

1304.441

[Handwritten signature]

BIOLÓGIAI KÖZLEMÉNYEK

A MAGYAR BIOLÓGIAI TÁRSASÁG
ÁLTALÁNOS BIOLÓGIAI SZAKOSZTÁLYÁNAK FOLYÓIRATA

Szerkesztő
FALUDI BÉLA

XVII. kötet

1. füzet



AKADÉMIAI KIADÓ, BUDAPEST 1969

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 különlenyomat és ívenként 400 Ft tiszteletdíj illeti meg.

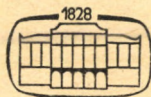
BIOLÓGIAI KÖZLEMÉNYEK

A MAGYAR BIOLÓGIAI TÁRSASÁG
ÁLTALÁNOS BIOLÓGIAI SZAKOSZTÁLYÁNAK FOLYÓIRATA

Szerkesztő
FALUDI BÉLA

XVII. kötet

1. füzet



AKADÉMIAI KIADÓ, BUDAPEST 1969

Szerkesztő bizottság:

GUBA FERENC, GYÖRFFY BARNA, HORVÁTH JÁNOS
KISZELY GYÖRGY, KOVÁCS JÁNOS, TÖRÖK LÁSZLÓ

Technikai szerkesztő:

BALÁZS ANDRÁS

MAGYAR
TUDOMÁNYOS AKADÉMIA
KÖNYVTÁRA

HIDROLITIKUS ENZIMEK AKTIVITÁSÁNAK ELEKTRONMIKROSKÓPOS VIZSGÁLATA IN VITRO TENYÉSZTETT PATKÁNY THYMUS-SEJTEKBEN

ÖKRÖS ISTVÁN, FAZEKAS ILONA, BÁCSY ERNŐ, RAPPAY GYÖRGY, TÖRŐ IMRE

MTA Kísérleti Orvostudományi Kutató Intézet (Igazgató: Prof. Dr. Ruzsnyák István
akadémikus)

Beérkezett: 1969. április 6-án

Az intakt thymus-szövet különféle retikulumsejtjeinek szerkezeti sajátosságait az utóbbi évtized elektronmikroszkópos munkái lényegében tisztázták [2, 5, 7, 8, 9, 10, 17]. Vitatott maradt azonban a sejtek működésének kérdése. A működés megismerésének feltétele olyan körülmények megteremtése, amikor a sejtek viszonylag tiszta populáció formájában állnak rendelkezésünkre. Ezt a célt korábbi munkáinkban [17, 19] szubletális röntgen dózissal sugárzott patkányok thymuszainak vizsgálatával próbáltuk elérni. Megállapítottuk, hogy a retikulumsejtek savanyú foszfatáz (SF) aktivitásuk megoszlása szempontjából is legalább két típusra oszthatók: a mezenchymális retikulumsejtekben az enzim aktivitása tekintélyes volt, a hámrétikulumsejtekben mérsékeltabb enzimaktivitást figyeltünk meg elektronmikroszkópos hisztokémiai módszerrel. Fénymikroszkópos kombinált enzimreakciókban az említett két sejtípus több változatát véltük elkülöníteni.

Ebben a munkánkban a thymus retikuláris alapvázat képező sejtek thymocytáktól mentes vizsgálhatóságát úgy igyekeztünk megoldani, hogy a patkány thymus-szövetből darabokat explantáltunk, és megvártuk a thymocyták eliminálódását vagy transzformálódását. Ezt a módszert annál is inkább választottuk, mert a thymus-szövet és ezen belül a retikulumsejtek in vitro tenyésztése már sikerrel járt [14, 16, 18, 20]. Vizsgálataink célja az volt, hogy eldöntsük, megváltoztatják-e a tenyésztés körülményei a különféle retikulumsejtek szerkezetét és enzimhisztokémiai sajátosságait.

Anyagok és módszerek

Szövettenyésztés. Wistar eredetű 80—90 g-os hím fehér patkányok thymuszaiból aszeptikus körülmények között kb. 1 mm³ térfogatú szövetdarabkákat fedőlemezre szélesztett tyúkplazma és csirkeembrióle keverékéből készült alvadéokra ültettünk ki. Egy-egy fedőlemezre 5 szövetdarabkát tettünk és a lemezeket Leighton-csővekbe (Belco) helyeztük. A tenyészetekre 24 óráig nem került folyadék. 24 óra múlva a csövekhez 2—2 ml tápfolyadékot adtunk, amely 80% kémiailag definiált folyadékot (TCM 199, Difco), 20% hő-inaktívált borjúsavót és 200 IE/ml penicillint tartalmazott. A tápfolyadékot két naponként cseréltük. A tenyészeteket a kiültetéstől számított negyedik és harmadik nap között különböző időpontokban fixáltuk.

Elektronmikroszkópos vizsgálatok

Tenyészetek. A tenyészeteket a hordozó fedőlemezzel együtt 0,13 M-os, pH 7,4-es kakodilát pufferrel hígított 3–4,5%-os glutáraldehidben 30–120 percig fixáltuk, majd a fixáló koncentrációjától és a fixálás időtartamától függően a hígító pufferrel 1–16 óra hosszát mostuk. Ezután a kultúrákat vagy kakodilát pufferben oldott 1%-os ozmiumtetroxiddal 30–90 percig utánfixáltuk és beágyaztuk, vagy hisztokémiai reakciókat végeztünk rajtuk.

Az SF aktivitásának kimutatásához a kultúrákat az előfixálást követő mosás után szárazjéggel fagyasztottuk, majd szobahőre felengedtük. Az inkubáló oldat pufferével való 15 perces mosás után szobahőn 1 óráig 0,08% ólomnitrátot és 0,3% nátrium-béta-glicerofoszfátot tartalmazó acetát pufferben (0,05 M-os, pH 5,3) inkubáltunk, kétszer 90 percig mostunk az inkubáló oldat pufferével, majd 90 percig pH 7,4-es kakodilát pufferrel.

A nonspecifikus észteráz (NSE) kimutatására ólom-tioecetsavas módszert használtunk [12], 4 °C-on 30–60 percig inkubáltunk.

Arilszulfatáz (AS) kimutatására báriumsós módszert [6] használtunk. A para-nitro-katechol-szulfát koncentrációja az inkubáló oldatban 0,4%, az inkubálási idő pedig szobahőn 60 perc volt.

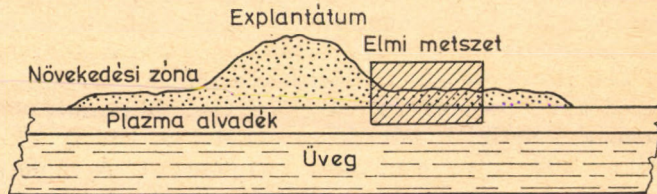
Az AS és a NSE inkubálás előtt 15–20 perces, utána 30 perces mosást végeztünk az inkubáló oldat pufferével. Ez utóbbit kétszer 30 perces pH 7,4-es kakodilát pufferes mosás követte.

Az SF reakció után másfélórás, az AS és a NSE reakció után 30 perces ozmiumtetroxid utánfixálás következett. Az inkubálásokat kivéve az eddigi műveletek 4°C-on történtek.

A víztelenítés etanollal történt. A 70%-os etanolban a kultúrákat a plazmaalvadékkal együtt a hordozó fedőlemezről borotvapengével leválasztottuk és a továbbiakban üveglemez nélkül kezeltük. A Durcupan ACM-be való ágyazás propilénoxid közbeiktatásával történt.

Szervdarabok. A kultúrákhoz felhasznált állatok thymuszából kivett apró darabkákat 4,5%-os glutáraldehidben 2 óra hosszát fixáltuk, majd 16 órán keresztül kakodilát pufferben mostuk és vagy másfélórás 1%-os ozmiumtetroxidos utánfixálás után a szokásos módon Durcupan ACM-be ágyaztuk, vagy hisztokémiai reakciónak vetettük alá.

Az SF és AS reakciókat 40 mikron vastag kriosztát-metszeteken úsztatva, az NSE reakciót pedig borotvapengével készített vékony szövetszeleteknek az oldatba való merítésével végeztük. Az inkubáló oldatok összetétele és az inkubálás körülményei megegyeztek a kultúráknál leírtakkal. Ezeket az anyagokat is a már leírt ozmiumtetroxidos utánfixálás és Durcupan ACM beágyazás után vizsgáltuk.



1. ábra. A kultúrák orientálása ultravékony metszetek készítésére.

