 1 millió 1 : 5 millió 1 : 10 millió		1,5 s 3 s 4 s 11 s	++
Metilén kék oldat		1 : 100 000		23 m	+++
A-vitamin tart. oldat	carotta leve	6 000 NE 3 000 NE		3 s	+++ +++
Actinomycin D	0,2 ml 70%-os alkoholban oldva	0,2 mg/állat		1 h m 3 „ m 6 „ m 24 „ m 48 „ m 72 „ m 1 hét s	+ ++ +++ +++ +++ +++ +++
Akridin orange oldat		1 : 1000		1,5 s	+++

* A dölt betűs mennyiség volt a leghatásosabb.

** Az évszaktól függően.

s = spontán elpusztult állatok.

m = spontán pusztulás előtt megölt állatok.

Kémiai enukleálásnak MGP-vel kimutatható következményeit nem tudtuk megfigyelni, de azt tapasztaltuk, hogy a kémiai enukleálással kapott lipofuscin a szokásostól eltérően nem a sejt perifériáján, hanem a sejtmag körül halmozódott fel.

Csoport	Anoxia időtartama	Anoxia utáni normál tartás	Lipofuscin képződés
I.	Spontán pusztulásig	—	+++
II.	3 nap	—	+++
	6 nap	—	+++
	9 nap	—	+++
	12 nap	—	+++
	15 nap	—	+++
III.	7 nap	1 hét	+++
	7 nap	2 hét	+++

Kísérleti állataink viselkedése közt egyedi eltérések fordultak elő, illetve eltérés volt egyazon állat két vizsgált ganglionja közt is, amennyiben a viscerális ganglion sejtjei, különösen a hátsó köpenyideget kísérő ganglionsejtek, sokkal érzékenyebbek az ártó behatásokkal szemben, mint a pedális ganglion sejtjei. A kezeletlen állatokban is a viscerális ganglionban előbb jelenik meg és kissé intenzívebben a lipofuscin, mint a pedális ganglionban.

Diszkusszió

A termikus túlterhelés eredménytelensége, állataink poikiloterm voltával magyarázható.

A hypo- illetve hypertóniás oldat hatástalansága az állatok alkalmazkodásának lehet eredménye.

Nagymennyiségű oxigén esetleg azért nem eredményezett lipofuscin képződést, mert nem hatott elég hosszú ideig.

Festékoldataink elszíntelenedése, illetve színváltozása, a dehydrogenázok koenzimjének a DPN-nek oxidálására és a festékoldatok redukálására vezethető vissza egyrészt, másrészt esetleg a lysosomalis aktiválódásra. Ezért a Janus zölddel történt kezelés esetén, amíg a mitokondriumok működtek, addig a szövetek lilás színűek voltak, amikor már a működésük megszűnt, akkor a festéket nem redukálták tovább, hanem passzíve felvették és kékeszöldre festődtek [4].

A dehydrogenázok a biológiai oxidációban töltenek be fontos szerepet és a mitokondriumokban lokalizálódnak. Kísérleteink szerint mindhárom festék mérsékelt, de a kontrollénál és a megfelelő életkorban előfordulónál nagyobb mértékű lipofuscin képződést eredményezett. A jelenség valószínű magyarázata az, hogy a festékek megzavarták a terminális oxidációt és lehetlenné tették az oxidatív foszforilációt.

Az A-hypervitaminózist az A- és az E-vitaminok közti antagonizmus miatt hoztuk létre [8]. Egyrészt azért, mert irodalmi adat tanúsága szerint E-vitamin hiány lipofuscin képződést eredményez [17], másrészt E-vitamin hiányban a foszfatidák autoxidációja jön létre [16], illetve a koenzin Q-koncentrációjának csökkenése következtében a terminális oxidáció zavart szenved [19]. Kísérleteink tanúsága szerint A-hypervitaminózisban nagymértékű lipofuscin képződés jött létre, mely egyrészt közvetlenül az E-vitamin antioxidáns hatá-

sának (illetve lipoproteid membránok integritása feletti őrködésnek megszüntetésével) kiesése útján vezethetett lipofuscin képződéshez, de lehet, hogy közvetve a koenzim Q kiesése vagy lysosomalis aktiválódás útján történt ez.

Actinomycin *D* valamint az akridin orange valószínű támadáspontja a sejtmag. Az Actinomycin *D* változatlan DNS- és fehérje-szintézis mellett, leállítja az RNS-, elsősorban az mRNS képződést és így kiesik a sejtmagból származó információ [5]. Az akridin orange egyrészt a DNS-val komplexet képez, másrészt inaktíválja a tRNS-t [15]. Kísérleteink alapján úgy láttuk, hogy a sejtmagból származó információk kiesése rövid idő — pár óra — alatt okozhat lipofuscin képződést.

Oxigén-hiány során a sejtek terminális oxidációja és ezen keresztül az oxidatív foszforilációja szűnik meg, melyet a mitochondriumok lipofuscinná történő átalakulása kísér. Az így bekövetkező energiahiány az mRNS magból — plazmába történő vándorlását is meggátolja [3]. A pigmentképződés folyamata időben lejátszódó jelenség. Ezzel magyarázható, hogy a lipofuscin-szemcsék egy része PAS negatív és nem festődik Sudan feketével, ami az egymás mellett levő szemcsék különböző érettségének a jele.

Következtetések

Eredményeinket áttekintve arra a végkövetkezésre jutottunk, hogy a lipofuscin minden olyan esetben kialakulhat, akár fiatal korban, betegség következtében is, amikor a mitochondriumok bármely részét szokatlan vagy kimerítő inger éri, mely felborítja azok citrát-körét, terminális oxidációját, elektron transzportját, és ezen keresztül oxidatív foszforilációját. Itt a sok betegséget kísérő hypoxiának valamint az A és az E-vitamin kellő egyensúly hiányának van rendkívüli jelentősége.

A kémiai enukleálással elért eredményeink a lipofuscin-képződés terén is a nukleinsavak, és az öregedés mutációs teóriája felé irányítják a figyelmet.

Az öregedéssel párhuzamosan nő a mitochondriumok sérülésének és a nukleinsav anyagsere megváltozásának valószínűsége és egyben egyre több alkalom adódik a lipofuscin kialakulása számára is. Amennyiben ezeket az agenseket ki tudjuk iktatni az emberi vagy állati életből, annyiban hozzá tudunk járulni azok életének biológiailag lehetséges maximális megnyújtásához.

Annak eldöntésére, hogy a lipofuscin-képződés folyamatában a lysosomalis aktiválódásnak milyen szerepe további enzimhisztokémiai vizsgálatokkal párosított kísérletekre van szükség.

Összefoglalás

1—3 évgyűrűs fiatal folyami kagylók ganglionsejtjeiben, ebben az életkorban előfordulónál mérsékelten nagyobb mennyiségű lipofuscint hoztunk létre, állataink híg Janus zöldben, gentiana ibolyában, illetve metilén kék oldatában tartásával. Kifejezett lipofuscin képződést kaptunk oxigén-hiánnyal, A-hypervitaminózissal és Actinomycin *D*, illetve akridin orangeval történő kémiai enukleálással.

Vizsgálataink eredményeiből levonhatjuk azt a következtetést, hogy lipofuscin létrejöhet bármely életkorban a nukleinsav anyagsere megváltozásával, vagy akkor, ha a mitochondriumok légzési folyamatát bármi gátolja,

ваgy lehetetlenne teszi. Miután ezeknek a lehetősége nő az életkor előrehaladásával, ezért nő a lipofuscin létrejöttének lehetősége és a kialakult lipofuscin mennyisége is.

Dr. Magyar Károlynak, a Gyógyszeripari Kutató vezetőjének az Actinomycin D rendelkezésére bocsátásáért ezuton mondok köszönetet.

IRODALOM

1. ALPERT, M.: *Anat. Rec.* **116**, 1953. (469—494).
2. BALÁZS, A.: *Az élet meghosszabbítható.* Budapest, 1964.
3. BIER, K.: *Chromosoma.* **16/11**, 1965. (58—70).
4. BRAUN, S.: *Acta Biol. Acad. Sci. Hung. suppl.* **6**, 1964 (30—31).
5. COLLINS, J. F.: *Brit. med. Bull.* **21/3**, 1965. (223—228).
6. MEANDER, R. D., WILLIAMS, W. L.: *Amer. J. Anat.* **100/2**, 1957, (167—203).
7. NAGY, M.: *Morph. és Ig. Orv. Szemle* **1**, 1962. (29—33).
8. NAGY, M.: *Morph. és Ig. Orv. Szemle* **4**, 1962. (280—288).
9. NAGY, M.: *Morph. és Ig. Orv. Szemle* **1**, 1965. (51—56).
10. NAGY, M.: *Acta Vet. Hung.* **16/1**, 1966. (9—24).
11. PLANEL, H., GUILHELM, A., BEC, P.: *Ann. Histochem.* **1**, 1956. (68—77).
12. PLANEL, H., GUILHELM, A., DAVID, I. E.: *C. R. Soc. Biol.* **150/2**, 1956. (433—436).
13. PLANEL, H., GUILHELM, A., BEC, P.: *C. R. Soc. Biol.* **150**, 1956. (1269—1271).
14. PLANEL, H., GUILHELM, A., BANIDE, P.: *C. R. Soc. Biol.* **152**, 1958. (853—855).
15. RÖMPP, H.: *Vegyzési Lexikon*, Budapest, 1960.
16. STRAUB, F. B.: *Biokémia.* Budapest, 1965.
17. SULKIN, N. M., SRIVANIJ, P.: *J. Geront.* **15/1**, 1960. (2—9).
18. *NUTR. REV.* **23/3**, 1965. (82—84).
19. *NUTR. REV.* **23/3**, 1965. (90—92).

EXPERIMENTAL INVESTIGATION CARRIED OUT ON THE LIPOFUSCIN OF THE FRESH WATER MUSSEL (UNIO PICTORUM).

By

M. Nagy

By keeping our animals in a solution of Janus green, gentian violet, methylene blue, resp. we brought about a moderately bigger quantity of lipofuscin in the ganglion cells of young fresh water mussels with 1—3 annual rings than that which usually occurs at this age. Definite lipofuscin formation was obtained with lack of oxygen, A-hypervitaminosis and Actinomycin D, by chemical enucleation of acridin orange resp.

As a result of our investigations we can draw the conclusion that lipofuscin can be brought about at any age by changing of the nucleic-acid's metabolism or if anything inhibits or makes breathing of the mitochondria impossible. As these possibilities increase with age, coming into being of lipofuscin and the quantity of the evolved lipofuscin increases, too.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЛИПОФУСЦИНА В КЛЕТКАХ ГАНГЛИЯ РЕЧНЫХ МОЛЛЮСКОВ (UNIO PICTORUM)

М. Надь

В клетках ганглия молодых речных моллюсков, имеющих 1—3 годовых кольца, при помощи содержания животных в разбавленных растворах Янус зеленого, генциан-виолета и метиленовой синьки было вызвано образование незначительно большего количества липофусцина, чем обычно содержится в этом возрасте. Более значительное количество липофусцина образовалось при недостатке кислорода, гипervитаминозе А, воздействии актиномицина Д и химической энуклеации с помощью акридин-оранжевого.

Из результатов опытов можно сделать вывод, что в любом возрасте может образоваться липофусцин под влиянием изменения обмена нуклеиновых кислот, или если дыхательные процессы в митохондриях заторможены или чем-нибудь блокированы. Следовательно, с возрастом увеличивается и возможность образования липофусцина и его количество.

MIKROSZERVEZETEK A CSILLEBÉRCI ATOMREAKTOR SUGÁRZÁSOKNAK KITETT VÍZKÖREIBEN

HORTOBÁGYI TIBOR és VIGASSY JÓZSEF

Agrártudományi Egyetem, Gödöllő és Központi Fizikai Kutató Intézet, Budapest

Beérkezett: 1966. augusztus 4-én.

Bevezetés.

Az atomreaktorok és atomerőművek megjelenésével új típusú mesterséges környezet jelent meg, melynek élővilágát elméleti és a gyakorlati szempontokból egyaránt tanulmányozni kívánatos. Ennek a környezetnek a kialakításában döntő szerepük van a nagyteljesítésű nukleáris sugárzásoknak, elsősorban a gamma és neutronsugárzásnak. Arra már számos vizsgálat történt, hogy egyes élőlények milyen mértékben viselik el a sugárzásokat. Így pl. L. M. SHIELDS, L. W. DÜRRELL és A. H. SPARROW a nevadai kísérleti telep talajaiból izolált algák és gombák sugártűrését tanulmányozta. A különböző sugárkezelések a növénynevelési gyakorlatban is közismertek (új és jobb minőségű fajták, betegségekkel szembeni ellenállás fokozása). Az atomrobbantások sugárhatásait is régtől vizsgálják.

Viszont kevés szerző foglalkozott az atomreaktorok vízköreinek élővilágával. E. B. FOWLER, C. W. CHRISTENSON, E. T. JURNEY és W. D. SCHAFER dolgozata Pseudomonas baktériumok elszaporodását írja le az Omega West Reaktor vizében.

A következőkben hazánkból először közlünk adatokat arra vonatkozóan, hogy milyen mikroszervezetek honosodtak meg egy atomreaktor különféle módon besugárzott vízköreiben. Először röviden leírjuk a csillebérci atomreaktor vízköreinek fizikai, sugárfizikai és kémiai viszonyait, majd megadjuk a kimutatott és azonosított szervezeteket.

Környezeti viszonyok

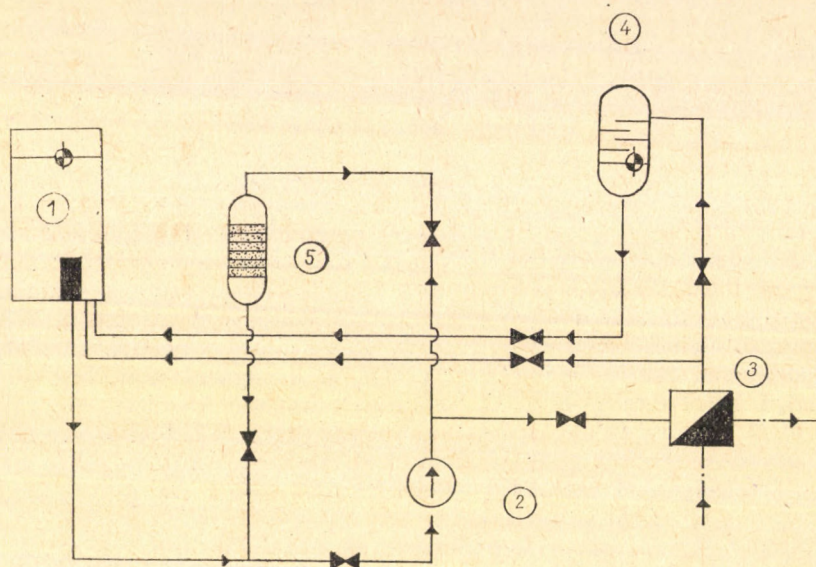
a) Primer kör

Az atomreaktor hűtését két sorbakapcsolt vízkör végzi. A primer kör vize átfolyik az uránt tartalmazó reaktorzónán, és az itt üzem közben fejlődő 2,5 MW hő a közbelső hőcserélőbe (továbbiakban: hőcserélőbe) szállítja. A hőcserélőben a hő a szekunder kör vizébe jut. A szekunder kör vizét a hűtőtoronyban szabad levegő hűti.