Az ultravékony metszeteket Om U2-es Ultramikrotommal (Reichert) készítettük. A kultúrák esetében a metszeteket mindig a növekedési zónának az anyadarabhoz közelebb, rendszerint több sejtrétegből álló részéből, a kultúrák síkjára merőlegesen, radiális irányban készítettük (1. ábra). A hisztokémiai metszeteket metanolban oldott 20%-os uranilacetáttal 5 percig, a többi készítményeket ezen kívül még 25 percig ólomcitrát [15] oldattal is kontrasztoltuk.

Eredmények

A normális patkány thymus retikulumsejtjeinek ultraszerkezetében a korábbi vizsgálatokhoz képest nem találtunk különbséget. SF aktivitásuk megoszlása hasonló volt, mint ahogy azt korábbi közleményünkben leírtuk [17].

Az NSE és az AS aktivitás megoszlását illetően a következőket figyeltük meg. A hámrétikulumsejtek jellegzetes moniliform bennékű vakuolumai és primer lizoszómái gyenge NSE aktivitást mutattak és csak nyomokban fedeztünk fel bennük AS aktivitást (1. és 2. kép). Az ún. mezenchymális retikulumsejtek lizoszómaiban mindkét enzim erősen aktív volt (3. és 4. kép). A thymocytákban előforduló lizoszómák is tartalmazták a két enzim reakciótermékét (5. és 6. kép).

A tenyészetek korától függetlenül morfológiai sajátosságaik és enzim-hisztokémiai viselkedésük alapján három sejttípust különítettünk el.

Az első sejttípus (7., 8., 9., 10. kép) általában csoportosan fordult elő. Ezek a sejtek metszeteinkben lapszerint, sokszor több rétegben helyezkedtek el. Sejthátáraik jórészt összefeküdtek, és számos helyen dezmoszómális kapcsolatban álltak. Szabad felületeiken mikrobolyhok látszottak. Kromatinszegény magjuk keresztmetszete hosszúkás volt, némely metszetben jól kifejezett magvacskát láttunk. Citoplazmájukban sok szabad riboszóma, szegényes durvafelszínű endoplazmás retikulum, kevés krisztás mitochondrium és lizoszóma volt. Tonofilamentumot mindig találtunk a citoplazmában, ezek részben párhuzamos lefutású kötegekbe rendeződtek, részben dezmoszómákkal álltak kapcsolatban. Elvértve előfordultak lipidcseppek és üres vagy moniliform bennékű vakuolumok is.

A lizoszómák közepes SF és gyenge NSE és AS aktivitással rendelkeztek. A lipidcseppek szélén előfordultak NSE aktív területek. A vakuolumok falának belső felszíne SF és NSE aktivitást mutatott.

A második sejttípus (11., 12., 13., 14. kép) lekerekedett, állábakkal és a citoplazma széli részén pinocitotikus vakuolumokkal rendelkezett. Magjuk többnyire kerek volt és egy-két magvacskát tartalmazott. A három sejttípus közül ennek a citoplazmája tartalmazta a legtöbb organellumot. Ezek között domináltak a legkülönbözőbb nagyságú és denzitású primer és szekunder lizoszómák. Lipidcseppek is nagy számban voltak jelen. Gazdag durvafelszínű endoplazmás retikulum is jellemezte a citoplazmát. Mitochondriumaik krisztásak, ovoid alakúak és változatos nagyságúak voltak. Sok helyen látszottak mikrotubulusok és mikrofilamentumok.

A primer és szekunder lizoszómák intenzív SF és NSE aktivitást mutattak. Egyes lizoszómák erős AS aktivitással rendelkeztek, mások AS aktivitást nem mutattak. Némi NSE aktivitást a lizoszómákon kívül az endoplazmás retikulumban, a Golgi-készülékben, a magmembránon és a mitochondriu-

mokban is láttunk. Erős NSE aktivitás fordult elő a lipidcseppek szélén, körülírt területeken. SF aktivitást a Golgi-készülékben is láttunk.

A harmadik sejttípus (15., 16., 17., 18. kép) orsó alakú volt, két pólusán elvékonyodó nyúlvánnyal rendelkezett. Magja általában sötétebb volt, mint az első két típusé, benne néha egy-egy magvaeska látszott. Citoplazmája kevés krisztás mitochondriumot, sejtenként változó mennyiségű lizoszómát és tágult durvafelszínű endoplazmás retikulumot tartalmazott. Azokban a sejtekben, amelyek kevesebb endoplazmás retikulumot tartalmaztak, főleg a citoplazma széli részén számos, a sejthártyával párhuzamosan futó mikrofilamentum volt.

Ezekben a sejtekben a lizoszómák általában igen erős SF aktivitást és gyenge NSE aktivitást mutattak. A lipidcseppek szélén erősen NSE aktív területek látszottak. Az AS reakcióban nem minden lizoszóma volt aktív.

A sejteket hordozó plazmaalvadékban és a sejtek között gyakran láttunk kollagén rostokat és rostkötegeket.

Az egyes sejttípusok előfordulásának arányát a kultúrák korától függően nem vizsgáltuk, mert az azonos időpontból származó egyedi kultúrák között is nagy eltérések voltak. Úgy tűnt azonban, hogy a fiatalabb kultúrákban a második, az idősebb kultúrákban az első és harmadik sejttípus fordult elő nagyobb arányban.

Diszkusszió

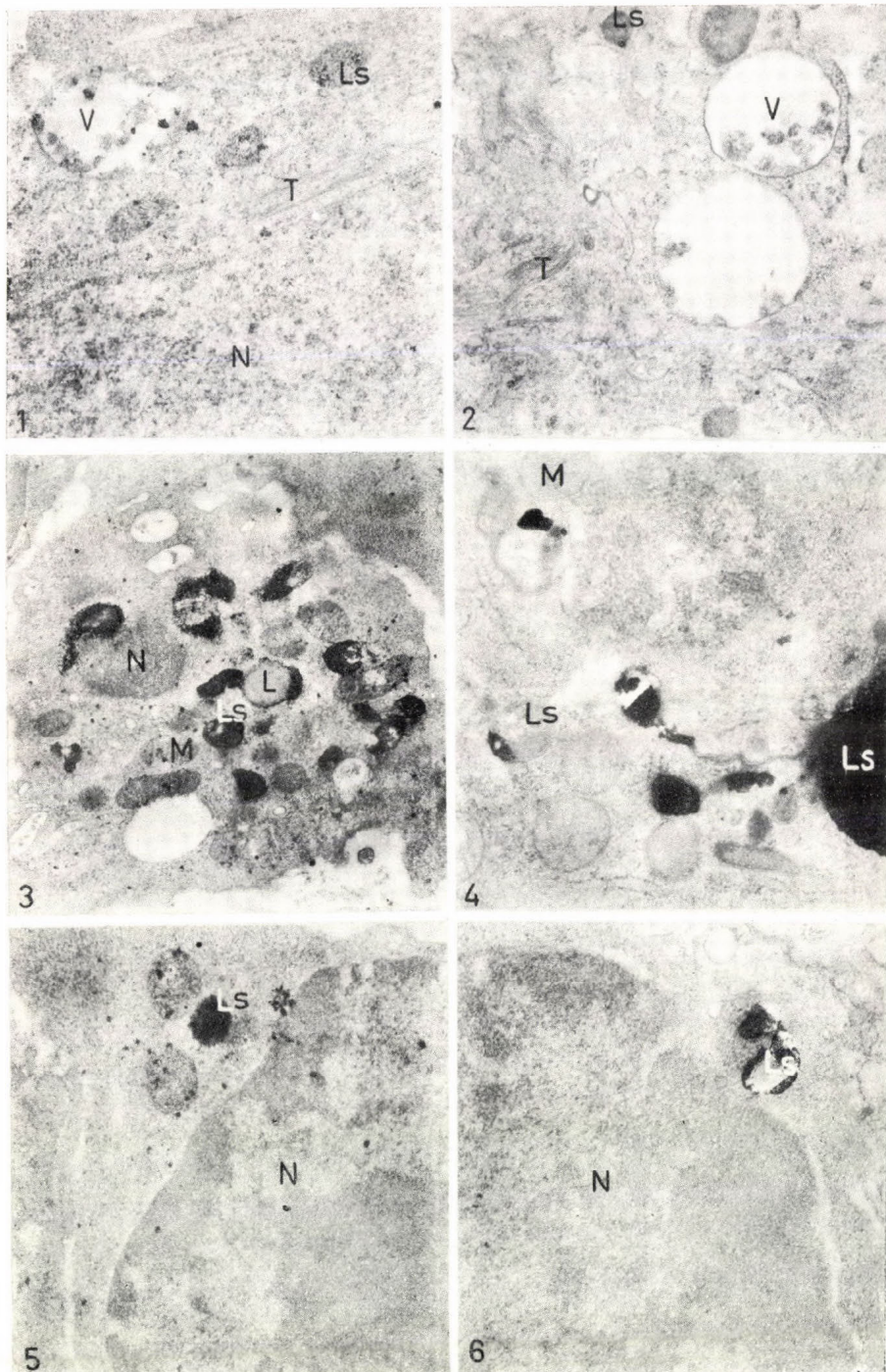
A kultúrákban talált sejttípusokat az intakt szövetben előforduló, illetve a tenyészetek fénymikroszkópos vizsgálatából ismert sejttípusokkal igyekeztünk azonosítani.