A primer kör főbb berendezéseit az 1. ábrán láthatjuk. Az [1] reaktortartályban helyezkedik el a reaktor. A reaktornak az a környezete, amelyben legintenzívebb a sugárzás, mintegy 0,5 m³-re tehető. A víz felszíne felett, a tartály fedele alatt van a levegőelvezető berendezés szívócsonkja, amely itt kb. 5 mm vízoszlop depressziót létesít.

A primer kör vizét 3 szivattyú, összesen 1000 m³/ó teljesítménnyel tartja körforgásban. A víz nagyrésze a szivattyúból a hőcserélőbe [3] jut.

A hőcserélő primer oldalán kisebb a nyomás, mint a szekunder oldalon, így a szekunder kör vize meghibásodás esetén betörhet a primer körbe, primer víz azonban semmi esetre sem juthat ki. A gáztalanítóba [4] az áramló primer víznek csak egy kis hányada kerül, ahol a gáztalanítást ellenáramoltatott közönséges levegő végzi. Az ioncserélő [5] szűrő (Destionex, typ-AAK-5, félautomatikus, 500 l/ó teljesítménnyel) időszakosan üzemel.



1. Reaktor tartály
5. Ioncserélő szűrő

2. Szivattyúház

3. Hőcserélő
X Szelep

4. Gáztalanító
⊕ Víznívó

1. ábra. A primer kör hálózata.

A primer víz hőmérséklete üzem közben kb. 28 °C, üzemszünetben kb. 24 °C, előírás szerint soha sem hűlhet 20 °C alá. A víz pH-ját az alumínium-korrózió szempontjából legelőnyösebb, kissé savanyú 5,0 érték körül tartják. A mintavétel időpontjában ez az érték 5,2 volt. A primer víz össz mennyisége kb. 25 m³. Minőségileg kétszer desztillált víz, melynek sótartalmát ioncserélő szűrők segítségével tartják a megkívánt szinten. Szűrés előtt a víz vezetőképessége nem haladhatja meg a 10 μS értéket. Szűrés után 1–2 μS-sel kell számolni. A mintavétel időpontjában 7,9 μS-et mértek. Ezek az értékek 2–8 ppm sótartalomnak felelnek meg.

Élő szervezetek a primer körbe a gáztalanítón, a reaktortartály felszínén, vagy az esetleg meghibásodott hőcserélőn keresztül kerülhetnek.

Üzem közben a primer körben rendkívül nagy sugárszintek lépnek fel. A zóna *neutronsugárzása* következtében a primer víz, a benne oldott levegő nitrogénje és a minimális mennyiségben oldott sók aktiválódnak, és így maga a primer víz is erősen sugároz. A reaktor legaktívabb környezetében a *neutronsugárzás* erőssége 10¹³ n/cm². sec nagyságrendű, a *gamma*sugárzás intenzitása kb.

2×10^8 R/ó. Ezen túlmenően még *alfa* és *beta* sugárzással is lehet számolni. Másodlagos jelenség az ún. *Cserenkov sugárzás*, amelyet a reaktor erős *beta* sugárzása kelt. Kékes színű fénynek tekinthetjük. A víz aktivitása miatt seholy sem csökken a sugárzási szint a primer körben 10 R/ó alá. A kör felépítése következtében a primer víz rendkívül kis hányada kerülheti el azt, hogy minden 1,5 percben át ne haladjon az aktív zónán.

Üzemszünet alatt a primer kör vize áll, fajlagos aktivitása $2-3 \times 10^{-7}$ C/l. A leállítás után $1\frac{1}{2}$ nappal az 50 cm³-es minta felszínén a sugárintenzitás kb. 0,5 mR/ó volt. A zóna sugárzása ilyenkor kb. 10^6 R/ó erősségű.

b) Szekunder kör

A szekunder kör vize a hőcserélőben veszi fel a primer kör felől jövő hőt, egyszersmind itt kerül a legradioaktívabb környezetbe. Tekintettel arra, hogy az itteni sugárzás csaknem kizárólag *gamma* sugarakból áll, a szekunder víz aktiválódásával nem kell számolni. A szekunder körben mintegy 250 m³ sótalánított vizet találunk, amelyből kb. 4 m³ van a hőcserélőben. A sugárzás intenzitása itt nagyságrendben 10 R/ó.

A hőcserélőből a szekunder víz a mesterséges cirkulációjú hűtőtornyba jut, ahol a 36 000 m³/ó ellenáramlásban levő külső levegő hűti. Időjárástól függően jelentős csepp- és párolgási veszteség léphet fel, amit vízvezetéki vízből ioncserélő szűrőkkel sótalánított vízzel folyamatosan pótolnak. Átlagosan itt 400 m³/hét mennyiségről van szó. A hűtőtorny alatt 150 m³ úrtartalmú vízmedence található. Ide csepeg a toronyban lehűlt víz. A medencébe a szél jelentős mennyiségű falevelet is hordott. Az itt levő szabad vízfelszínen keresztül igen sokféle organizmus juthat be a szekunder körbe.

A medencéből a szekunder kör szivattyútelepe 350 m³/ó vízmennyiséget hajt üzem közben a hőcserélőbe.

A szekunder kör hőmérséklete télen üzem közben 17–18 °C. A mintavétel időpontjában a víz keménysége 2,2 nkf, vastartalma pedig 0,2 mg/l volt.

c) Kiegett fűtőelem tároló

A kb. 4 m mély, 10 m³ vizet tartalmazó tartály arra szolgál, hogy a kiegett, de még igen erősen sugárzó urán fűtőelemeket mélyen a víz alatt az edény alján tárolhassák. Nincs nedves összeköttetésben sem a primer, sem a szekunder körrel. Mintegy kéthavonta kerül ide újabb kiegett fűtőelemköteg, amely a primer körből hozhat magával élő szervezeteket. A tartály vízfelszíne fölött állandó légcirkuláció van. Ez is hozhat magával élő szervezeteket. A tartályt 1959-ben a primer kör vízével azonos minőségű kétszer desztillált vízzel töltötték fel. A természetes párolgás miatt vízvesztesség lép fel, amit 1 μ S vezetőképességű sótalánított vízzel pótolnak. A tartály fala alumínium. A víz pH-ja 4,5–5,0–5,5, hőmérséklete állandóan 18 °C. A tárolóban mechanikai okokból néhány gumifelület is van, amelyeken és az edény fenekén is szürkésbarnás lerakódás tapasztalható.

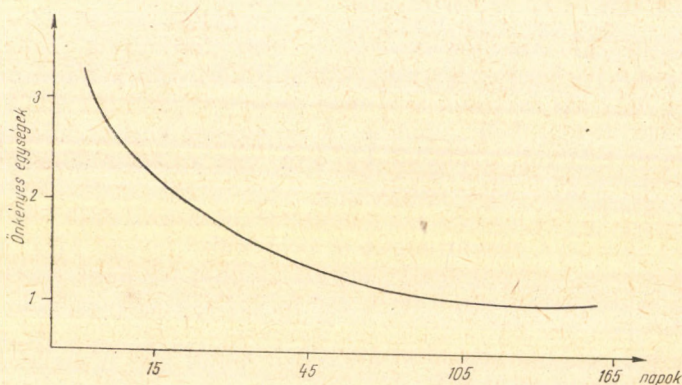
A sugárzás erőssége a víz felszínén 10–20 mR/ó. Értéke attól függ, hogy mikor került utoljára kiegett fűtőelem a tárolóba. A kiegett fűtőelemköteg aktivitása először rohamosan, majd később lassabban csökken. Hasonlóképpen

változik a sugárzás erőssége a tároló alján (lásd 2. ábra), nagyságrendben a 10^4 R/ó körül. A sugárzás tiszta *gamma* sugárzásnak tekinthető, így a tároló vize nem aktív.

Természetes fény a tároló, vagy a primer kör vizét nagyon ritkán éri (ellenőrzéskor, cca kéthavonként).

Mintavételek

A primer körből a vízmintát a mintavételi célokra szolgáló csővezeték segítségével a megfelelő kifolyatás után vettük. A fűtőelemtárolóból kétféle mintát vettünk: egyet a vízfelszín közeléből, egyet pedig a fenékvízből a



2. ábra. Leégett fűtőelem sugárlebomlási görbéje.

lerakódások felkavarása után, hogy valami információt kapjunk a lerakódások mibenlétéről. A szekunder körből két helyről vett minta érdemel figyelmet: egyiket a hőcserélőtől nem messze található mintavételi csővezetékéből vettük megfelelő kifolyatás után, a másik hűtőtorony alatti vízmedence felkavart fenékvízből való.

A mintavétel időpontja: 1966. február 18. 8³⁰ és 10³⁰ között. Ezt megelőzően a reaktor február 7. 10^h-tól február 12. 6^h-ig, és február 14. 10^h-tól február 16. 16^h-ig üzemelt 2,5 MW teljesítményen. A másfél napos pihentetésre azért volt szükség, hogy a primer vízmintha aktivitása ne zavarja a vizsgálatokat. A reaktor átlagosan havi 300 órát üzemel.

A vízmintákban az alábbi szervezetek éltek.

Enumeratio

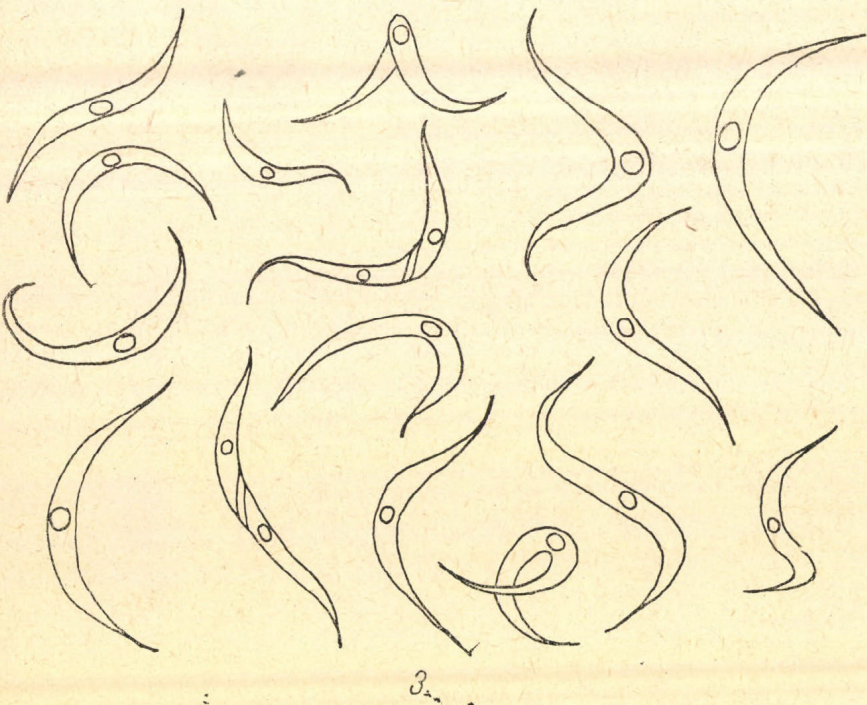
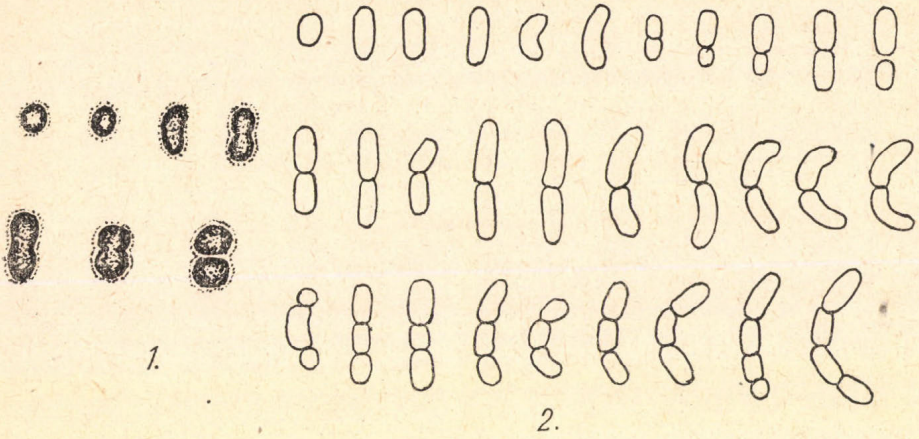
Schizomycophyta

1. *Schizomycophyta* sp. — Kusza fonálszövedék, a fonalak szélessége cca 0,4 μ .

Cyanophyta

Chroococcales

2. *Synechocystis minuscula* Woronichin. — A sejtek gömb alakúak, osztódáskor megnyúltak, piskótaalakúak. Egyenként vagy kettésével láthatók, átmérőjük 1,6—2,6 μ . Membrana vékony, sejttartalom homogen, világoskék.



3. ábra. 1. *Synechocystis minuscula* Woronichin
 2. *Romeria gracilis* Koczv.
 3. *Ankistrodesmus falcatus* (Corda) Ralfs

Hormogonales

3. *Romeria gracilis* Koczw. — A trichomák 1–4 sejttűek, egyenesek vagy hajlottak. Az ugyancsak egyenes vagy hajlott sejtek hossza 1,3–4 μ , szélessége 1–1,4 μ , sarkaik legömbölyödöttek; oválisak, cylindricusak, olykor megnyúlt tojásalakúak. A sejttartalom homogen, világoskék. A sejtek, illetve a trichomák egyedül élnek, nincsenek nyálkába ágyazva.

Chlorophyta

Chlorophyceae, Chlorococcales

4. *Ankistrodesmus falcatus* (Corda) Ralfs var. *spirilliformis* G. S. West = *Raphidium contortum* (Thuret) Legn. — A sejtek nagyon változatos alakúak, mindkét végük fokozatosan vékonyodva tühegyesen végződik. A sejtek hossza 14–28 μ , szélessége 1–2,6 μ .