Első sejttípusunkat hámrétikulumsejtnek tartjuk, mivel citoplazmájában tonofilamentum-kötegek helyezkednek el, a sejtek egymással dezmoszómák révén tenyészetben is hálózatot hoznak létre, és mikrobolyhokkal rendelkeznek. Primer lizoszómáikban és elvétve előforduló moniliform tartalmú vakuolumaikban az SF aktivitás dominál és lényegesen kisebb az NSE és AS aktivitás. Mindezek a tulajdonságok megegyeznek az élőben található intakt hámrétikulumsejtek tulajdonságaival [2, 5, 7, 8, 10, 17, 19].

Az ép szövetben talált hámrétikulumsejtektől eltérően a jellegzetes moniliform bennékű emésztő vakuolumok csak elvétve találhatók bennük. Eltérő a sejtek és a sejtmagok alakja is, hiszen a lymphoid elemek hiánya miatt a hálózat közei virtuálisak.

A második sejttípus nem képez más sejttel kapcsolatokat, felszínén állabak, citoplazmájában nagy mennyiségben primer és szekunder lizoszómák, lipidcseppek és pinocitotikus vakuolumok vannak. Lizoszómái mindhárom hidrolitikus enzimet tartalmazzák. Míg azonban az SF és NSE a lizoszómák többségében erősen aktív, erős AS aktivitás csak kis számú lizoszómában mutatható ki. Ez a sejttípus az ún. mezenchymális retikulumsejtekkel azonosítható.

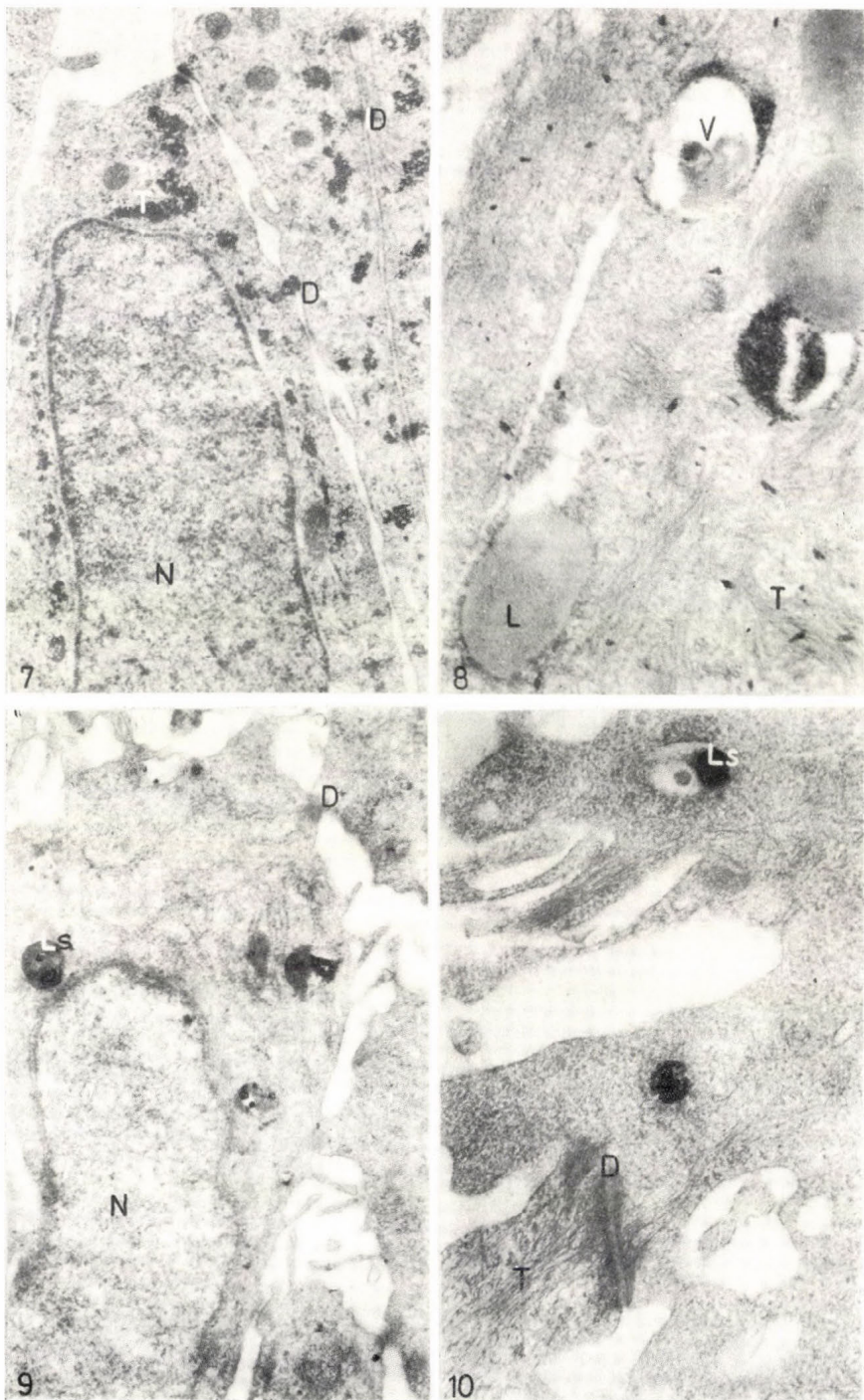
Mivel az intakt thymuszban különösen az erek és kötőszöveti sövetek közelében, valamint a kéreg-velő határon [9] ezek nagy számban előfordulnak, a kultúráinkban található ilyen sejtek eredetére kielégítő magyarázatot nyújtának. METCALF [11] feltételezte, hogy PHA-val kezelt kultúrákban lymphocytákból is képződhetnek makrofágok. Mivel heterológ körülmények között tenyésztettünk, ez a lehetőség esetünkben sem zárható ki. GOUGH és MTSAI [4] is leírtak lymphocytá-makrofág átalakulást.