Megbeszélés

Legkevesebb szervezet a primer körben volt, itt a víz a mintát tartalmazó üveg külső felületén 0,5 mR/ó sugárzást mutatott. Az aktív vízben egyetlen kékalga élt, a *Romeria gracilis*, s egyedszáma is az összes vízminták szervezeteihez viszonyítottan a legkevesebb volt.

A fűtőelemtároló vízében és a fenék felkavart vízében ugyancsak előfordult a *Romeria gracilis* kékalga, a vízben aránylag sok telepe élt, míg a fenékmintában kevesebb volt. Mindkét vízmintában még egyféle *fonalas baktérium* volt (Schizomycophyta). A fűtőelemtároló fenékén levő üledék részben tehát biológiai eredetű. A primer kör és a fűtőelem tároló vizét természetes fény nagyon ritkán, átlagosan kéthavonta (ellenőrzés) éri. Feltehető, hogy a mindkét helyen élő *Romeria gracilis* kékalga asszimilációjához az atomreaktor sugárzásai szolgáltatták talán az energiát.

A szekunder vízkörben az előbb említett szervezetek közül csupán a *fonalas baktériumot* figyeltük meg, de egyedszáma nagyon kevés. Valamivel több *Synechocystis minuscula* kékalga és a nagyon változatos alakú *Ankistrodesmus falcatus* var. *spirilliformis* (*Raphidium contortum*) zöldalga mutatkozott mellette.

A hűtőtorony vízmedencéjében mind a négyféle szervezet élt, közülük különösen sok példányban volt jelen a *fonalas baktérium*.

Vízminták

Species	Primer kör	Fűtőelem tároló	Fűtőelem tároló felkavart fenékvize	Szekunder vízkör	Hűtőtorony felkavart fenékvize
Schizomycophyta sp.		+	+	+	+
<i>Synechocystis minuscula</i>				+	+
<i>Romeria gracilis</i>	+	+	+		+
<i>Ankistrodesmus falcatus</i> var. <i>spirilliformis</i> = <i>Raphidium contortum</i>				+	+
	1	2	2	3	4

A négyféle mikroszervezet közül a *Romeria gracilis* a legellenállóbb, mivel az aktív vízben éppúgy előfordul, mint a nem aktívban. A *fonalas baktérium* viszont csupán az aktív vízben nem mutatkozott, a többiben élt.

A talált kéalgák és az egyetlen zöldalga a *Cyanophyta* és *Chlorophyta* törzsekben belül a legegyszerűbb organizációs szinten álló szervezetekhez tartoznak. A kéalgák nagyon ellenállóak és elterjedtek. Fott szerint is olyan helyeken megtalálhatók, ahol más növények számára az életfeltételek nincsenek meg. Rendkívül alacsony hőmérsékletet — -190 C° — a hóforrásokból származó kéalgák hetekig elviselhetik (Fott, p. 23). Első megtelepedők a vulkanikus talajokon, az új termőhelyeken. Elsősorban a trópusi tájakon nagy jelentőségűek a talajokban. Legtöbbjük azonban édesvízi szervezet, a tengerekben sokkal kevesebb fajuk él.

Az előforduló Cyanophytonok közül a *Synechocystis minusculát* Woronichin Észak-Kaukázusból egy keserűsósforrásból írta volt le. A ritkább kéalgákhoz tartozik.

A másik Cyanophytont, a *Romeria gracialis* Koczwara Lwow mellett egy kis tóban figyelte meg. Szintén a ritkábban ismertetett kéalgákhoz sorolandó.

Az *Ankistrodesmus falcatus* var. *spirilliformis*, vagy újabb nevén *Raphidium contortum* (Thuret) Legn. azon Chlorococcalesek közé tartozik, amely szinte mindenütt gyakori (Fott, p. 258). Hazánkban is nagyon elterjedt, de megtaláltam Alaskában, Indiában, Vietnamban is. A Földön természetes körülmények között bármily sugárzási viszonyokat és hőingadozásokat úgylátszik elvisel. Nagy ökológiai valenciájára utal az atomreaktorban történő előfordulása is. A Chlorococcalesek — mint a Cyanophytonok — a normális és extrém életfeltételeket egyaránt kedvelik (jég, gleccser, hóforrások, talaj). Az édesvizekre jellemzőek.

Az előforduló szervezetek sugártűrő képességéről Fott összefoglaló munkája nem emlékezik meg. Éppígy K. Starmach legújabb Cyanophyta könyvében sem találunk erre vonatkozó adatokat.

A KFKI VVRSZ típusú atomreaktorának primer vízkörében is van tehát élet, igazolva az algák nagy ellenállóképességét a sugárzásokkal szemben. A mikroszervezetek résztvesznek a fűtőelemtárolók lerakódásaiban.

Összefoglalás

Élő mikroorganizmusokat mutatunk ki a 2,5 MW teljesítményű csillebéri kísérleti atomreaktor besugárzott vizeiben: a szekunder körben, a primer körben, valamint a kiégetett fűtőelemek tárolására szolgáló tartály vizében. Leírunk négy kimutatott mikroorganizmust és jelelmezzük életkörülményeiket. Feltűnő, hogy a primer kör vizében is sikerült kimutatni egy kéalgát.

Köszönetet mondunk a Reaktorüzem vezetőinek és dolgozóinak, akik a vízminták vételében, valamint az életkörülmények felmérésében segítségünkre voltak.

IRODALOM

- FOTT, B.: Algenkunde. — Jena, 1959, 1—482.
- FOWLER, E. B.—CHRISTENSON, C. W.—JUVNEY, E. T.—SCHAFER, W. D.: Bacterial „Infection” of the Omega West Reactor. — *Nucleonics* 18/4, New York, 1960, 102—105.
- GEITLER, L.: Cyanophyceae — in Dr. L. Rabenhorst's *Krypt.-Fl.* 14, Leipzig, 1932, 1—1196.
- LEGNEROVÁ, J.: The Genera *Ankistrodesmus* Corda and *Raphidium* Kützing and their Position in the Family *Ankistrodesmaceae*. — *Preslia* 37/1, Praha, 1965, 1—8.
- SHIELDS, L. M.—DURRELL, L. W.—SPARROW, A. H.: Preliminary Observations on Radiosensitivity of Algae and Fungi from Soils of the Nevada Test Site. — *Ecology* 42/2, Durham, 1961, 440—441.
- STARMACH, K.: Cyanophyta — Sinice. Glaucophyta — Glaucofity. — *Flora Slodkowodna Polski* 2, Warszawa, 1966 1—807.

MICRO-ORGANISMS EXPOSED TO IRRADIATIONS IN THE WATER CIRCUITS OF THE CSILLEBÉRC ATOMIC REACTOR

By

T. Hortobágyi, J. Vigassy

Live micro-organisms were detected in the irradiated water of the experimental Csillebérc atomic reactor with an output of 2.5 MW, i. e. in the secondary circuit, the primary circuit also in the watertank serving for storing of burnt out heating elements. The description of four micro-organisms and characterization of their conditions of life is given. It is striking that a blue alga could also be revealed in the water of the primary circuit.

МИКРООРГАНИЗМЫ В ЦИРКУЛИРУЮЩЕЙ ВОДЕ АТОМНОГО РЕАКТОРА НА ЧИЛЛЕБЕРЦЕ

T. Хортобадьи, Й. Вигашии

Нами были обнаружены микроорганизмы в облучаемой воде экспериментального атомного реактора на Чиллеберце мощностью 2,5 МВ. Микроорганизмы найдены в воде первичного и вторичного циркулятора, в воде бака, служащего для хранения перегоревших тепловыделяющих элементов. Описаны четыре типа найденных микроорганизмов, характеризованы условия их существования. Поразительно, что в воде первичного циркулятора тоже удалось выявить одну синюю водоросль.

A KYEMATOPATHIÁK KÍSÉRLETES VIZSGÁLATA PATKÁNYOKON

CZEIZEL ENDRE

Országos Közegészségügyi Intézet (Főigazgató: Dr. Bakács Tibor
egyetemi tanár)

Beérkezett: 1966. augusztus 26-án

A kyematopathiák — a fogamzástól a születésig tartó időszakban ható ártalmak miatt kialakuló magzati károsodások — állatkísérletes vizsgálatakor kapott eredmények emberi vonatkozásban közvetlenül nem hasznosíthatók [11.]. De mivel csakis állatkísérletekben vizsgálható *kísérletesen* valamely anyag kyematopathogen hatása, és mivel az így kapott adatok az aetiopathogenesis megértése szempontjából hasznosak lehetnek, az állatkísérleteknek létjogosultságuk van. Viszont csakis az *emlős állatokon* nyert tapasztalatok szolgálhatnak némi alapul humán következtetésekhez. *A madarak* tojásban fejlődő magzatai *ugyanis* a külső környezettel sokkal közvetlenebb kapcsolatban vannak — placentájuk sincs —, ezért nagy mértékben különböznek az emlős állatoktól, ahol a magzat külső környezetét elsődlegesen a placenta, a méh és az anyai szervezet jelenti. A kyematopathológiai vizsgálatok eredményei is csak matematika-statisztikai analízis alapján értékelhetők, ezért nagyszámú vizsgálati egyedre van szükség. Emiatt, továbbá a *rágcsálók* rövid generációs intervalluma és nagy szaporodási képessége, valamint a kísérletes vizsgálatokban tapasztalt egyéb közismert előnyök miatt előszeretettel alkalmaznak egereket és patkányokat ilyen jellegű vizsgálatokban. Munkánkban a kísérletes kyematopathológiai vizsgálatok *módszertanát* ismertetjük, az OKI vegyes patkánytenyészetéből származó állatok adatainak tükrében.

I. Pároztatás

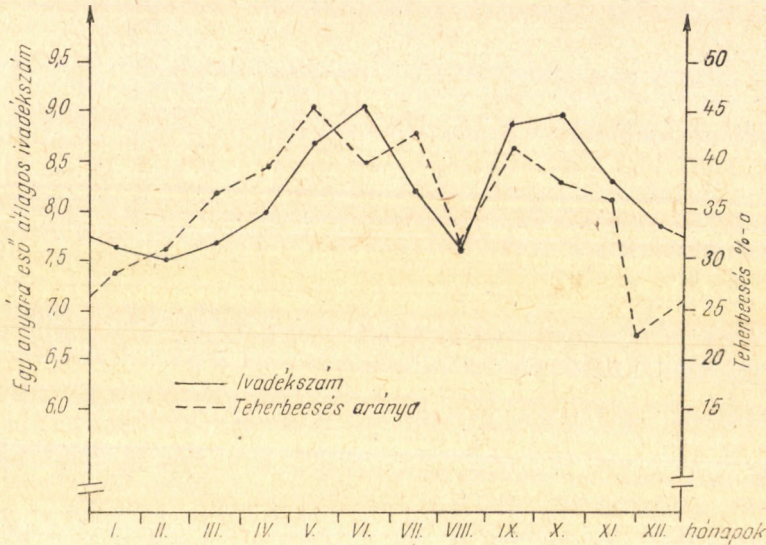
A kísérlet ökonomiai efficienciája szempontjából (az állat- és munkatakarékosság miatt, továbbá, minél kevesebb succesiv csoporttal érjük el a szükséges állatszámot az ivadékok mutatói annál homogénebbek lesznek) fontos, hogy a felhasznált nőstények minél nagyobb arányban legyenek vemhesek.

A nőstények csak az ősztruszban engedik magukra a hímeket. Egérnél az ősztrusz általában 22 órakor kezdődik, s mintegy 10—18 órát tart. Az ovuláció ideje 23³⁰—4⁴⁰, döntően 2—3 óra közé esik [27., 41.]. A Wistar patkánytörzsnél is hasonló az időmegoszlás [28.]. A közöslések döntő többsége — közvetlenül a tüszőrepedést megelőző időben — 22—2 óra között történik. Az egészséges hímállatok közöslésre mindig képesek. 15—20 perc alatt 15—70-szer fedeznek, de ejaculatio csak 1—2 alkalommal következik be. A spermiumok megközelítőleg 15 perc alatt jutnak el a tuba uterina ovarialis részébe, ahol a megtermékenyítés bekövetkezik.

A. Általános szempontok

1. A genotypus jelentősége

A kísérletes munkák alapvető előnye az elsősorban megfigyelésekre korlátozódó klinikai vizsgálatokkal szemben, hogy a tanulmányozott — dozisban és az alkalmazás idejében változtatható — tényező hatását többé-kevésbé ismert és lehetőleg standardizált kísérleti feltételek között vizsgálhatjuk. Minden kísérleti beavatkozás eredménye az alkalmazott exogén effektus és a genotypus egymásra hatásának eredőjeképpen jön létre. A kísérleti vizsgálatokban ezért



I. ábra. A patkányok termékenységének és ivadék-számának szezonális változása. (A számok az OKI patkánytenyészetének 1964—65. évi adatait tükrözik, amikor 4527 nőténynt állítottak be a tenyésztésbe. Közülük 1612 lett terhes és ezek 13 344 ivadéket szültek.)

annál pontosabban tudjuk az exogén noxák hatását regisztrálni, minél inkább sikerül standardizálni — ez egyéb kísérleti feltételekkel együtt — a genotypust [24., 26.]. A *beltenyészetből* származó, azonos és ismert genotypusú állatok alkalmazása a kísérletes kymatpatológiai vizsgálatokban különösen fontos, mivel

a) így pontosan és megbízhatóan meghatározható a „spontán” jelentkező veleszületett rendellenességek, magzati halálozások, stb. gyakorisága és típusa. (Az exogén noxák hatására is elsősorban a spontán is előforduló rendellenességek gyakorisága nő!) (Patkányoknál veleszületett rendellenességek az ivadékok 1—5%-án fordulnak elő [30.];

b) így a vizsgált exogén noxa okozta magzati károsodások kvalitatív és kvantitatív képe elég kis szórást mutat;

c) így a kísérleti eredmények könnyebben reprodukálhatók.

A beltenyészeti törzsek alkalmazásakor tehát nagymértékben fokozható a vizsgálat pontossága és megbízhatósága. Russel és Russel [40.] szerint a leg-

optimálisabb vizsgálati alany a két különböző beltenyészeti törzs F_1 generációja, mivel így a genetikai uniformitás kombinálható a hibrid-vigorral.

Sajnos hazánkban eddig csak ritkán álltak rendelkezésre beltenyésztésű törzsek. *Vegyestenyészetekben* pedig a károsító dózisban, és az adott dózis esetén bekövetkező károsodások gyakoriságában jelentős különbségek lehetnek. A genotípus jelentőségének alátámasztására számtalan adatot citálhatnánk. Így például Gunberg [20] teljesen azonos körülmények között adagolt tripánkéket A , B_1 és B_2 törzsből, ill. altörzsből származó terhes patkányoknak és az exencephalia előfordulási arányát mégis 17,50 és 97%-nak találta. Elsősorban az eltérő genotípusokkal magyarázhatók meg az azonos noxák esetén az irodalomban talált igen eltérő adatok is. Vegyestenyészetek esetén a genotípusban rejlő differenciák nem tisztázhatók és ezért az eredmények nagyfokú szórásával kell számolni. Kyematopathológiai vizsgálatokat ezért lehetőleg beltenyésztéshöz származó állatokon kell végezni. Ha ilyen nem áll rendelkezésünkre, akkor különösen nagy gonddal kell ügyelnünk arra, hogy a *kísérleti feltételek*: a pároztatás, a táplálkozás, az állattartás, stb mind a vizsgált, mind a kontroll csoportban megegyezzenek.

2. Szezonalitás

Az állatok termékenysége és a terhességek kimenetele függ az évszaktól (1. ábra). Tavasszal és nyáron sokkal nagyobb a szexuális aktivitás, pl. ilyenkor még nappal is megfigyelhetők a közösülések.

3. Táplálkozás

A diétás-hibák súlyos zavarokat okozhatnak. Pl. már 24 órás éhezés — bizonyos időszakban — fokozhatja a rágeszélők veleszületett fejlődési rendellenességeinek frekvenciáját [23., 38., 39.]. A folyadékhiány is hasonló következménnyel járhat [51.]. Jól ismertek a kvalitatív étrendi hiányosságok ártalmas hatásai is.

B. A nőstény kiválasztása

1. *Életkor*. A patkányok 100 és 300 napos koruk között a legtermékenyebbek. Általában 4—6 hónapos, 150—250 grammos állatokat érdemes pároztatni. (Régen az ivarérettség után, amely 2 hónapos korban következik be, azonnal beállították a tenyésztésbe a nőstényeket, mivel úgy gondolták, hogy pihentetésük csökkenti a termékenységet. Finn [15.] viszont bebizonyította, hogy a nőstényeknek még 9 hónapig tartó pihentetése sem redukálja a fertilitást.)

2. *Ivari ciklus*. Az ösztrusz átlagosan 5 naponként (4—8 nap), éjjel lép fel és átlag 12 óráig tart. A párosodási idő tehát korlátozott. Ezt figyelembe véve a következő pároztatási rendszereket alkalmazhatjuk:

a) *folyamatos tenyésztés*. Pl. 6 hétig tartó összeczárás után 80—85%-os terhességi arány érhető el [7.]. Ez jó hatásfoknak tekinthető, de célzott időpontú kezelések ilyenkor nem végezhetők.

b) *7 napos tenyésztés*. 60—70% körüli terhességi arány várható. Ilyenkor a teherbeesés napja ± 3 nap pontossággal adható meg.

c) 5 napos tenyésztés. A teherbeesési arány 45—60%-os, a terhesség időpontja ± 2 nap pontossággal állapítható meg [8.]. A legtöbb vizsgálat esetén ez a pontosság már megfelelő.

d) 3 napos tenyésztés. A teherbeesési arány 30—45%, az időpont pontosság pedig ± 1 nap [6.].

e) 1 napig tartó *random* típusú pároztatás. Csak az állatok 10—20%-ánál várható terhesség. Pedig ha a fogamzás időpontját nagyon pontosan kell ismerünk, akkor ezt a módszert kell alkalmaznunk. A hatásfok növelése céljából ezért nem válogatás nélküli, hanem csak proösztuszban vagy ösztuszban levő nőtényeket pároztatunk. Ezt a módszert nevezik az ún. „*kézből való pároztatásnak*”. A megfelelő ivarzási szak megállapítása elsősorban a vaginális kenet alapján történik, de a külső nemi szervek változása (száraz, duzzadt, livid színű vulva, szemben a nedves, rózsaszínű diösztuszos vulvával), a futási aktivitás kifejezett növekedése [14.], az állat viselkedésének megváltozása [48.], nyugtalan, körbe-körbe járkál a ketrecben, bizonyos reflexek (fülremegés a fej, ill. a tarkó enyhe simogatása után; a copulatio jel: a sacrum tájra gyakorolt nyomásra bekövetkező lordosis) is értékelhető. Az ösztusz általában késő este lép fel, az említett jelek, de főleg a vaginalis kenet alapján viszont a proösztuszban levő nőtények is felismerhetők és ezért ez utóbbiak alkalmazása ajánlható. Ilyenkor a teherbeesési arány 35—55%.

f) A *Whitten effektus* a szagnak a szexuális ciklusra kifejtett hatását hasznosítja [50.]. Ha csak ivarérett nőtényeket tartanak egy helyiségben, bizonyos idő után anösztusz, esetleg álterhesség lép fel. Ha azután a nőtények közé hím állatot is tesznek, az állapot gyorsan rendeződik, és az ösztusz általában a 3. nap bekövetkezik. Ezzel a jelenséggel számolva állítólag 10%-kal fokozható a terhes állatok aránya [37.].

g) A *szülés után 11 órával* ösztusz lép fel az anyánál. Így a szülést követő 48 óra alatt végezve a pároztatást, pl. Thiersh 74%-os teherbeesési arányt ért el [45.].

3. *Születési sorszám*. A kyematopathiák vizsgálatakor leghelyesebb egyszer már szült nőtényeket használni. Az első terhesség figyelemmel kísérésével ugyanis kiküszöbölhetőek a nem teljesen egészséges nőtények. Az első terhességnél különben is az ivadékszám általában alacsony és igen változó, továbbá nehezebb a szülés, és a felnevelési arány is rosszabb. Az ötödik szülés után viszont a terhesek teljesítménye jelentősen csökken. Tehát a 2—3. terhességek vizsgálata a legoptimálisabb.

C. A hím kiválasztása

1. *Életkor*. Pároztatásra 4—12 hónapos hímeket alkalmazunk.

2. *Szexuális aktivitás*. A hím patkányok poligám természetűek és mindig képesek pázásra. A hatásfokot és gazdaságosságot figyelembe véve ezért a Wistar Intézetben 3, Németországban 10—12 nőtény [21.] raknak egy hím mellé, tehát „*hárem-tenyésztést*” végeznek. (A monogám tenyészet ugyan hatásosabb, de nehezen kivitelezhető.) Mi 5 nőtényhez 1 hímet teszünk. Több hím egyszerre való betétele teljesen felesleges a „rangadás” miatt úgyis mindig csak egy hím végzi a megtermékenyítést.

3. *A hím-váltás*. Ilyenkor a tenyészethez 2 hímet használnak. Az egyik 1—2 napig benn van a ketrecben, a másik ezalatt pihen. Állítólag így fokozható a terhes állatok száma. Viszont a vizsgált mutatók szórása megnő, mivel mint

pl. Finn [16.] vizsgálatai bizonyítják, a hím egyénisége kifejezetten befolyásolja az ivadékszámot.

4. A *fertilitás ellenőrzése*. Csak kipróbált, jó fertilitású hímekeket szabad alkalmazni. 1—1 steril vagy rossz termékenységű hím egész kísérleteket tehet értékelhetetlenné.

5. A *Bruce effectus* [2.]. Fontos tudnunk, hogy a praeimplantációs periódusban levő terhes nőstények 80%-ának megszakad a terhessége, ha idegen törzsből származó hím kerül a közelükbe. Ezt a jelenséget, bár sokkal kisebb mértékben, saját törzsből származó idegen hímekek esetén is észlelték.

II. A terhesség időpontjának megállapítása

Az időfaktornak a kyematopathogenesisben döntő fontossága van és ezért valamely kyematopathogén ágens hatását csakis a terhesség időpontjának pontos ismeretében tudjuk megfelelően értékelni. (Mivel a fogamzás általában éjjel következik be, a terhesség napját mindig törzszámában adjuk meg, vagyis a fogamzást követő napot nevezzük 0,5 napnak.)

A terhesség időpontját többféleképpen határozhatjuk meg:

1. A *pároztatás időpontjának* ismeretében. De ezt csak az 1 napig tartó pároztatás esetén tudjuk pontosan. A 3—5—7 napos összezárás után már ± 1 , ± 2 , ± 3 napos szórással kell számolni.

2. Egyes szerzők *figyelgetik* az állatokat, és így a szemmel ellenőrzött párosodás alapján állapítják meg a fogamzás időpontját. Mivel a párzás nem egyenlő a fogamzással, csak a kiemelt állatok 50—80%-át találták terhesnek [34.] A párzás döntően éjjel történik, ezért ez a módszer szinte alkalmazhatatlan.

3. A *közösülési dugasz* vagy hüvelydugó 3—8 órával a párzás után alakul ki és 24 óráig marad meg. Ez megint csak a közösülést és nem a teherbeesést jelzi. Ennek alapján 55—70%-ban bizonyultak terhesnek az állatok [4., 46., 33.].

4. A *spermiumoknak* a hüvelykenetben való kimutatása ma a legszélesebb körben alkalmazott módszer. Ez már nemcsak a párzást, hanem az ejakulatiót is jelzi. A tenyésztésbe állított nőstényektől reggelente hüvelykenetet veszünk és amelyekben spermiumot találunk, azokat 0,5 napos terhesnek tekintjük. A határfok 60—95% [19.].

5. *Laparatomia* útján a 7. nap lehet a terhességet, ill. az implantátumok számát megállapítani. Ez a módszer azonban nem teljesen közömbös a magzatok fejlődésére és nagyon munkaigényes is.

6. A *Nanjo-jel* [35.]. A vaginális kenetben a terhesség 7,5 napja körül nagymennyiségű nyák található.

7. A *Long- és Ewans-féle placenta jel* [28.]. A terhesség 9,5. napján a hüvelynyílásban sötétvörös véresepp jelenik meg. A jelenség azután még 5—6 napig kimutatható. (A 9,5 nap előtt észlelt vaginális vérzés a terhesség megszakadására utal! [18.]

8. A 14. nap táján a terhes méh már *tapintható*, ill. a patkányok hátsó részét a farkuknál fogva megemelve, de mellső lábukat a talajon hagyva, vemhesség esetén a *has előreesik*. Ez a módszer azonban nem elég pontos a terhesség napját illetően.

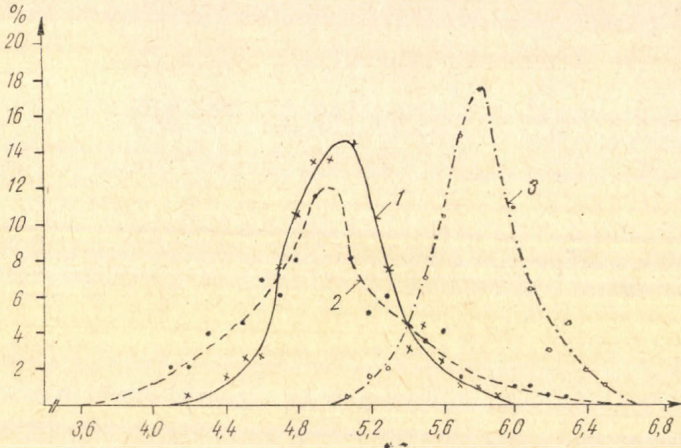
9. A 16—18. napon a tejmirigyek kifejlődnek, ez az ún. „*kítőgyelés*”. Ilyenkor már a terhesség szabad szemmel is felismerhető.

10. A *szülés időpontja* alapján is kellő pontossággal tudjuk a fogamzás idejét kiszámítani. A szülés a terhesség 21,5—22,5. napján következik be. (A Wistar törzsnél a szülés a 22. napon, 10 és 21 óra között zajlik le.) Tenyésztünkben a születek döntően késő délután vagy éjjel történnek.

III. A kyematopathogén hatás értékelése

Az ivadékokat prae- és postnatalisan vizsgálhatjuk.

A) A *praenatalis* kiértékelés esetén az anyaállatokat a 20,5 napon, tehát közvetlenül a szülés előtt — decapitálással — leöljük. A halott, rendellenességgel sújtott, vagy beteg magzatok kórismézése csak így történhet pontosan, mivel különben ezeket az anya közvetlenül a szülés után — amely általában este vagy éjjel történik —, megeszzi.



2. ábra. Az élő magzatok súlyának eloszlása különböző típusú kyematopathológiai kiértékelések esetén. 1. = Praenatalis vizsgálat 3 napos pároztatás után. 2. = Praenatalis vizsgálat 5 napos pároztatás után. 3. = Postnatalis vizsgálat 3 napos pároztatás után.

A következő *indexek* megállapítása szükséges ilyenkor:

1. Az *anya* vizsgálatakor általában megelégszünk az esetleges mortalitás és a testsúlyváltozás meghatározásával. Adataink szerint a terhesség 21,5 napja alatt az anyák súlya általában 30—50%-kal nő. Amennyiben a terhesség állatok súlynövekedése 20% alatt marad, akkor a vizsgált anyag az anyára is ártalmas lehetett. A boncolás általában különösebb eredményt nem hoz. Az egyes kísérletekben viszont a speciális *histológiai* vizsgálat igen értékes lehet.

2. A *terhes állatok aránya*. Hasfeltárás után az uterusok in situ vizsgálatakor a terhesség fennállása könnyen megállapítható. (Zygopathiák előfordulásakor a 20,5 napon a terhesség sokszor már csak nehezebben kórismézhető. Emiatt — a zygopathiák vizsgálatakor — ajánlják a 13,5 napon történő leölést.)

3. Az *implantátumok száma*. Az uterus in situ vizsgálatakor egyúttal megszámoljuk az összes implantátumot.

4. A *magzatszám*. Az egész uterusot eltávolítjuk, majd hosszanti metszéssel felnyitjuk. A magzatokat a placentával és az amnion-zsákkal együtt távolítjuk el, majd az egész komplexust lemérjük. Ezután a magzatokat izoláljuk és megszámloljuk a jól felismerhető magzatokat. Tehát a korai rezorpciókat (sárgás csomó a parametriumban), vagy a csak placentákat tartalmazó implantátumokat (ún. késői rezorpció) már nem vesszük figyelembe.

5. Az *élő magzatok száma*. A magzatok közül — elsősorban az érintéssel kiváltott légzőmozgások elbírálása alapján — elkülönítjük az élőket.

6. Az *élő magzatok súlya*. Az egy anyától származó élő magzatokat táramérlegesen lemérjük és az átlagsúlyt adjuk meg. (Az egy anyától született magzatokat együttesen kell lemérni, mivel így egyszerűbb és kiküszöbölhető a magzati súlynak az uterus pozíciótól való függése [31.]). A halott magzatok súlyának lemérése fölösleges, mivel ez nagymértékben függ az elhalás időpontjától, ill. a maceráció mértékétől. Ha feltűnő óriási vagy törpe magzatok fordulnak elő, akkor ezek súlyát külön-külön is meg kell határozni. A súlyértékek szórását nagymértékben befolyásolja a terhességi időpont meghatározásának pontossága. A magzatok súlya a 13. napig lassú lineáris ütemben nő, a fetalis periódusban viszont a súlynövekedés igen gyorsütemű, exponencialis jellegű és ezért a 19,5 a 20,5 és 21,5 napos magzatok súlya nagymértékben különbözik egymástól. Ezért már a ± 2 napos terhességi időpont esetén is elég nagy szórással kell számolnunk a magzati súly értékeiben (2. ábra.)