I. tábla (1—6. kép)

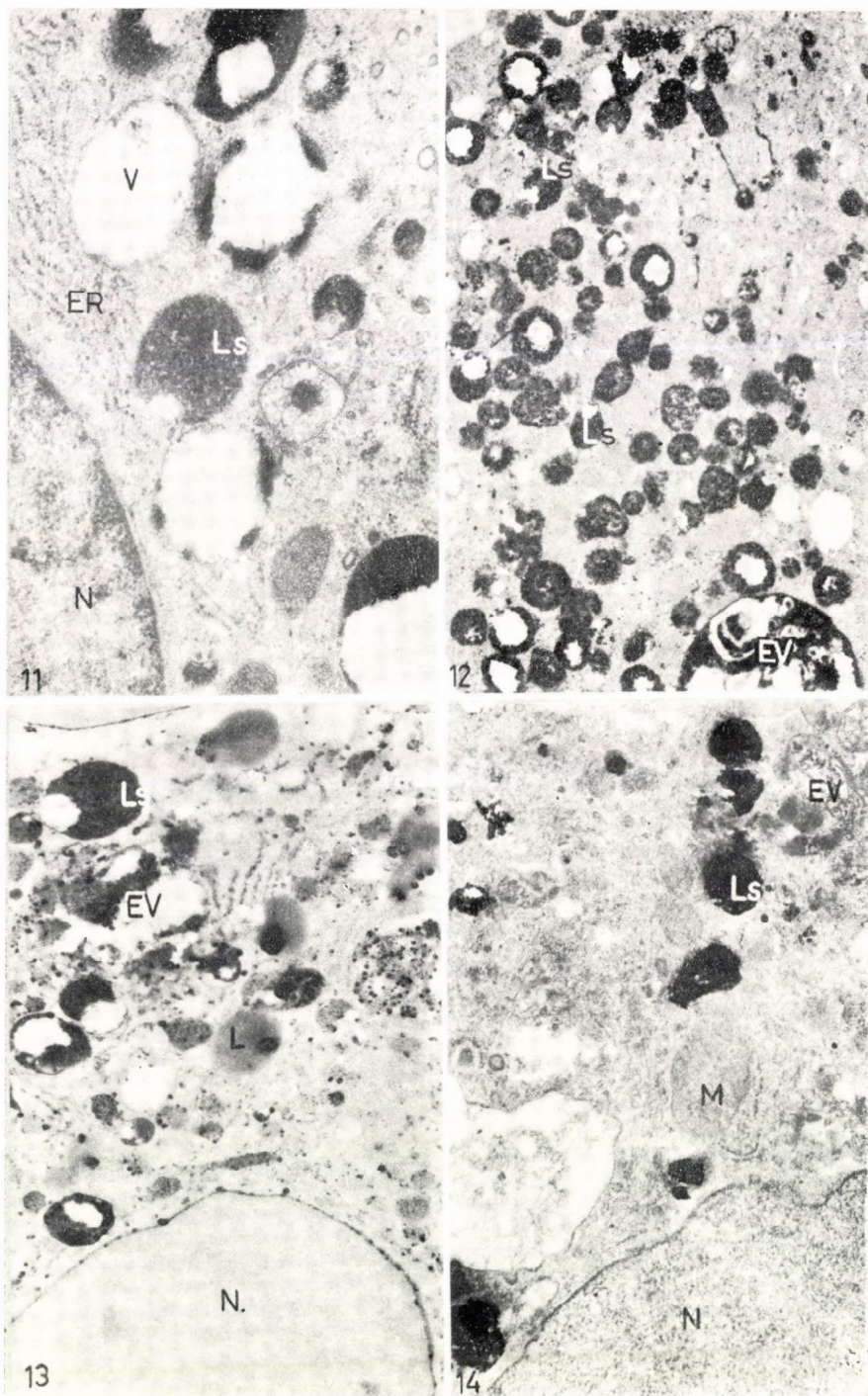
Nemspecifikus észteráz (NSE) és arilszulfatáz (AS) reakció intakt thymus-sejtekben.

1. kép. Hámretikulumsejt, NSE. (Arch. No 230/69)×20 100
2. kép. Hámretikulumsejt, AS. (Arch. No 342/69)×21 900
3. kép. Mezenchymális retikulumsejt, NSE. (Arch. No 301/69)×12 600
4. kép. Mezenchymális retikulumsejt, AS (Arch. No 343/69)×16 100
5. kép. Thymocyta, NSE (Arch. No 228/69)×18 500
6. kép. Thymocyta, AS (Arch. No 345/69)×23 800



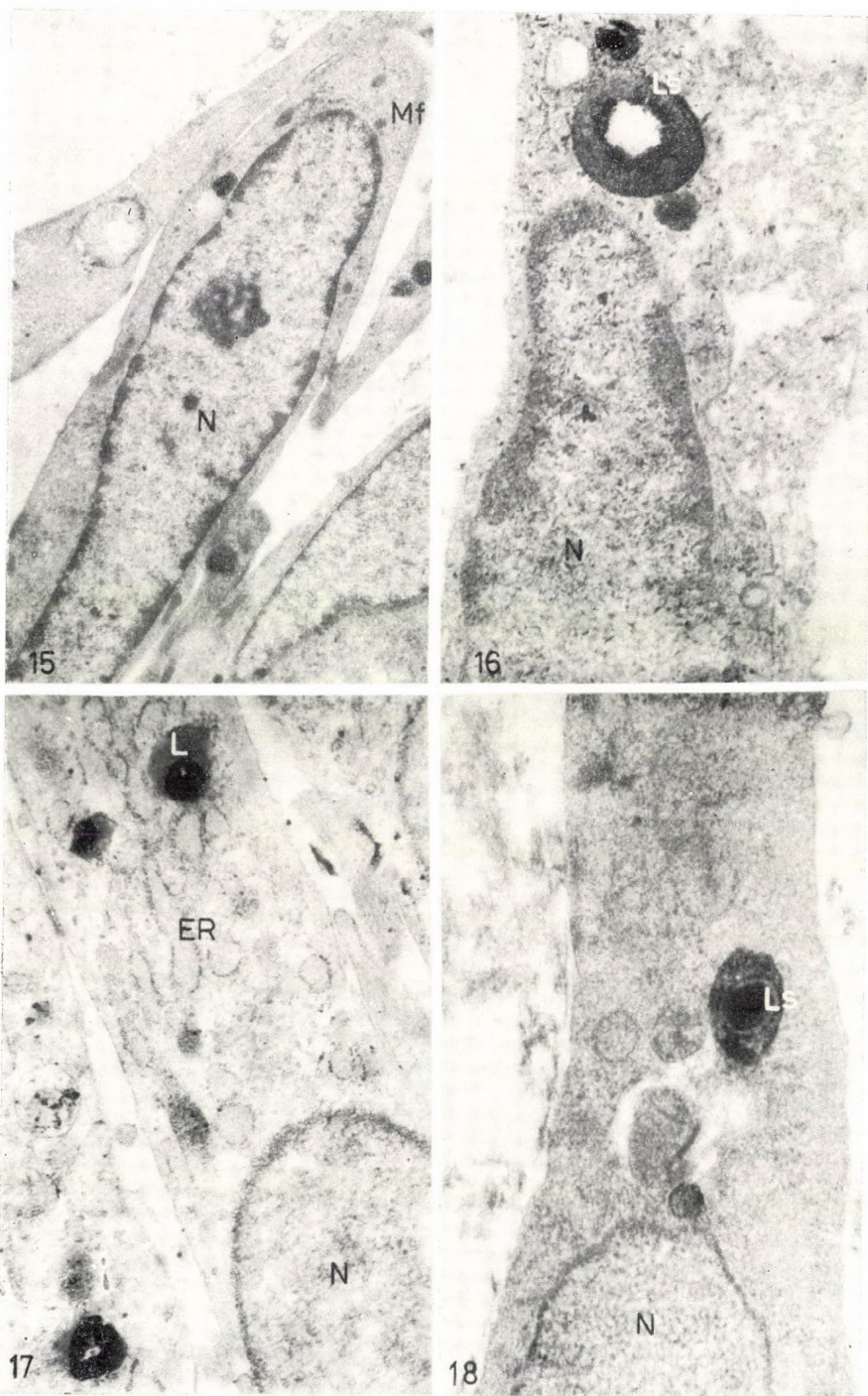
II. tábla (7–10. kép)
Hámretikulumsejtek tenyésztetben. (I. típusú sejt)

7. kép. 19 napos tenyészet, nem inkubált készítmény. (Arch. No 201/69) $\times 22\ 000$
 8. kép. 21 napos tenyészet, SF (Arch. No 1442/68) $\times 40\ 800$
 9. kép. 15 napos tenyészet, NSE (Arch. No 1281/68) $\times 19\ 000$
 10. kép. 21 napos tenyészet, AS (Arch. No 1453/68) $\times 32\ 300$



III. tábla (11–14. kép)
Thymus-makrofágok tenyésztetben. (II. típusú sejt)

11. kép. 9 napos tenyészet, nem inkubált készítmény (Arch. No 187/69) $\times 26\ 200$
 12. kép. 21 napos tenyészet, SF (Arch. No 1363/68) $\times 4800$
 13. kép. 6 napos tenyészet, NSE (Arch. No 1375/68) $\times 9200$
 14. kép. 21 napos tenyészet, AS (Arch. No 1384/68) $\times 19\ 000$



IV. tábla (15–18. kép)
Fibroblasztszerű sejtek tenyésztetben (III. típusú sejt)

15. kép. 19 napos tenyésztet, nem inkubált készítmény (Arch. No 1639/68) \times 9500
 16. kép. 11 napos tenyésztet, SF (Arch. No 351/69) \times 27 500
 17. kép. 9 napos tenyésztet, NSE (Arch. No 1291/68) \times 19 500
 18. kép. 21 napos tenyésztet, AS (Arch. No 1367/68) \times 34 000

Ez a sejttípus nem különbözik lényegesen más szövetekben és szövettenyészetekben megfigyelt makrofágoktól [3]. *In vivo* sem képez valódi retikulumot, *in vitro* pedig lekerekedik és feltehetően aktív mozgás közepette továbbra is intenzíven fagocitál.