7. Az *élő magzatok hossza*. A fejtető—far távolságot adjuk meg milliméterben. Tapasztalataink szerint azonban a súly és a testhossz párhuzamosan változik, ezért ezen mutató meghatározását nem tartjuk fontosnak.

8. A magzatok *nemének* meghatározása. A magzatoknál a 18. nap után az ano-genitalis távolság alapján a két nem elkülöníthető [32.]. A genitális papilla és a végbél közötti távolság hím-újszülötteken 2,5–3 mm., míg a nőstény-újszülötteken 1,2–1,4 mm.

9. A *veleszületett fejlődési rendellenességek* kimutatása igen nehéz feladat. Lényegében bármelyik szervben, szövettfeleségben a legkülönbözőbb fokú rendellenességek alakulhatnak ki. Csupán a morfológiai rendellenességek megbízható kimutatása is — az egyes kísérletekben előforduló magzatszámot figyelembe véve — óriási munkát jelentene. A tapasztalat szerint rágeszálókban az ideg- és csontvázrendszerben alakulnak ki leggyakrabban fejlődési zavarok. Az ismertetendő *screening* módszer kidolgozásakor ezt és az ökonomiai efficienciát vettük figyelembe.

a) A *külső vizsgálat* során minden egyes magzaton — nagyítóval — figyelmesen megnézzük a koponya és gerinc záródási vonalát, a szájjpadot, a szemeket, a végtagokat, a kéz- és lábujjakat és a farkot. (Egyesek szerint az uterus ovarialis, mások szerint a vaginális végén levő magzaton gyakoribbak a rendellenességek [47., 53.].)

b) A *belső vizsgálat* a mellkas és has feltárása után történik. Különösen a vese-rendellenességekre, a rekeszsérvre és a szívhibákra kell figyelemmel lennünk.

c) A *histológiai szűrővizsgálat* során a magzatokat Bouin-ban fixáljuk. Az egyik csoport esetén az egész magzatról sagittális síkú metszetet készítünk (3. ábra.) Az ilyen metszeten jól tanulmányozható a központi idegrendszer (különösen 3. és 4. agykamra), de pontosan lemérhető az ano-genitalis távolság is. (Ez utóbbinak a nemi differenciálódás zavarainak vizsgálatakor van jelentősége [36.].) Ugyanezen magzatokból a szemről is sagittális metszetet készítünk (4. ábra.). A magzatok másik csoportjából a fejről 3 harmadban frontális metszeteket készítünk, amelyeken a központi idegrendszer esetleges fejlődési zavarai elég megbízhatóan felismerhetők. Az első metszet a szem, a második a fül síkjában, míg a harmadik ezen két metszet felezőjében készül (5. ábra.).

d) A *csontváz-rendszer vizsgálatára* a módosított Schultz—Dawson [12.] módszert alkalmazzuk [5., 10., 42.] (6. ábra.).

10. A *placenta és a magzatburok* vizsgálatakor súlymérést és histológiai feldolgozást végzünk. A placenta és a magzat súlya között általában correlatio van. A placenta azonban sok noxával szemben ellenállóbb, ezért nem ritkán túléli a magzatot, sőt tovább is növekedhet és így előfordulhat, hogy az implantátumban csak placentát találunk [1.]. S bár a súly elég szegényes indexe a placenta-funkciónak, amely sok tényezőtől, pl. az anya korától függ [43.], az említett esetleges effektus deviáció miatt a placenta súlymérést is szükséges elvégezni [13.]. A placenta maximális súlyát a 18. napon éri el, ezután a súlya lényegesen már nem változik, inkább csökken, ezért a szórás sokkal kisebb fokú, mint a magzatok súlya esetében [29.].

A patkányok allanto-chorialis placentája lényegében a 2. hét végére alakul ki. Az anyai és magzati szövetek között a kapcsolat nagyon szoros, csak a fetalis vérerek endothelioma választja el ezeket egymástól (ún. endothelio-haemochorialis típus). A placenta labirintusát az ún. világos sejtek és az ún. óriás sejtek rétege övezi [44.].

Az amnion folyadék súlyának meghatározása, amely bizonyos magzati ártalmak esetén érdekességgel bírhat, ezek után egyszerű [25.]. Csupán a magzat-placenta-amnionszak komplexus súlyából le kell vonni a magzat, valamint a placenta és a magzatburkok súlyát.

B) *Postnatalis* vizsgálat esetén az anyaállatokat a 17,5. nap körül elkülönítjük és megfelelő szülési körülményeket (sok folyadék, papírvatta, nyugalom, félhomály) biztosítunk számukra. A születést követő reggel azután meghatározzuk:

1. a *magzatok számát*. Az anyát óvatosan kivesszük a ketrecből és az ivadékokat — gondosan papírvattával megfogva — megszámláljuk. Az összefogdosott, kihűlt magzatokat az anya gyakran nem neveli fel, sőt megeszi;

2. a *magzatok súlyát*. Az ivadékok súlya nagyobb és a szórás kisebb, mint a praenatalis vizsgálat alkalmával (2. ábra);

3. a *magzatok nemét*, ugyancsak az anogenitalis távolság alapján.

Tisztában kell lennünk azzal, hogy a postnatalis vizsgálat során már csak az anya által egészségesnek ítélt újszülötteket vizsgálhatjuk. Az élő magzatok számából viszont következtethetünk az intrauterin mortalitásra is. Előnye ennek a módszernek, hogy az újszülöttek fejlődését, valamint életképességét is figyelemmel kísérhetjük, és így esetleg a kisebbfokú veleszületett rendellenességek és funkcionális anomáliák is kimutathatók.

A továbbiakban naponta figyelemmel kísérjük az újszülöttek fejlődését és az ivadékok elhullását pontosan feljegyezzük. A leválasztáskor, tehát a 21. napon azután megállapítjuk:

1. az újszülöttek *elhullásának mértékét* és az ún. *elhullási időgörbét*. Minden olyan méhen belüli ártalom, amely ugyan a további intrauterin életet lehetővé teszi, de azért fejlődési zavart eredményez, nagymértékben megnehezíti az extrauterin élethez való alkalmazkodást, amely azután az első 3—5 napon újszülött-halálozásban nyilvánulhat meg (7. ábra.);

2. a 21. napos ivadékok *súlyát*. A kisebb fokú intrauterin fejlődési zavarok az extrauterin fejlődést is kedvezőtlenül befolyásolhatják s ez legkönnyebben a testsúly meghatározása alapján állapítható meg;

3. a 21. napos újszülöttek *nemét*. Az esetleges nemhez kötött mortalitás felderítése szempontjából fontos ez.

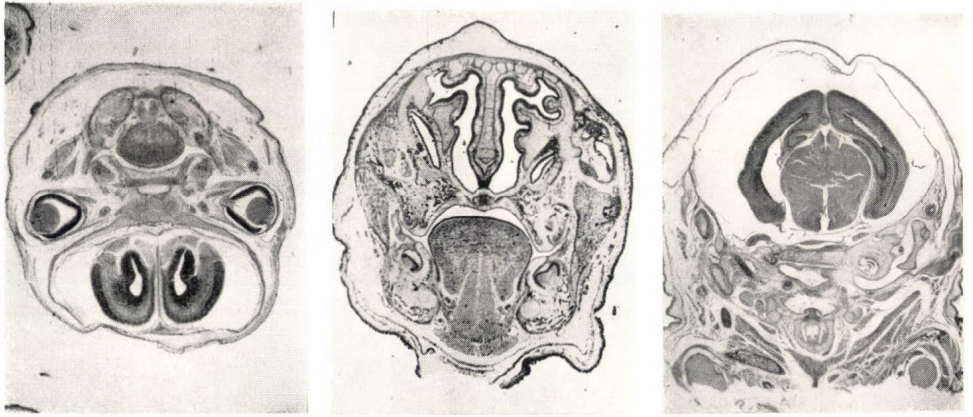
Ekkor és később alkalom nyílik különböző *functionális próbák*, mint pl. látás, hallás, tanulási képesség, feltételes reflex kialakulás, rezisztencia-próba



3. ábra. $20,5 \pm 1$ napos patkány-magzat sagittális átmetszete.



4. ábra. $20,5 \pm 1$ napos patkány-magzat szemének sagittális átmetszete.



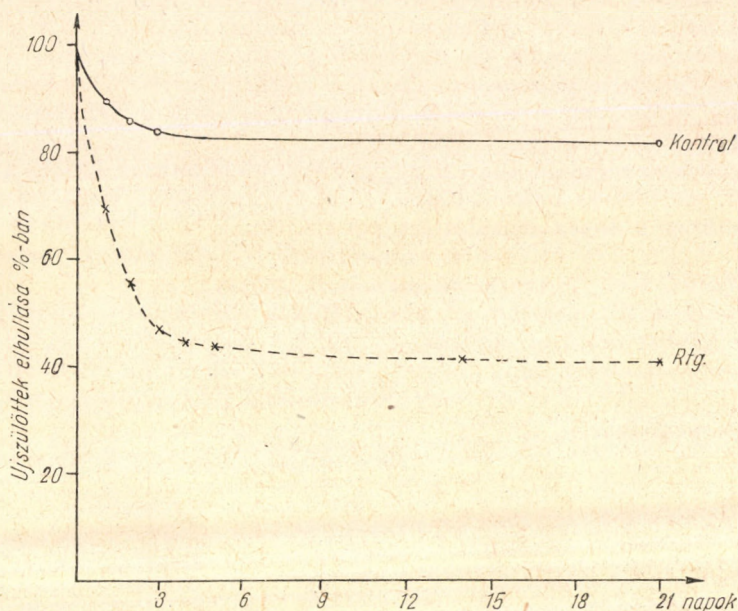
5. ábra. $20,5 \pm 1$ napos patkány-magzat fejről készített frontális metszetek.
 a) = szem síkja. b) = a) és b) sík felező-vonalában. c) fül síkja.



6. ábra.
 $20,5 \pm 1$ napos
 patkány-magzat
 csontváz-készítménye.

stb. elvégzésére is, s így az ivadékok esetleges működési zavara, tehát a fetopathiák kideríthetők.

A terhesség alatti magzati károsodások kísérletes vizsgálatát általában a kísérletes teratológia tárgykörébe sorolják. A teratológia a torzokkal, tehát a látható veleszületett fejlődési rendellenességekkel foglalkozik. Ismeretes ugyanakkor, hogy a kyematopathiaknak csak egy kisebb részében alakul ki



7. ábra. A terhesség $10,5 \pm 1$ napján végzett 500 r teljes-testbesugárzás hatása a patkányivadékok postnatalis elhullására. („Postnatalis elhullási időgörbe”).

veleszületett fejlődési rendellenesség [11.]. (A nomenclatúra kérdésével másutt foglalkoztunk [9].) Tisztában kell lennünk továbbá azzal is, hogy a *veleszületett rendellenességek* megbízható kimutatása szinte lehetetlen. Minden magzat esetén az összes szerv és szövet részletes feldolgozása ugyanis nem oldható meg. Általában csak a jelentősebb, a szembetűnőbb és a szokásos rendellenességeket tudjuk a különböző szűrővizsgálatok alkalmával kimutatni. Nehéz a veleszületett rendellenességek számának és mértékének — tehát kvantitatív értékének — meghatározása is. Azt kell tehát mondanunk, hogy bár a veleszületett rendellenességek gyakorisága releváns indexe lenne a magzati károsodásoknak — különösen az embryopathiaknak —, kimutatásuk technikailag megoldatlan kérdés. Ezért mindig csak azt állíthatjuk, hogy nem találtunk veleszületett rendellenességet és nem azt, hogy nincs fejlődési zavar.

Van azonban egy törvényszerűség, amelynek felhasználása, a kísérletes kyematopathológiai vizsgálatokat is egzakttá teszi. Bebizonyosodott ugyanis, hogy a magzati károsodások (fejlődési rendellenességek és az intrauterin betegségek), továbbá a magzati halálások (korai és késői rezorpciók, halott magzatok) *ugyanazon típusú károsodásoknak csupán eltérő fokai* [49., 11.].

Azok az ártalmak ugyanis, amelyek magzati károsodást, vagyis veleszületett rendellenességet okoznak, a dózis növelése után magzati halálózást idéznek elő [52]. (A magzati ártalmak döntő része különben is magzati halálózásban nyilvánul meg.) Kétségtelen ugyanakkor, hogy veleszületett rendellenességet elsősorban a kis magzati lethális anyagok idéznek elő. Vizont az átgondolt kyematopathológiai vizsgálatok esetén az ilyen típusú noxák is felismerhetők [49., 3.]. A *magzati halálózás* mértéke tehát, releváns indexnek tekinthető a kyematopathogén effektus jellemzésére és meghatározására. Ez a mutató pedig technikailag könnyen és megfelelő pontossággal mérhető, ezenkívül objektív, konvertibilis, jól reprodukálható és diszkriminatív [22.]. Ezen indexek érzékenysége elsősorban a dózistól, fajlagossága pedig a genotypustól és a noxától függ.

Az ivadékok *súlyának* mérése ugyanakkor alkalmasnak látszik a magzati fejlődés, ill. morbiditás felbecsülésére.

Az említett indexek abszolút értéket tükröznek és — bár ezeket mindig a mindenkori kontrollok értékéhez viszonyítjuk — alkalmasak matematikai-statisztikai analízisre. Az ivadékok számának és súlyának eloszlása jól közelíti a Gauss-féle normális eloszlást (2. ábra). Ennek alapján elfogadva egy adott kísérletben kapott szórások értékét δ_1 , ill. δ_2), megmondhatjuk, hogy ilyen jellegű vizsgálatok esetén hány kísérleti és kontroll állatra (n) lehet szükségünk, hogy az átlagok közötti adott nagyságú eltérés (Δ) significansnak bizonyuljon. Ennek megfelelően

$$n = \frac{(\delta_1^2 + \delta_2^2) \mu^2}{\Delta^2}$$

képlet alapján adott típusú standard kísérletre hiperbolákat is vehetünk fel, melyeken a μ értékét sorra a normális eloszlás szokásos 5,1 és 0,1%-os szintű significanciájának megfelelő kritikus értékeknek vesszük. Így későbbiekben mindig leolvashatjuk a szükséges állatszámot. A terhes állatok és a veleszületett rendellenességgel sújtott magzatok arányának indexétől eltekintve, amikor a Person-féle χ^2 próba alkalmazható, minden esetben a Student-féle két mintás t próba ajánlható a statisztikai significancia kiszámítására.

Valamely kérdéses noxa alkalmazásakor *első lépésként* érdemes az egész terhesség alatt három (kis, közepes, nagy) — vagy esetleg csak nagy — dózisban vizsgálni az esetleges kyematopathogén hatást. Ha elváltozást nem észlelünk, akkor állítható, hogy a vizsgált törzsre az adott dózisban a kérdéses faktor nem ártalmas. Ártalmas hatás kimutatásakor a *második lépés* a károsodás *típusának* meghatározása. A zygopathiák a praenatalis vizsgálat során a terhes-állatok arányának redukálódása, valamint a korai rezorpciók nagy gyakorisága révén bizonyíthatók. Az embriopathiák a praenatalis vizsgálat során a halott magzatok számának és veleszületett fejlődési rendellenességek arányának növekedése, valamint a súlynövekedés visszamaradása, postnatalis kiértékelés alkalmával pedig a fokozott újszülötthalalózás alapján igazolhatók. A fetopathiák a magzatok súlynövekedésének visszamaradása és — kis relevanciával — a magzati halálózás fokozódása, valamint a postnatalis funkcionális vizsgálatok révén mutathatók ki. A *harmadik lépés* azután már az adott magzati károsodási típuson belül a *legkisebb ártalmas dózis* meghatározása.

Természetesen az így nyert adatok is csak az adott specieresre, sőt azon belül is csupán az adott törzsre vonatkoznak és emberi vonatkozásban — hason-

lóan a kísérletes toxicológiai vizsgálatokhoz — ezek csak támpontot és további vizsgálatok kiindulópontját képezhetik.

Ezúton is köszönetet mondok Fischer Jánosnak a kyematopathogén indexek matematikai-statisztikai értékelhetőségének kérdéséhez adott tanácsaiért.

Összefoglalás

A terhesség alatt kialakuló magzati károsodások, a kyematopathiák kísérletes tanulmányozása egyrészt a fejlődési zavarok aetiopathogenesisének jobb megértését teszi lehetővé, másrészt az emlősállatoknál feltárt törvényszerűségek emberi vonatkozásban is bizonyos támpontot jelenthetnek. A szerző ismerteti — saját tapasztalatai alapján — a patkányok esetén végezhető kísérletes kyematopathológiai vizsgálatok irányelveit. Így kitér a pároztatás elvi szempontjaira és ennek gyakorlati kivitelezésére. Megtárgyalja a terhesség időpontjának megállapítására felhasználható módszereket. A különböző típusú (zygo-, embryo- és fetopathiák) magzati károsodások kimutatása praec- és postnatalisan történhet. A meghatározható és releváns indexek értékelésekor megállapítja, hogy a veleszületett fejlődési rendellenességek kimutatása és így gyakoriságuk meghatározása megbízhatóan nem végezhető el. Viszont a kyematopathológiai vizsgálatok egzaktságát biztosítja az a felismerés, hogy különböző súlyosságú magzati károsodások ugyanazon típusú ártalom megnyilvánulásai, és mivel a magzati halálozás nagy pontossággal meghatározható, ez az index hűen tükrözi a vizsgált noxa ártalmas hatását. Végül javaslattal szolgál a vizsgálatok megtervezéséhez, amikor felvázolja, hogyan lehet három lépésben tisztázni valamely ártalmas tényező kyematopathogén hatását.

IRODALOM

1. BALLANTYNE, J. W.: Antenatal Pathology, 1902. I. 423., cit. Thiersch, J. P.
2. BRUCE, H. M.: Nature, 1959. **184.** 105.; J. Reprod. Fertil., 1960. **1.** 96.
3. CAHEN, R. L.: Clin. Pharmacol. Therap., 1964. **5.** 480.
4. CHALMERS, M. I.: in: Worden, A. N., Lane-Petter, W.: UFAW. II. Ed. London, 1957. 372. o.
5. CRARY, D. D.: Stain Technol., 1962. **37.** 124.
6. CZEIZEL, E., MAJOROSSY, K., KERESZTES, M., GÖRGÉNYI, F.: Magyar. Radiol. 1964. **16.** 355.
7. CZEIZEL, E., PALKOVICH, I.: Egészségtudomány, 1965. **9.** 263.
8. CZEIZEL, E.: Acta Morph. Acad. Sci. Hung., 1965. Suppl. 13. 42.
9. CZEIZEL, E.: Orv. Hetil., 1965. **106.** 2493.
10. CZEIZEL, E., FÁY K-né, PHILIPP Gy.: Egészségtudomány (megjelenés alatt).
11. CZEIZEL, E.: Gyógyszereink (megjelenés alatt).
12. DAWSON, A. B.: Stain Technol., 1926. **1.** 123.
13. DIDCOCK, K., JACKSON, D., ROBSON, J.: Brit. J. Pharmacol., 1956. **11.** 141.
14. FARRIS, E. J.: Anat. Rec., 1941. **81.** 357.
15. FINN, C. A.: J. Reprod. Fertil., 1963. **6.** 205.
16. FINN, C. A.: J. Reprod. Fertil., 1964. **7.** 107.
17. FRAZER, J. F. D.: J. Cell. comp. Physiol., 1954. 43. Suppl. 1.
18. FRAZER, J. F. D.: J. Physiol., 1955. **127.** 25.
19. GOLDMAN, A. S., YAKOVAC, W. C.: J. Pharmac. exp. therap., 1963. **142.** 351.
20. GUNBERG, D. L.: Anat. Rec., 1958. **130.** 310.
21. HAGEMANN, E., SCHMIDT, G.: Ratte und Mause, Walter de Gruyter Co., Berlin, 1960.
22. JUVANČZ, I.: Index-tulajdonságok szerepe az orvosi és biológiai kutatásban. Akadémiai Kiadó, Budapest, 1965.
23. KALTER, H.: Genetics, 1954. **39.** 975.
24. KALTER, H.: Pediatrics, 1959. **23.** 222.
25. KENDRICK, F. J., WEAVER, S. A.: Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.). 1963. **114.** 745.

26. LANDAUER, W.: J. Cell. comp. Physiol., 1954. **43**. (Suppl. 1). 261.
27. LEWIS, W. H., WRIGHT, E. S.: Carnegie Inst. of Wash. 1925. No. 459. 113.
28. LONG, J. A., EVANS, H. M.: The oestrus cycle in the rat and its related phenomena. Univ. of California Press. Berkeley, 1922.
29. MCCAFFERTY, R. E.: Anat. Rec., 1955. **123**. 521.
30. McLAREN, A., MICHIE, D.: J. Reprod. Fertil., 1963. **6**. 139.
31. McLAREN, A.: J. Reprod. Fertil., 1965. **9**. 79.
32. MOREAU, M.: Arch. Anat. Micr. Morph. Exp., 1962. **51**. 95.
33. MURPHY, M. L.: Pediatrics., 1959. **23**. 231.
34. MURPHY, M. L., KARNOFSKY, D. A.: Cancer. (Philad.). 1956. **9**. 955.
35. NANJO, H.: Acta Anat. Nippon, 1963. **33**. 321.
36. NEUMANN, F., JUNKMANN, K.: Endocrinology., 1963. **73**. 33.
37. ROSS, M.: J. Animal. Techn. Ass., 1962. **13**. 10.
38. RUNNER, M. N., MILLER, J. R.: Anat. Rec., 1956. **124**. 437.
39. RUNNER, M. N.: Pediatrics., 1959. **23**. 245.
40. RUSSEL, L. B., RUSSEL, W. I.: J. Cell. comp. Physiol., 1954. **43**. Suppl. 103.
41. SNELL, G. D., FEKETE, K., HUMMEL, P., LAW, L. W.: Anat. Rec., 1940. **76**. 39.
42. STAPLES, R. E., SCHNELL, V. L.: Stain. Technol., 1964. **39**. 61.
43. SUGIYAMA, T.: Acta Sch. Med. Univ. Kioto, 1961. **37**. 139; 149; 160.
44. TARJÁN, GY., CZEIZEL, E., GÖRGÉNYI, F., SZÉKESI, J.: Zbl. Gynäk, (megjelenés alatt).
45. THIERSCH, J. P., PHILIPS, F. S.: Proc. Soc. exp. Biol., (N.Y.). 1950. **74**. 204.
46. THIERSCH, J. P.: Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.). 1957. **94**. 27, 34.
47. TRASLER, D. S.: Science, 1960. **132**. 420.
48. WANG, G. H.: Comp. Psychol., Mono., 1923. **2**. 6.
49. WEST, G. B.: J. Pharm. Pharmacol., 1962. **14**. 828.; 1963. **16**. 63.
50. WHITTEN, W. K.: J. Endocr., 1956. **13**. 399.; 1958. **17**. 307.; 1959. **18**. 102.
51. WINKLER, H., GOETZE, E., MEINERZHAGEN, K.: Acta Biol. Med. German, 1961. **7**. 349.
52. WOOLLAM, D. H. M.: Brit. med. J., 1962. *ii*. 236.
53. WOOLLAM, D. H. M., MILLEN, J. W.: Nature, 1961. **190**. 184.

EXPERIMENTAL INVESTIGATION OF THE KYEMATOPATHIA ON RATS

By

E. Czeizel

The experimental study of the kyematopathies, damages occurring by embryos during gravidity, partly help us to understand the aetiopathogenesis of disturbances of development and partly can give a certain indication of the human connections to the regularities revealed by mammals. The author states — on basis of his own experience — the guiding principle of experimental kyematopathological investigations of cases performed on rats. He mentions the theoretical standpoint of mating and its practical execution. He also discusses the methods which can be applied for ascertaining the time of gravidity. The different types of (zygo-, embryo-, fetopathies) embryonal damages can be established prae- and postnatally. Evaluating the definable and relevant indexes he points out that establishing congenital malformations and so definition of its frequencies cannot be trustworthy. However, precision of the kyematopathological investigation is assured by the fact embryo diseases of a different degree of gravity are the outcome of the same type of damage and as the decease of the embryo can be established with great exactitude, this index reflects the noxious effect of the investigated disease. Finally the investigations suggest a plan for outlining how to define the kyematopathogene effect of some damaging factors in three steps.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КИЗМАТОПАТИЙ У КРЫС

Э. Цейзел

Экспериментальное изучение кизматопатий, повреждений плодов, возникающих во время внутриутробного развития, помогает лучше понимать этиопатогенез нарушения развития. Кроме того, закономерности, открытые у млекопитающих, могут дать некоторые основы и в отношении человека. Автор, на основании собственных опытов, описывает принципы экспериментального кизматопатологического исследования на крысах. Останавливается на вопросах принципов и практического осуществления случки. Обсуждает методы, которые могут быть использованы для определения сроков беременности. Определение различных типов повреждения плодов (зиго-, эмбрио- и фетопатий) могут происходить в пре- и постнатальный периоды. Оценка определяемых и существенных показателей свидетельствует о том, что врожденные аномалии развития и их частота не поддается достоверному определению. В то же время точность кизматопатологических исследований обеспечивается тем фактом, что различной степени аномалии плодов отражают один и тот же тип повреждающего действия, и так как гибель плода определяема с большой точностью, этот показатель достоверно отражает вредное влияние исследуемого фактора. Наконец, автор предлагает планировать исследования в трех этапах, в целях выяснения патогенного действия повреждающего фактора.

KONGRESSZUSI HÍREK

Genetikai sugárkárosodások reparációja

(Genetical aspects of radiosensitivity: mechanisms of repair)

(Bécs, 1966. április 18–22.)

A sugárzások káros biológiai hatásai közül potenciálisan nagyon komoly veszélyt jelentenek a populációkban akkumulálódó és elterjedő genetikai ártalmak. Az ionizáló sugárforrások számának gyors növekedése következtében a szomatikus sugárkárosodások elleni védelem mai fejlettsége mellett a figyelem az öröklődő károsodások megakadályozására terelődött. A fizikai és kémiai sugárvédelem lehetőségeinek kutatása mellett az utóbbi években azok a biológiai mechanizmusok kerültek az érdeklődés középpontjába, melyek révén a sugárzással indukált kromoszóma aberrációk és mutációk reparációja lehetséges.

A Nemzetközi Atomenergia Ügynökség (International Atomic Energy Agency) egyhetes bécsi symposiumán 15 meghívott szakember ezt a kérdést tárgyalta meg három ülésen.

Az első ülés a kromoszóma károsodások reparációjával foglalkozott.

Sh. Wolff (San Francisco) a sugárzással indukált aberrációk megjelenési frekvenciáját befolyásoló tényezők áttekintését adta. A dózis-intenzitáson, frakcionáláson és a sejt osztódási ciklusán kívül aktív anyagcsere és enzimműködés is befolyásolja az aberrációk létrejöttét, éppúgy, mint reparációjukat. Több kísérleti adat igazolja azt a feltevést, hogy a röntgen sugárzás a kromoszóma protein molekulájának elszakítása útján hat. A kromoszóma törés-reunio folyamatában eddig kizárólagosnak tekintett DNS mellett ezzel megnövekedett a protein molekulák jelentősége, teljesebbé, de ugyanakkor bonyolultabbá téve a mechanizmus problémáját.

J. R. K. Savage (Harwell, Anglia) a dózis frakcionálása és a letört kromoszóma darabok kicserélődése közti összefüggést tárgyalta. Az első besugárzás hatására a meghatározott számú érzékeny helyen bekövetkezett kromoszóma rész-károsodások a besugárzási szünetben reparálódnak és így a második frakció hatására letört darabokkal nem cserélődhetnek ki.

S. H. Revell (London) szerint a sugárzással indukált kromatid aberrációk nem aktuális törésekkel kezdődnek, hanem inkább aktivált pontok jönnek létre, melyek azután egymással kölcsönhatásba léphetnek. Így a törés és rész-kicserélődés csaknem egyidőben következik be.

H. J. Evans (Aberdeen, Skócia) a növénykísérletek eredményeiről eddig elhangzott előadások után humán leukocytákkal végzett vizsgálatairól számolt be. A klasszikus törés-újraegyesülés hipotézis kiegészítéseként feltételezi, hogy a besugárzás hatására kelektező kromoszóma folytonossági hiányok (gap) „téves reparációk” következményei.

A második ülésen a szűkebb értelemben vett gén-mutációk reparációs mechanizmusai szerepeltek.

F. H. Sobels (Leiden, Hollandia) a besugárzás utáni reparációk és a *Drosophila* spermatogenesis különböző stádiumai sugárérzékenységének kapcsolatait taglalta. Anoxiás besugárzás után N_2 kezelés az érett spermiumok genetikai reparációját elősegíti, míg a fiatal spermatidáknál ugyanezt O_2 utókezeléssel lehetett elérni.