A harmadik sejttípusba azokat a sejteket soroltuk, amelyeknek közös morfológiai sajátossága citoplazmájuk és magjuk alakja volt és főleg ennek alapján azonosítottuk a szövettenyésztési szakirodalomban említett fibroblasztszerű sejtekkel. Finomabb szerkezetüket tekintve nem voltak egységesek. Közülük néhány tágult endoplazmás retikuluma miatt hasonlított a valódi fibroblasztokhoz [1, 3]. Fibroblasztok jelenlétére utal az is, hogy a kultúrákat hordozó plazmaalvadék és a sejtek közötti tér kollagén rostokkal volt átszöve. Valószínű azonban, hogy a sejtek többsége nem valódi fibroblaszt. Ezek olyan sejtek, amelyek sejtmembránjuk alatt dús mikrofilamentum-kötegeket és citoplazmájukban változó mennyiségű lizoszómát és lipidcseppet tartalmaznak. Soknak a citoplazmája mindenféle organelumban igen szegény.

Ezeknek a sejteknek az eredete tisztázatlan. Származhatnak fibroblasztokból, makrofágokból, sőt esetleg hámrétikulumsejtekből vagy akár thymocyttákból is.

Az összes sejttípus enzimhisztokémiai viselkedéséből újabb bizonyítékát látjuk annak, hogy különböző sejtfajták lizoszómái között, sőt ugyanannak a sejtnnek egyes lizoszómái között is enzimaktivitás tekintetében különbségek vannak. Azonos inkubálási körülmények mellett a hámrétikulumsejtekben az SF dominál a többi vizsgált lizoszómális enzim felett. A makrofágokban mindhárom reakció intenzitása hasonló volt, de AS aktivitás kevesebb lizoszómában volt jelen, mint SF és NSE aktivitás. Az erősen AS aktív lizoszómák között negatív lizoszómákat is felismertünk. Amikor fénymikroszkópos módszerrel ugyanabban a készítményben mutattuk ki két lizoszómális enzim aktivitását [19], akkor is azt tapasztaltuk, hogy a sejtek nem egyforma arányban tartalmazzák a két reakció végtermékét. Újabban PFEIFER [13] elektronmikroszkópos hisztokémiai módszerekkel bizonyította a vesehámsjtek lizoszómáinak relatív heterogenitását.

Végül eredményeinkből az is kitűnik, hogy a thymus hámrétikulumsejtjei és makrofágjai az *in vitro* tenyésztés során morfológiai és citokémiai sajátosságait lényegében megtartják. Ilyen körülmények között a hámrétikulumsejtek strukturális — vázképző — funkciója kerül előtérbe, fagocitáló tevékenységük háttérbe szorul. Valószínűnek tartjuk, hogy a hámrétikulumsejteknek *in vivo* is alárendelt funkciója a fagocitózis és ezek csak a velük közvetlen kontaktusban levő elpusztult thymocyttákat képesek fagocitálni. A makrofágoknak viszont *in vitro* körülmények között is megmarad aktív fagocitáló képességük.

Vizsgálataink alapján úgy véljük, hogy a tenyésztés körülményeinek változtatása a thymus-sejtek funkciójának tisztázásához a jövőben nagymértékben hozzájárulhat.

*

Köszönetünket fejezzük ki Dallos Kálmánnénak, Hartai Editnek és Csapó Istvánnénak értékes technikai munkájukért.

Összefoglalás

Savanyú foszfatáz, nonspecifikus észteráz és arilszulfatáz ultrastrukturális lokalizációját vizsgálták intakt és *in vitro* tenyésztett patkány thymus-sejtekben. Megállapították, hogy a hámrétikulumsejtek és az ún. mezenchymális retikulumsejtek (makrofágok) ultrastrukturális és citokémiai jellegzeteségeiket a tenyésztés során megtartják. A különböző lizoszómális enzimek aktivitásának eltérő megoszlása valószínűsíti a thymus-sejtek lizoszómáinak heterogenitását.

IRODALOM

1. CHAPMAN, J. A. (1962) Fibroblasts and collagen. *British Medical Bulletin* 18, 233–237.
2. GAUDECKER, B. v. und HINRICHSSEN, K. (1965) Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Cytologie von Thymusrinde und Keimzentrum. *Z. Zellforsch.* 65, 139–162.
3. GIESEKING, R. (1963) Submikroskopische Strukturunterschiede zwischen Histiocyten und Fibroblasten. *Beitr. Path. Anat.* 128, 259–282.
4. GOUGH, J., ELVES, M. V., ISRAELS, M. C. G. (1965) The formation of macrophages from lymphocytes *in vitro*. *Exp. Cell. Res.* 38, 476–482.
5. HAELST, U. van (1967) Light and electron microscopic study of the normal and pathological thymus of the rat. II. The acute thymic involution. *Z. Zellforsch.* 80, 153–182.
6. HOPUSU-HAVU, V. K., ARSTILA, A. U., HELMINEN, H. J., KALINO, H. O., GLENNER, G. G. (1967) Improvements in the method for the electron microscopic localization of aryl sulfatase activity. *Histochemie* 8, 54–64.
7. HOSHINO, T. (1963) Electron microscopic studies of the epithelial reticular cells of the mouse thymus. *Z. Zellforsch.*, 59, 513–529.
8. KLUG, H. (1965) Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Phagozytose strahlengeschädigter Lymphocyten im Thymus von Ratten. *Z. Zellforsch.* 68, 43–56.
9. KOSTOWIECKI, M. (1963) The thymic macrophages. *Z. mikr.-anat. Forsch.* 69, 585–614.
10. LUNDIN, P. M., SCHELIN, U. (1965) Ultrastructure of the rat thymus. *Acta Path. Microbiol. Scand.* 65, 379–394.
11. METCALF, W. K. (1967) Differential response of lymphocytes in phytohaemagglutinin cultures. In: *The Lymphocyte in Immunology and Haemopoiesis*, ed. by J. M. Yoffey. Edward Arnold Ltd. London, 1967. pp. 62–65.
12. MILLER, F., PALADE, G. E. (1964) Lytic activities in renal protein absorption droplets. An electron microscopical cytochemical study. *J. Cell. Biol.* 23, 519–552.
13. PFEIFER, U. (1969) Kombinierte elektronenmikroskopische Darstellung der Arylsulfatase und der sauren Phosphatase in Lysosomen des Nierentubulus. *Histochemie* 17, 284–292.
14. PINKEL, D. (1964) Cultivation of mouse thymus in organ culture. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 116, 54–56.
15. REYNOLDS, E. S. (1963) The use of lead citrate at high pH as an electronopaque stain in electron microscopy. *J. Cell Biol.* 17, 208–212.
16. TOMATIS, L., WANG, L. (1965) Long term culture of thymic cells from newborn mouse thymus fragments. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 118, 1037–1042.
17. TÖRÖ, I., BÁCSY, E., ÖKRÖS, I., VADÁSZ, GY., RAPPAY, GY. (1968) Postirradiation changes in ultrastructure and enzyme cytochemistry of rat thymus. *Acta Med. Hung.* 25, 355–366.
18. TÖRÖ, I., GAZSÓ, L., TÖRÖK, R. O., OLÁH, I. (1968) Myogenese in Gewebekulturen des Thymus. Elektronenmikroskopische Untersuchung. *Z. Zellforsch.* 89, 241–249.
19. TÖRÖ, I., RAPPAY, GY., BÁCSY, E. (1967) Distribution of the activity of two hydrolytic enzymes in rat thymic cells after total body irradiation. *Ann. Histochim.* 12, 91–96.
20. TÖRÖ, I., RÖHLICH, P., OLÁH, I., PÁLYI, I. (1965) Elektronenmikroskopische Untersuchungen an *in vitro* gezüchteten Thymusepithelzellen und Hassalschen Körperchen. *Z. Zellforsch.* 65, 915–929.

ЭЛЕКТРОННОМИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ АКТИВНОСТИ
ГИДРОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ В КУЛЬТИВИРОВАННЫХ IN VITRO
КЛЕТКАХ ТИМУСА КРЫС

И. Окрёш, И. Фазекаш, Е. Бачи, Д. Ранняи и И. Тере

Была исследована субмикроскопическая локализация кислой фосфатазы, неспецифической эстеразы и арилсульфатазы в нормальных и культивированных *in vitro* клетках тимуса крыс. Обнаружили, что эпителиально-ретикулярные и так называемые мезенхимально-ретикулярные клетки (макрофаги) сохраняют свои субмикроскопические и цитохимические свойства в условиях культивирования. Разные проявления активности различных ферментов лизосом обуславливают гетерогенность лизосом в клетках тимуса.