H. Traut (Münster, Németország) megállapításai szerint a *Drosophila* gametogenesisében megfigyelhető különböző sugárérzékenység oka „a metabolikus reparáció” különböző effektivitása.

R. Devoret (Gif-sur-Yvette, Franciaország) az *Escherichia coli* sejtek ultraibolya besugárzás hatására gátolt phag-szaporító „kapacitásának” megváltozásairól tudósított. A sugárhatás elsősorban nem a phag-szintetizáló baktérium struktúrákat érinti, hanem a sejtek reparációs folyamatait, melyek indirekt úton a phagban, ill. a prophagban levő információkat módosítják.

A. Rörsch (Rijswijk, Hollandia) részletesen ismertette öt *E. coli* törzs sugárérzékenységének genetikai kontrollmechanizmusát, azon gén locusok kapcsolódási csoportjainak analízisével, melyekhez a különféle UV és röntgen sugárérzékenységet determináló mutációk tartoznak. Az *in vitro* UV-vel besugárzott DNS reparációját sejtmentes rendszerrel is demonstrálta.

A molekuláris szintű reparációk megvitatása képezte a harmadik program-pontot.

P. C. Hanawalt (Palo Alto, Kalifornia) a baktérium genom ún. replikációs reparációjáról tartott beszámolót. Az *E. coli* sejtekben funkcionáló nem konzervatív DNS replikációs mechanizmus a normális kromoszóma megduplázódáson és kódátíráson kívül valószínűleg résztvesz az UV sugárzás hatására keletkezett különféle DNS defektusok helyrehozatalában is.

B. M. Wilkins (London) a genetikai rekombinációs és a sugárkárosodott DNS reparációs mechanizmusainak hasonlóságával foglalkozott. Valószínű, hogy mindkét esetben az egyik DNS fonál enzimatis lebotása utáni replikáció vezet a szerkezetileg folyamatos új molekula kialakulásához.

Igali S. (Budapest) a DNS antimutagén hatásáról számolt be. Az *E. coli* sejtekkel együtt besugárzott homológ DNS hatására az indukált back-mutációk frekvencia mintegy 30%-kal csökkent.

M. Errera (Brüsszel) a DNS mutációs megváltozásait és az ezzel kapcsolatban fellépő fehérje átalakulásokat ismertette irodalmi összefoglalójában.

D. Shugar (Varsó) *in vitro* UV-vel besugárzott poli-, oligonukleotidok és pirimidin analógokban bekövetkező revertálható kémiai változásokról számolt be.

S. Robev (Szófia) a besugárzás utáni DNS/mRNS hibridképződés alapján azt a következtetést vonta le, hogy mindkét molekulaféleség sugárérzékenysége közel azonos.

K. G. Zimmer (Karlsruhe, Németország) inaktivációs kísérleteinek ismertetésével a túlélési görbék interpretációjának néhány általánosan elterjedt hibájára hívta fel a figyelmet.

A megbeszélés utolsó napján a résztvevők a sugárgenetika néhány aktuális problémáját vitatták meg.

Ezek közül egyik legfontosabb a különféle ágensek által a nukleinsavakban előidézett változások természete. Az ide vonatkozó ismeretek nagy része az UV-re vonatkozik, nagyon keveset tudunk az ionizáló sugarak és a kémiai

mutagének hatásmechanizmusáról. A részvevők nyomatékosan felhívták a figyelmet, hogy az ionizáló sugárzások hatásmechanizmusának mielőbbi tisztázása a genetikai reparációk megértésének és esetleges befolyásolásának alapfeltétele.

A másik fontos kérdés a genetikai reparációk folyamata volt. Mindenki egyetértett azzal, hogy az ismert reparációs mechanizmusok csaknem mindegyike több génnel kontrollált enzimszisztéma, és hogy a DNS „hibák” kijavításához szükséges szintézis DNS replikáció nélkül is lehetséges. Az viszont még nem világos, hogy a különféle anyagcsere gátlások a reparációhoz szükséges új enzimek szintézisét, vagy a már meglévőket működésük akadályozzák-e meg.

A DNS replikációs reparáció és a genetikai rekombináció közti összefüggés valószínűleg látszik, de mivel ezek modelljei mind a DNS molekulák, az eredmények átvitele a fejlettebb élőlények meiosisára nagyon nehéz, hiszen a kromoszóma több DNS fonálból áll és az RNS-en kívül még legalább kétféle fehérjét is tartalmaz.

Élénk vita alakult ki a sugárzással indukált achromatikus kromoszóma folytonossági hiányokról (gap). Ezek úgylátszik teljes mértékben reparálhatók, bár nem ismeretes, hogy vajon a mikroszkópban megfigyelhető folytonossági hiány a DNS molekulák folyamatosságát is megszakítja-e.

Befejezésül a részvevők a támogatásra fontosnak tartott kutatási irányokra tettek javaslatot. Ennek alapján a szomatikus és genetikai sugárkárosodás molekuláris természete, a mutációk és aberrációk kialakulásának befolyásolása, a reparáció mechanizmusának tisztázása, valamint a molekuláris és kromoszómális szinten szerzett ismeretek integrálása bizonyultak megoldásra váró legfontosabb problémáknak.

A symposium az Űgynökség bécsi székházának egyik korszerűen és ízlésesen berendezett légkondicionált tárgyalótermében volt. A rendezés magas színvonalának jellemzésére elegendő annyit megemlíteni, hogy a részvevők az előadások teljes szövegét megérkezésükkor megkapták. Így a szöveg alapos tanulmányozása után felkészülten tudtak résztvenni a témakörüktől néha távolos, de általános fontosságú kérdések megvitatásában.

A Nemzetközi Atomenergia Űgynökség évek óta folyó jól bevált symposium sorozatának tanulságait mi is megszívlelnénk. A hazai biológia fejlődését is eredményesebben szolgálná, ha az eddig szokásos nem túlságosan produktív egyes tematikájú előadásorozatokat fokozatosan felváltanák szakemberek egy-egy kiemelt, időszerű problémával foglalkozó kerekasztal megbeszélései. Ezek nemcsak a részvevőknek jelentenének nagyobb előnyt, hanem a publikálásra kerülő anyag az ország egész tudományos közvéleménye számára is hasznos lenne.

Dr. Igali Sándor

(Országos Frédéric Joliot-Curie Sugárbiológiai és Sugáregészségügyi Kutató Intézet, Budapest)

Sugárbiológia 1966-ban

(3rd International Congress of Radiation Research,
Cortina d'Ampezzo, 1966. június 26—július 2.)

A kanadai Burlington és az angliai Harrogate után az idén harmadszor a festői észak-olasz üdülőhelyen gyűltek össze a sugárzások hatásaival foglalkozó kutatók, hogy számot adjanak az utóbbi négy évben elért eredményekről. A kongresszus sem a résztvevők, sem a bejelentett előadások számát tekintve nem tartozott a legnagyobbak közé (kb. 1000, ill. 953), viszont tematikáját tekintve nagyon sokrétű volt. A sugárzás és az anyag kölcsönhatásainak vizsgálata ugyanis csak a fizika, kémia, biológia és technika módszereinek széleskörű felhasználásával végezhető eredményesen. Ezt tükrözte a kongresszus gazdag programja is. Ennek a széles spektrumnak azonban — a legkülönbébb tudományágaknak egy problémára összpontosított eredményes kollaborációja mellett — éppen a szerteágazás jelenti az egyik legnagyobb nehézséget. Ezért szinte lehetetlen teljességre törekvő beszámolót írni róla.

A szervező bizottság célkitűzése — a sugárzás alapvető biológiai hatásainak átfogó prezentálása — a reprezentatív symposiumokon valósult meg. Itt a szakterületek nemzetközileg elismert tudósainak előadásaiból a legmodernebb kép rajzolódott ki a nagyszámú hallgatóság előtt a sugárzás és anyag kölcsönhatásba lépésétől kezdve a sejtek reakciójáig.

A symposiumok sorát — akárcsak a radiobiológiai események sorozatát — a sugáregergia atomi szinten történő átadásának problémája nyitotta meg. Az energiaátadást követő primér események (gerjesztés, ionizáció, elektronfelszabadulás), a többszörös ionizáció és a lassú neutronok energiaátadása került megvitatásra.

A következő fontos kérdés a sugárzás által indukált reaktív gyökök keletkezése, identifikálása, mérése, hatásuk szervetlen és szerves rendszerekben. Külön figyelmet és időt szenteltek a víz radiolysisének gáz, folyékony, szilárd halmazállapotban, a keletkezett redukáló és oxidáló gyököknek, valamint ezek diffúziójának. A mesterséges polimérek besugárzása a molekulák degradációjával, vagy keresztkötések kialakulásával megváltoztatja az anyagok tulajdonságait. A jelenség ipari alkalmazása éppoly jelentős, mint felhasználása biológiai modell-kísérletekben. Így érthető, hogy külön ülésen tárgyalták meg ezeket a kérdéseket.

A „Sugárhatás Biológiai Makromolekulákra” c. symposium az élet szempontjából kulcsfontosságú fehérjével és DNS-el foglalkozott zsúfolásig telt előadóteremben. A DNS molekula károsodása elsősorban két legfontosabb sugárérzékeny pontján, a foszfát-észterkötésen és a pirimidin nukleotidokon keresztül ható energiaátadással indul meg. Részletesen hallottunk még a különféle bázis analógok radioszenzibilizáló hatásairól is.

Két symposium foglalkozott sugárgenetikával. Kiemelt témaként szerepelt a sugárhatás a genetikai kód átírására, a sugárzások letális, mutagén és kromoszóma aberrációt kiváltó hatása, az így keletkezett károsodások reparációja. Ma már kellően megalapozottnak látszik az a feltevés, hogy mind a mutációk fixálódásához és expressziójához, mind a rendellenes kromoszómarész reparációjához aktív, befolyásolható enzimatis folyamatok — nukleinsav és fehérje szintézis szükséges.

Különös érdeklődésre tartott számot a sugárkárosodások molekuláris reparációjával foglalkozó symposium. Itt vitatták meg a sugárbiológia egyik legjelentősebb felfedezését — a korrigáló enzimszisztemeket. Számos megfigyelés utal arra, hogy a sugárzás hatására bekövetkező DNS fonálszakadás bizonyos idő múltán eltűnik rezisztens sejtekben, akár csak a timin dimerek. Olyan enzimszisztem közreműködésével, amely felismeri és kivágja a hibás szimpla és összekapcsolt dupla fonalrészeket, majd kipótolja az így keletkező hézagot. Ez a molekuláris reparációs mechanizmus nemcsak a UV okozta defektusokat képes helyrehozni, hanem valószínűleg az ionizáló sugárzással és különféle vegyületekkel módosított DNS-et is.

A sugárhatás sorrendjét követő symposiumok sorát a sejtpopulációkkal foglalkozó téma zárta le. A hangsúly a sugárzásnak különféle sejtszisztemekre gyakorolt letális hatásán volt, ami különösen a rákterápiában döntő fontosságú.

A fentiekén kívül még három symposiumot tartottak. Egyik az UV sugárzás biológiai hatásaival foglalkozott. Itt a nukleinsavak fotoproduktumairól, ezek károsító hatásairól, baktériumsejtek letális károsodását helyrehozó génekről és enzimekről, valamint phag és baktérium gazdasejt reaktivációjáról volt szó.

A fotodinámiás hatásokkal 8 referátum foglalkozott, a legkülönbözőbb fotoszenzitiváló anyagok és hatásaik részletes taglalásával.

Nagy érdeklődés mellett zajlott le a sugárzásnak az élet keletkezésében játszott szerepével foglalkozó symposium. A főtéma a különböző sugárzások és hő szerepe volt a legelső sejtprecursoroknak tekinthető szerves vegyületek mesterséges szintetizálásában. Prebiotikus feltételek mellett egyszerű vegyületekből sugárzással purin-, pirimidinbázisokat, ribózt, sőt nukleozidokat és nukleotidokat is tudtak szintetizálni. Mások alfa-aminosavak polimerizációjával sejtszerű struktúrákat hoztak létre.

A 10—14 parallel szekcióban folyó előadások, a symposiumok gondosan szelektált tematikája után a sugárzás-kutatás teljes spektrumát ontották a résztvevőkre. Igaz ugyan, hogy a bejelentett előadásokat „csak” 57 témakörbe csoportosították, de természetesen a valóságban ez sokkal többet jelentett. Így aztán a hallgatónak — ha programját netalán egyéni érdeklődésének megfelelően állította össze — egyik előadóteremből a másikba kellett sietnie. Dehát ez a nagy kongresszusok természetes velejárója.

Az ülések programja egy kisebb sugárbiológiai könyv indexének is beillett volna. A sugárbiológia elméleti kérdései mellett hallhattunk előadásokat a sugárzások primér, szekundér és késői — kémiai, biokémiai, genetikai, fiziológiai, immunológiai, patológiai, onkológiai, morfológiai, ökológiai hatásairól; a sugárvédelemről, a sugárkárosodások reparációjáról, az inkorporált radionuklidok hatásairól, a sugárérzékenységről és rezisztenciáról; hormonok és enzimek, szaporodás és viselkedés sugárbiológiai vonatkozásairól; pulzáló és villanó besugárzások következményeiről. Beszámolni lehetetlen róluk, akit érdekel a kongresszus megjelenő anyagában megtalálja a megfelelő összefoglalókat és előadásokat. Az előadások semmi szenzációs újdonságot nem hoztak, viszont a kongresszus rendkívül hasznos volt a szakemberek közötti személyes kapcsolatok fejlesztése szempontjából.

A magyar sugárbiológusok nagyon szépen szerepeltek: a 30 jelentkező közül 14-en vettek részt, és ugyanennyi előadást tartottunk. (Miénk volt a népi demokráciák legnépesebb küldöttsége, de a kisebb nyugati országok közül is csak Hollandia és Belgium előzött meg bennünket.)

A kongresszus után vasárnap tartotta ülését az Európai Sugárbiológusok Társasága. A kongresszus alatt többször ülésezett a Nemzetközi Sugárkutatók és Fotobiológusok Társasága is. Sajnos magyarok nélkül, mert sugárbiológiai társaság hiányában nem lehetünk tagjai a nemzetközi organizációnak.

A tudományos program körítése nagyon szép volt. Sokáig nem lehet elfelejteni a hatalmas, de mégis keces olimpiai jégstadionban tartott ünnepi üléseket és fogadást, a cortinai Valsella kórus koncertjét, a gyönyörű Dolomitokban tett félnapos autóbusz kirándulást, de különösen nem a 3000 méteres Sorapis tövében levő, egyik festői hegyi réten megrendezett partyt, ahol alpesi fuvószenekar hangjai mellett ették a résztvevők a nyársonsült csirkét puliszkával és itták mellé a tüzes toszkánai chiantit.