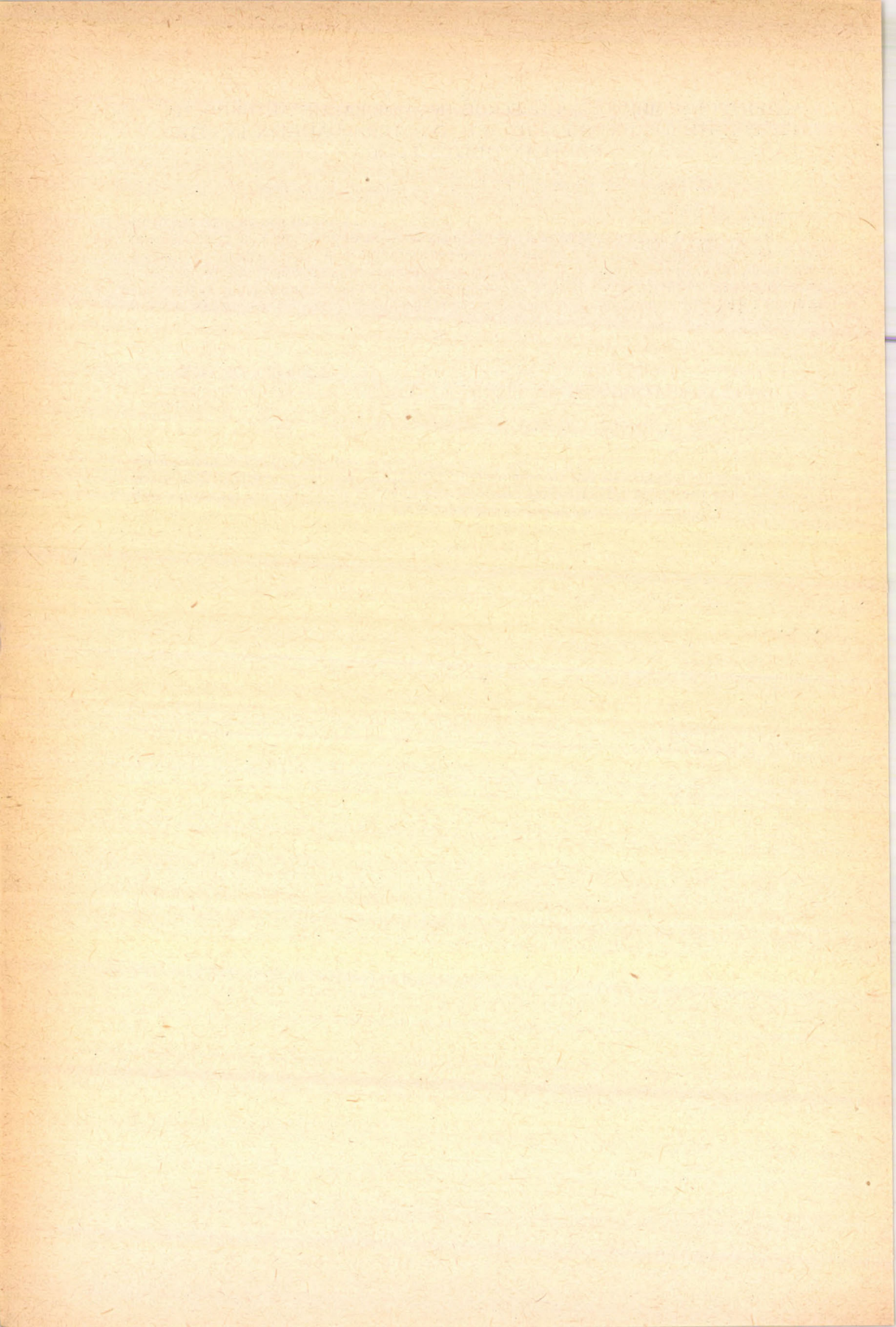
ELECTRON MICROSCOPIC INVESTIGATION OF THE ACTIVITY OF THE
HYDROLYTIC ENZYMES OF IN VITRO CULTIVATED RAT THYMUS CELLS

By I. Ökrös, I. Fazekas, E. Bácsy, Gy. Rappay, I. Törő

Authors investigated the ultrastructural localization of acid phosphatase, non-specific esterase and aryl-sulphatase in the thymus cells of intact rats and those cultivated *in vitro*. They found that the epithelial reticulum cells and the so-called mesenchymal reticulum cells (macrophages) retained their ultrastructural and cytochemical characteristics during the process of cultivation. Differences in the distribution of the various lysosomal enzymes prove the heterogeneity of the lysosomes in the thymus cells.

Rövidítések:

- D = dezmoszóma
- ER = endoplazmás retikulum
- L = lipidcsepp
- LS = lizoszóma
- M = mitochondrium
- Mf = mikrofilamentum
- Mv = mikroboholy
- N = mag
- T = tonofilamentum
- V = vakuolum



LASER IRRADIÁCIÓ HATÁSA LEUKOCYTÁK KATALÁZAKTIVITÁSÁRA

MESTER ENDRE, LUDÁNY GYÖRGY, HÉJJAS MÁRIA és FRENYÓ VILMOS

BOTE, II. sz. Sebészeti Klinika és ELTE, Növényélettani Tanszék

Beérkezett: 1969. április 26-án

Előző kísérletek arra az eredményre vezettek, hogy kis intenzitású laser sugarak fokozzák, nagy intenzitásúak pedig gátolják a sejtfunciókat (7.—11.).

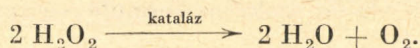
Megkezdtük e jelenség metabolikus kapcsolatának vizsgálatát annak ismeretében, hogy az enzimek közül az amiláz, dehidrogenázok, tripszin, tirozináz stb. érzéketlenek, ellenben a peroxidáz, lipáz és citokrómozidáz stb. kimondottan érzékeny a laser-hatásra. (Ingelman és Rounds nyomán, idézve 9.-ből.)

A sejtanyagcsere egyik jellegzetes indikátora a peroxidázzal rokon kataláz enzim, amely a jelek szerint a peroxiszóma elnevezésű, 1967-ben felfedezett sejtorganellumban lokalizált, hasonlóan a légzési citrát-ciklus mitokondriumbeli lokalizációjához. Úgy gondoltuk, hogy a minden bizonnyal ultrastruktúrált sejtrészesce érzékeny lesz a lasersugárral szemben és vagy ennek következtében, vagy más okból, a hozzá kötött kataláz enzim aktivitása változni fog. A várt jelzés némi információt adhat a laserhatás további értelmezéséhez. Ezt a várakozásunkat Amy, Storb és Wertz (2., 12., 13.) más irányú sejt-irradiációs vizsgálatai is megalapozták.

Anyag és módszer

A kataláz enzim a peroxidokat bontja és ezen alapszik a mérés, amelynek új megoldását dolgoztuk ki a jóval hosszadalmasabb klasszikus titráló vagy nehézkesebb Warburg-technikával szemben (1., 3., 4., 5.).

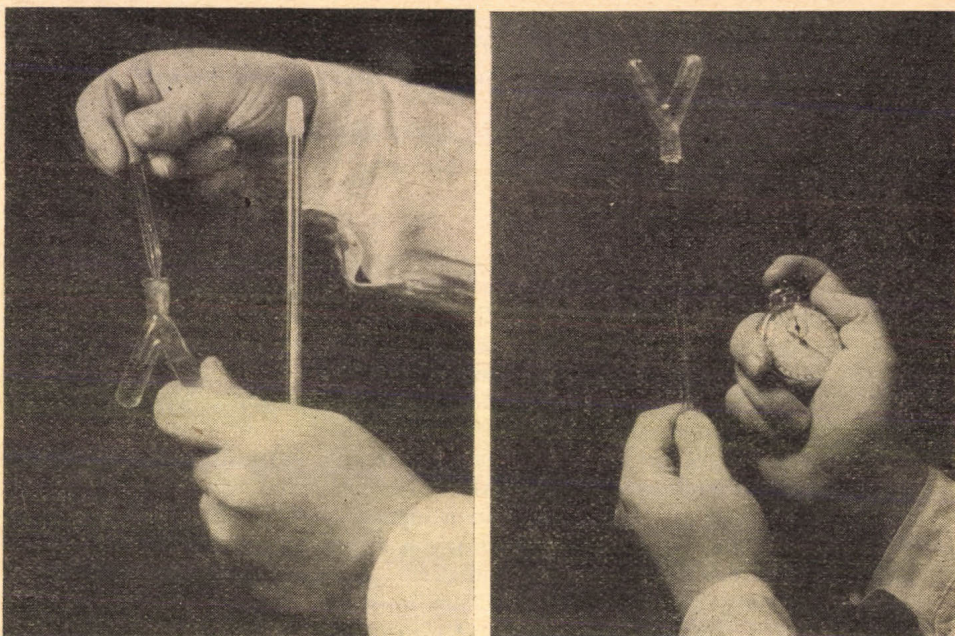
Eljárásunknak az a lényege, hogy kétágú recipiens egyik részébe 1%—0,1% H_2O_2 oldatot, másik felébe a vizsgálandó sejtek szuszpenzióját tesszük (1. kép). A recipiens csiszolt nyílásába vastagfalú kapilláris mérőcsövet illesztünk, majd az egészet inverz helyzetbe fordítjuk (2. kép). A két folyadék elegyedik és a sejtek oxigént szabadítanak fel a következő menet szerint:



A felszabaduló gáz a térfogatának megfelelő mennyiségű folyadékot szorít ki a recipiensből a kalibrált mérőcsőbe, ahol azonnal leolvasható az eredmény. Minél nagyobb a sejtek kataláz-aktivitása, annál több gázt szabadítanak fel a H_2O_2 szubsztrátumból. Ezzel a módszerrel már korábban sikeresen mértük a vérplazma aktivitását is (6.).

Jelen vizsgálatainkban a laseres kezelést G. Tota Jolán elektromérnök végezte; közreműködését itt is megköszönjük.

A kísérletek patkány hasüregéből nyert ún. inger-leukocytákkal folytak. Megfelelő előkészítés után 3 variáns szerint történt a leukocyták laseres irra-



diációja: 0,05 J/cm², 5 J/cm² és 50 J/cm² dózisokkal. Az utóbbit kumulációval lehetett megvalósítani a rubin laser korlátozott teljesítménye miatt. A kontroll természetesen megsugárzás nélkül maradt.

A leukocytákat ezután Ringer-oldattal szuszpendálva bejuttattuk a mérőszközbe és megállapítottuk a változás mértékét a kontrollhoz viszonyítva, amelyet mindenkor 100% aktivitásúnak tekintettünk. A relatív aktivitást 30—60—90—120 másodperces időközökben mértük. Számos előkísérlet után 4 olyan teljes kísérletsorozatot sikerült ismétlésekkel elvégeznünk, amelyben a kontroll mellett a kis, közepes és nagy dózisu sugárkezelést ugyanabból a populációból származó minták kapták. A statisztikai értékek szórása miatt a szignifikancia vizsgálatát annak megállapítására korlátoztuk, hogy a nullhipotézis ellenében kimutassuk a kezelés hatékonyságát a kezeletlen mintával szemben, figyelmen kívül hagyva a hatás abszolút értékét. Tehát korrelációelemzést végeztünk az alábbi szokásos formula szerint:

$$r = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x}) \cdot (y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2 \cdot \sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2}}$$

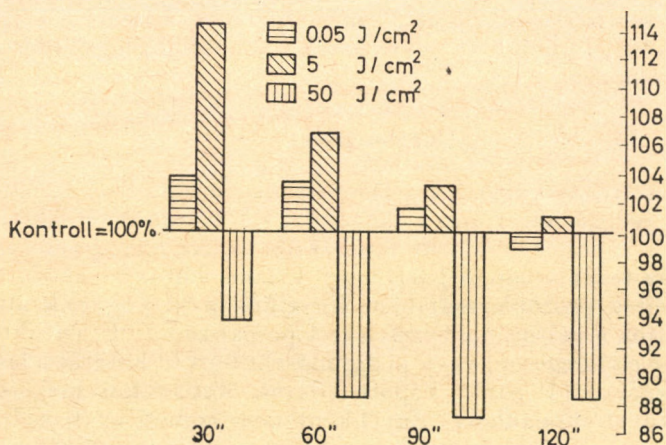
Általában a kezelt variánsok jóval többször különböztek a kontrolltól, mintsem a null-hipotézis érvényesülne. A korrelációs együttható értéke $r = +0,7$ körül ingadozik. Ez azt jelenti, hogy a laseres kezelés ténylegesen hatást váltott ki, de azt a véletlen körülmények (a találat bizonytalansága stb.) meg lehetőségen elfedik; vagyis a kapcsolat sztochasztikus.

Kísérleti eredmények

A metodikai részben elmondott körülmények közt a kezeletlen leukocyták 1,5 milliliternyi szuszpenziója, amely átlag 5000 leukocytát tartalmazott 1 mm³ térfogatban, a következő menetben szabadított fel oxigént a H₂O₂ szubsztrátumból:

mp	30	60	90	120
mm ³ O ₂	9,8	14,7	18,7	22,3

Ezek a számok egy koordináta rendszeren szabályos görbét adnak annak bizonyosságául, hogy a mérés végrehajtása kifogástalan, továbbá a kataláz lassuló menetben szabadít fel oxigént. A különböző intenzitással megsugárzott variánsok kataláz-reakciója ugyancsak töretlen menetű görbét szolgáltat, amely azonban egyik esetben a kontroll fölé emelkedik a serkentettség jeléül, másik esetben a nagy dózisú laser sugarak hatására gátlást mutat. Mivel a variánsok és a kontroll között nem szembeötlő a különbség (az összefüggés sztochasztikus!), ezért a diagramm különleges szerkesztésével emeltük ki az egyébként nagyon érdekes tényeket (1. ábra).



A relatív különbségeket kiemelő diagramm azt mutatja, hogy a kicsiny (0,05 J), de még inkább a közepes (5 J) sugárdózis serkentette, a nagy dózis (50 J) pedig már csökkentette a kataláz enzim aktivitását, illetve a sejtek peroxidbontó hatását. Tehát a biológiai tesztekre annyira jellemző optimum-

görbét adnának a kardinális pontok. A maximális serkentés 14%, a legnagyobb gátlás pedig 13% a kontroll értékéhez viszonyítva. A kapott értékek a leolvadás időpontja szerint szabályos menetben eltolódnak. Összehasonlító vizsgálatokra legalkalmasabb a 60 másodpercig tartó inkubáció a kataláz mérésre szolgáló eszközben; tehát a leukocyta-szuszpenzió és a H_2O_2 oldat elegyítése kezdetétől 1 perc múlva célszerű leolvadni a felszabadított O_2 térfogatát a mérőkapillárisban lefelé szorított folyadékoszlop hosszúsága alapján. A mi esetünkben az alábbi relatív értékekhez jutottunk:

Dózis	0	0,05 J/cm ²	5 J/cm ²	50 J/cm ²
mm ³ O ₂ /min	14,7 = 100%	15,2 = 103,4%	15,7 = 106,8%	13,0 = 88,4%
1	0	+3,4%	+6,8%	-11,6%

Biológiai mérések, különösen pedig szabadföldi növényfiziológiai vizsgálatok keretében megszoktuk, hogy legalább 30% különbséget várunk el valamilyen kezelés hatására a kontrollhoz képest. Ilyen szemlélettel ítélve a fenti különbségek egyike sem számottevő különösen akkor, ha a korrelációs együttható (*r*) említett alacsony (0,7 körüli) értékére is gondolunk. Ezzel szemben a teljes diagram karakterét figyelve törvényszerű menetet látunk, ez pedig bizonyító erejű a körvonalazott tendencia mellett. Más-más arányokban ugyan, de mégis következetesen azonos tendenciával jelentkezik a serkentés és a gátlás ténye.

A serkentésnek a mérési idő szerinti csökkenése nem egyedül annak a következménye, hogy a kataláz reakciókinetikáját nem lineáris, hanem inkább logaritmikus menet jellemzi. Közrejátszik az az egyszerű tény is, hogy a felszabadított O_2 térfogatát jelző folyadékoszlop 120 másodperces mérés után természetesen hosszabb, mint 30 másodpercor. Emiatt a kontroll és a kezelt variáns közötti különbség egyre inkább elmosódik, legalábbis a serkentés vonatkozásában.