Az ilyen élmények elhomályosították a rendezés néhány hiányosságát és egyéb apró kellemetlenség nyomát. Pl. miért kell hátrányt szenvedniök azoknak a kutatóknak, akik nem angol nyelvterületen élnek? A kongresszus hivatalos nyelve ugyanis kizárólagosan az angol volt.

Mindent összevetve a 3. Nemzetközi Sugárzáskutatási Kongresszus méltó seregszemléje volt a rohamosan fejlődő kutatásoknak. Sok hasznos ismeretet, ismeretséget és ötletet hoztunk haza, hogy hasznosítsuk saját munkánkban.

Dr. Igali Sándor

(Országos Frédéric Joliot-Curie Sugárbiológiai és Sugáregészségügyi Kutató Intézet, Budapest)

SZAKOSZTÁLYI HÍREK

AZ ÁLTALÁNOS BIOLÓGIAI SZAKOSZTÁLY HISZTOKÉMIAI SZEKCIÓJÁNAK HÍREI

A Magyar Biológiai Társaság Általános Biológiai Szakosztályában 1959-ben merült fel a kérdés, hogy a Szakosztály tagjaiból és más érdeklődők közreműködésével Hisztokémiai Szekció alakuljon, amely tömörítse a hisztokémia és citokémia hazai művelőit. Az 1959. november 6-án tartott ülésen a Magyar Biológiai Társaság Választmánya meghallgatta Törő Imre professzor javaslatát és egyhangúlag elhatározta, hogy támogatja a Hisztokémiai Szekció megalakítását.

A Hisztokémiai Szekció első szakülését 1960. május 3-án tartották. Az azóta eltelt időben évenként 3—3, eddig összesen 18, tudományos ülést rendeztek, amelyeken prominens külföldi és hazai kutatók — sokszor szokatlanul nagy érdeklődés közepette — összesen 62 előadást tartottak az elméleti és alkalmazott hisztokémia legkülönbözőbb kérdéseiről.

A Szekció jelenlegi taglétszáma mintegy kilencven fő, elnöke Prof. Dr. Törő Imre, a titkári teendőket pedig Dr. Rappay György látja el.

A Szekcióban 1966-ban eddig két szakülésre került sor.

1966. február 10-én tartott 17. szakülés

Elnök: Dr. Törő Imre. Jelenlevők száma: 45.

1. Aros Béla—Teichmann Ingeborg: *Gerinctelenekben lejátszódó neurosecretios jelenségek és azok hisztokémiai vizsgálata.*

2. Vigh Béla—Teichmann Ingeborg: *Gerincesekben lejátszódó ependymosecretios jelenségek és azok hisztokémiai vizsgálata.*

3. Zs. Nagy Imre: *„Neurosecretios” rendszerek vizsgálata puhatestű állatokban.*

Hozzászólók: Palkovits Miklós, Bierbauer József, Nagy Mária, Rölich Pál, Vigh Béla, Barek Istvánné, Polgár Mária, Balogh György, Balázs András, Teichmann Ingeborg.

1966. április 7-én tartott 18. szakülés

Elnök: Dr. Baló József. Jelenlevők száma: 26.

1. Módis László—Földes István: *A szöveti basophilia hisztokémiai vizsgálatinak módjai.*

Hozzászóló: Rappay György.

2. Fischer Ernő: *Az anorganikus alkalikus pyrophosphatase hisztokémiai demonstrációs módszereinek kritikai vizsgálata.*

Hozzászolt: Tanka Dezső.

3. Bácsy Ernő—Vadász György: *Az inkubálóoldat egyes komponenseinek hatása a nem-specifikus észterázok hisztokémiai lokalizálására.*

A Szekció Vezetősége a jövőben rendszeresen kívánja tájékoztatni a Biológiai Közlemények Olvasóit a Szekció híreiről és ezúton is *kéri a szakülések előadóit, hogy előadásaik rövid kivonatát a Hírekben való közlés céljából juttassa el a Szekció titkárához.*

Dr. Rappay György

AZ ÁLTALÁNOS BIOLÓGIAI SZAKOSZTÁLY PROTOZOOLÓGIAI SEKCIÓ SZAKÜLÉSEI

4. szakülés

1966. március 25. (Budapest, MTA kisterem). Jelenlevők száma: 26.

Elnök: Dr. Zoltai Nándor és dr. R. Stiller Jolán.

1. R. Stiller J.: *Protistológiai kutatások múltja a 75 éves rovinji tengerbiológiai intézetben.*

Szerző ismerteti az 1966. tavaszán fennállásának 75. évfordulóját ünneplő rovinji tengerbiológiai intézet történetét, különös tekintettel ott dolgozó hírneves protistológusok kutatásainak nagy jelentőségű eredményeire. Előadását színes diapozitívek vetítésével kíséri.

Hozzászóló: ZOLTAI N.

2. EMBER M., † JÁNOSSY G., MINDSZENTY L.: *A-vitamin státus vizsgálata giardiás gyermekeknél*

A szerzők — hivatkozva a Biológiai Társaság Protozoológiai Szekciójában korábban elhangzott előadásukra (1965) — ismertetik az ember A-vitamin státusára jellemző adatokat. Így bemutatnak A-vitamin terhelési módszereket egészséges egyénekre vonatkozóan. Az A-vitamin anyagcsere követése során Yardley és munkatársai (1965) biopsziás jejunum vizsgálatáról készült mikroszkópos és elektronmikroszkópos felvételeivel is alátámasztva ismertetik a jelenleg kialakult álláspontot, giardiával fertőzött egyének nem intakt vékonybél szakasza és a zavart A-vitamin felszívódás között.

Saját vizsgálataikat *nem kórházi* betegeken, ún. „egészséges cystahordozókon” zárt kollektívában végezték, és különböző kezeléseket hatásukat vizsgálták olyan giardiás gyermekeken, akik évek óta azonos körülmények között élnek.

Az alkalmazott kezelések: 5 napos atebrin kúra; majd ezt követően 2-napos A-vitamin terhelés; atebrin kúra nélküli 2 napos A-vitamin terhelés; atebrin kúra nélküli 4 napos karotin terhelés.

Az eredményeket összegezve megállapítják, hogy

1. atebrin kúra hatására az A-vitamin státus a kezdeti értékhez képest jelentősen megemelkedik,

2. atebrin kúra nélkül kivitelezett A-vitamin terhelésnél a felszívódás maximuma a normál időponthoz képest időben eltolódik, és a *kezdeti alacsony* vitamin státus áll vissza a fertőzötteknél, rövid idő alatt,

3. atebrin kúra nélkül kivitelezett karotinterhelésnél csak a szérum karotin szintje emelkedik meg, az A-vitamin status csak lényegtelenül változik,

4. atebriin kúra után beállt A-vitamin státusra nincs jelentős hatással a kúra után adott 2 napos A-vitamin terhelés, rövid idő (24 óra) után terheléssel és terhelés nélkül is nagyjából azonos szintre áll be az A-vitamin státus, gyógyult giardiásoknál.

Összefoglalva: Szerzők azt a következtetést vonják le, hogy a giardiasis világméretekben elterjedt volta miatt nagyobb figyelmet kell fordítani a betegség felismerésére és kezelésére, miután a giardiasis ún. másodlagos A-vitamin hiányállapotot idéz elő, amely különösen gyermekeknél, a betegség 2–3 éves elhúzódása miatt számos veszéllyel jár.

Hozzászóló: ZOLTAI N.

3. HAMPPEL M.: *A Giardia lamblia cysta dúsításának új módszere*

Új módszerünknel alapoldatnak megtartottuk a Faust-féle dúsításhoz használt 1180 fajsúlyú, 33%-os cinkszulfát oldatot. Ebbe törjük fel a faecest. A makroszkopos durva szennyeződésekkel leöntjük, majd az ismét felöntött kémcső felületére 0,1–0,2 ml 1%-os 1010 fs. timsó oldatot rétegezzük. Az így előkészített anyagot 4000/min.-os fordulatszámmal 5 percig centrifugáljuk. A centrifugált anyag tetejére 0,1–0,2 ml 1%-os eosint cseppentünk. A tárgylemezre kiemelt felülúszóban a Giardia lamblia cysta a felületen lebeg a vörös mezőben, jellegzetes kékes-zöldes színű. Az új módszer előnye, hogy a cysták 16–18 órás állási idő után is kimutathatók, 24 óra után még felismerhető, de már enyhén zsugorodott alakok jelennek meg.

Hozzászóló: ZOLTAI N.

4. DRUGA A., LANTOS T.: *Fehérje-, szénhidrát- és lipid szint változásainak hisztokémiai vizsgálata ismételt éheztetés és újraetetés hatására Parameciumnál*

Szerzők a szénhidrát, lipid és fehérje tartalom változásait vizsgálták ismételt éhezés és újraetetés kapcsán, Paramecium multimicronucleatumnál. Hisztokémiai reakciók bemutatásával alátámasztották, hogy a vizsgált egysejtűek számára a könnyen mobilizálható tartalék tápanyagot a lipidek képviselik, míg hosszabb időre tápanyagot szénhidrátok formájában raktároznak. A fehérjéknek, mint strukturális anyagoknak mennyiségében számottevő változás nem észlelhető.

Hozzászóló: POLGÁR M., ZOLTAI N.

5. LANTOS T., VARGA GY., DOMÁN V.: *Alkaloidok hatása a Paramecium multimicronucleatum K-reverziójára, mozgására és vakuolumképzésére*

Szerzők munkájukban az egysejtűek ingerületi folyamatainak alapját képező finomabb mechanizmusok megismerésében igyekeztek előbbre jutni. Az alkaloidák csoportjába tartozó hatóanyagok közül elsősorban az acetilkolin-kolinesteráz rendszert befolyásolókat vették vizsgálat alá. Kísérleteik azt mutatják, hogy az acetilkolin-kolinesteráz rendszert specifikusan befolyásoló anyagok egyértelmű változásokat idéznek elő az egysejtűek ingerületi folyamataiban is. Így bizonyos koncentráció hatására az állatok reverziója, tehát ingerületi állapota megnyúlik. Magyarozatként feltételezhető, hogy érvényesül az ingerületi folyamatban az acetilkolin depolarizáló hatása. Szerzők az acetilkolin, a fizostigmin, a diizopropilfluorofoszfát és az atropin, valamint a novokain és a koffein hatásainak elemzése alapján megállapítják, hogy az acetilkolin-kolinesteráz rendszer nemcsak a galvanotaxisban, hanem az egysejtűek más reakcióiban is igen fontos szerepet játszik. Szignifikáns eredményeket kaptak az előbbiektől eltérő hatású alkaloidakkal: Redergammal és kolchicinnel is. A bemutatott kísérletek szerint a Paramecium egyes farmakológiai hatású anyagokra ugyanolyan értelemben reagál, mint más ingerlékeny sejtek,

ideértve a magasabbrendűek idegsejtjeit is. Figyelemre méltó, hogy a különféle anyagok kisebb koncentrációban csak az ingerületi állapotra vannak hatással, és nem befolyásolják a Paramecium nyugalmi állapotát jelentő mozgást. A vakuolum kialakítás képessége szintén csak tendenciákban követi az előbbi reakciókat. A normalis mozgás és egyéb sejttevékenységek, valamint az ingerületi reakció alapvető mechanizmusaiban tehát bizonyos különbségeket kell feltételezni.

Hozzászóló: ZOLTAI N.

Dr. Lantos Tibor

A kiadásért felelős: Az Akadémiai Kiadó igazgatója

Műszaki szerkesztő: Merkly László

A kézirat nyomdába érkezett: 1966. XII. 6. — Példányszám: 1000 — Terjedelem: 7,35 (A/5) ív + 8 old. műmelléklet

67.63194 Akadémiai Nyomda, Budapest — Felelős vezető: Bernát György

MADE IN
MIDDLETOWN MASSACHUSETTS
EUNYVZANA

Ára: 12,— Ft

Évi előfizetési ára: 20,— Ft

INDEX: 26.073

TARTALOMJEGYZÉK — INDEX

<i>Szemere Gy., Kiszely Gy., Szontágh F.</i> : Az Y chromosoma terhesség alatti eliminációjának szerepe a sexualproportio kialakulásában — Role of the Y chromosome's elimination during pregnancy in formation of the sexual-proportion — Роль элиминации У-хромосомы во время беременности в образовании половой пропорции	63
<i>Novák V. J. K.</i> : Fajon belüli egyedek társas hajlamai vagy kapcsolatai — a szervezet evolúciójának egyik alaptörvénye	69
<i>Tóth S.</i> : Az elektroretinográfia alapvető irányzatai	81
<i>Gyurján I., Láng F., Pacséry M.</i> : Normális és mutáns kukoricalevelek $^{14}\text{CO}_2$ asszimilációja különböző megvilágítási viszonyok között — Assimilation of normal and mutant maize leaves under different conditions of illumination — Ассимиляция $^{14}\text{CO}_2$ листьями нормальной и мутантной кукурузы при различных условиях освещения	97
<i>Nagy M.</i> : Folyami kagylók (<i>Unio pictorum</i>) ganglionsejtjeinek lipofuscinján végzett experimentális vizsgálatok — Experimental investigation carried out on the lipofuscin of the fresh water mussel (<i>Unio</i>) — Экспериментальное исследование липофусцина в клетках ганглия речных моллюсков (<i>Unio pictorum</i>)	107
<i>Hortobágyi T., Vigassy J.</i> : Mikroszervezetek a csillebérci atomreaktor sugárzásoknak kitett vízköréiben — Mikroorganisms exposed to irradiations in the water circuits of the Csillebérc atomic reactor — Микроорганизмы в циркулирующей воде атомного реактора на Чиллеберце	113
<i>Czeizel E.</i> : A kyematopathiák kísérletes vizsgálata patkányokon — Experimental investigation of the kyematopathia on rats — Экспериментальное исследование киематопатий у крыс	121
Kongresszusi hírek	
Genetikai sugárkárosodások reparációja (<i>Igali S.</i>)	134
Sugárbiológia 1966-ban (<i>Igali S.</i>)	137
Szakosztályi hírek	
Az Általános Biológiai Szakosztály Hisztokémiai Szekciójának hírei (<i>Rappay Gy.</i>) 140	
Az Általános Biológiai Szakosztály Protozoológiai Szekciójának szakülései (<i>Lantos T.</i>)	141

A kiadvány előfizethető és példányonként megvásárolható:
az AKADÉMIAI KIADÓ-nál, Budapest V., Alkotmány u. 21.
Telefon: 111—010. Csekkbefizetési számla: 05,915,111—46.
MNB egyszámlaszám: 46.
az AKADÉMIAI KÖNYVESBOLTBAN: Budapest V., Váci u. 22.
Telefon: 185—612.
Előfizetési díj egy évre: 20,— Ft.