Megbeszélés

A katalázaktivitás változása a laser-irradiáció hatására, ha eltolódással is, de éppolyan jellegű, mint ami a fagocitózissal, a tumorsejtekkel, illetve a szőrnövekedéssel kapcsolatban volt tapasztalható. Az anyagcsere egyik mutatója, a kataláz tehát valóban jelzi, hogy valami változást okozott az irradiáció az élő sejtek protoplazmájában. Egyelőre távol vagyunk attól, hogy eldönthessük vajon a változás a feltételezett peroxiszóma ultrastruktúrájában következett-e be elsődlegesen, vagy pedig másutt fejti ki hatását a laser-sugár.

Jelen vizsgálataink során kapott adatok statisztikai megbízhatósága megfelelő kritikával elfogadható. Egyébként nem szabad egyformán értékelnünk a rövid (30 mp-es) mérés és a hosszabb tartamú (60, 90, 120 mp-es) mérések adatait. A kataláz mérés reakció-kinetikájára jellemző többek között egy kezdeti késedelmező ún. „lag”-fázis, vagyis a H_2O_2 szubsztrátumból nem szabadul fel rögtön észrevehető mennyiségű O_2 gáz. Úgy látszik, hogy a „lag”-fázis alatt rejtetten végbemenő folyamat meggyorsul a kis és a közepes dózisu sugárzással kezelt leukocyták enzimtevékenységétől, ezért kapunk eléggé ki-

ugró serkentést a mérés kezdetén. A kezdeti „lag”-fázis megrövidítésével kapcsolatos 14,2% O_2 -többlet olyan középérték, amelynek elég tetemes ugyan az ingadozása az ismétlések során, azonban a 30 mp-nél 5 J/cm² dózis esetére vonatkozó korreláció-analízis azt bizonyította, hogy az észlelt serkentés csak ugyan fennáll ($r = +0,85$), csupán az összefüggés sztochasztikus.

Összefoglalás

A kataláz enzim aktivitásának változásai alátámasztani látszanak a leukocyták fagocitózisára, az Ehrlich-féle ascitestumor növekedésére vonatkozó, valamint szörtelenített kísérleti egerek bőrfelületén a laser-besugárzások keltette változások (pl. fokozott szőrnövekedés) mélyebb okozati összefüggését az anyagcserével, illetve a sejtek enzimtevékenységével.

Jelen vizsgálatainkban különböző dózisú laser-sugárzással kezeltük patkányok hasüregéből nyert ún. inger-leukocyták megfelelően előkészített mintáit. A kezelés után saját metodikánk szerint megmértük a leukocyták kataláz-aktivitását és azt tapasztaltuk, hogy a 0,05 J/cm², de különösen az 5 J/cm² dózisú irradiáció fokozza, viszont az 50 J/cm² dózisú irradiáció már csökkenti a kataláz-aktivitást a kezeletlen kontrollhoz képest.

Az eredmény csak laza korrelációban van a kezelés hatásával, de az ismétlések tendenciája azt bizonyítja, hogy a kezelés határozott változást okoz az anyagcserében.

IRODALOM

1. ABDERHALDEN, R. (1958) *Klinische Enzymologie*. Thieme-Verlag. Stuttgart.
2. AMY, R. L.—STORB, R.—FAUCONNIER, B.—WERTZ, R. K. (1967) Ruby laser microirradiation of single tissue culture cells vitally stained with janus green B. *Experimental Cell Research* 45, 361—373.
3. BELOSERSKI, A. N.—PROSKURJAKOW, N. L. (1956) *Praktikum der Biochemie der Pflanzen*. VEB Deutscher Verlag d. Wissenschaften, Berlin.
4. FRENÝÓ, V. (1962) Eljárás és eszköz gázfejlődéssel járó folyamatok vizsgálatára. *Szabaddalmi Közlöny* 67. (8. sz.) FE-542 (42 I.)
5. FRENÝÓ, V. (1962) Neues Verfahren zur Feststellung der Katalaseaktivität von Pflanzen am freien Feld. *Anales Univ. Sci. Bp. Sectio Biol.* 5, 131—136.
6. FRENÝÓ, V.—SZENDRŐI, Z. (1963) A vérplazma peroxidbontó aktivitásának meghatározása új módszerrel. *Biológiai Közlemények* 11, 11—15.
7. MESTER, E.—JUHÁSZ, J.—VARGA, P.—KARIKA, GY. (1968) Lasers in clinical Practics. *Acta Chirurg. Acad. Sci. Hung.* 9. 349—357.
8. MESTER, E.—LUDÁNY, G.—SELLYEI, M.—SZENDE, B.—TOTA, G. J. (1968) Untersuchungen über die hemmende bzw. fördernde Wirkung der Laserstrahlen. *Langenvecks Archiv für klinische Chirurgie.* 322, 1022—1026.
9. MESTER, E.—LUDÁNY, G.—VAJDA, J.—RAZGHA, A.—KARIKA, J.—TOTA, J. (1968) Über die Wirkung von Laser-Strahlen auf die Bakterienphagozytose der Leukozyten. *Acta Biol. Med. Germ.* 21, 317—321.
10. MESTER, E.—SELLYEI, M.—TOTA, G. J. (1968) Laserstrahlenwirkung auf das Wachstum des Ehrlichschen Aszitestumors. *Archiv für Geschwulstforschung.* 32, 201—206.
11. MESTER, E.—SZENDE, B.—GÄRTNER, P. (1968) Die Wirkung der Laser-Strahlen auf den Haarwuchs der Maus. *Radiobiologia Radiotherapia.* 9, 621—626.
12. STORB, R.—WERTZ, R. K.—AMY, R. L. (1967) Ruby laser micro-irradiation of single tissue culture cells vitally stained with janus green B. II. Effects on dehydrogenase activities. *Experimental Cell Research* 45, 374—384.
13. WERTZ, R. K.—STORB, R.—AMY, R. L. (1967) Ruby laser micro-irradiation of single tissue culture cells vitally stained with janus green B. III. Effects on the incorporation of an RNA pyrimidine precursor. *Experimental Cell Research* 45, 61—71.

ДЕЙСТВИЕ ИРРАДИАЦИИ ЛАЗЕРА НА АКТИВНОСТЬ КАТАЛАЗ ЛЕЙКОЦИТОВ

Е. Мештер, Д. Лудани, М. Геййаш и В. Френьо

Изменение активности каталаз повидимому указывает на то, что между изменениями фагоцитоза лейкоцитов, роста асцитической опухоли Эрлиха и изменением на поверхности кожи лишенной шерсти (например, роста шерсти) подопытных мышей, которые были вызваны облучением лазера, с одной стороны, и обменом веществ, т. е. активностью ферментов клеток, с другой имеется более глубокая причинная взаимосвязь.

В данном нашем эксперименте соответственным образом подготовленные препараты лейкоцитов, полученные из брюшной полости крыс, были облучены различными дозами лучей лазера. После облучения определили активность в них каталаз по собственному методу, и обнаружили, что доза $0,05 \text{ J/cm}^2$, и особенно 5 J/cm^2 повышает активность каталаз, а 50 J/cm^2 понижает ее по сравнению с необлученным контролем. Результаты находятся в слабой корреляции с воздействием, но тенденция повторений подтверждает, что облучение действительно вызывает изменение в обмене веществ.

DIE WIRKUNG DER LASERSTRAHLEN AUF DIE KATALASEAKTIVITÄT DER LEUKOZYTEN

Mester, E.—Ludány, G.—Héjjas, M.—Frenyó, W.

Die Änderungen der Katalaseaktivität scheinen in tieferem kausalen Zusammenhang mit den durch Laser-bestrahlungen erweckten Änderungen auf die Phagozytose der Leukozyten, auf die Zunahme des Ehrlichschen Aszites-Tumors, auf das Fell der enthaarten Versuchsmäuse (z. B. stärkerer Haarwuchs) mit dem Stoffwechsel bzw. mit der Enzymtätigkeit zu stehen.

In unseren jetzigen Untersuchungen behandelten wir die entsprechend vorbereiteten Muster der aus der Bauchhöhle der Ratten entnommenen sog. Reizleukozyten mit verschiedener Dosierung der Laserstrahlen. Nach den Behandlungen haben wir ihre Katalaseaktivität mit eigener Methode gemessen und die Erfahrung gemacht, daß die Katalaseaktivität, im Vergleich mit der nicht behandelten Kontrolle, durch eine Strahlung mit einer Dosis von $0,05 \text{ J/cm}^2$, aber besonders von 5 J/cm^2 gefördert, hingegen durch eine Dosis von 50 J/cm^2 gehemmt wird. Das Resultat steht in keiner engen Korrelation mit der Wirkung der Behandlung, aber die Tendenz der Wiederholungen beweist, daß die Behandlung tatsächlich eine Änderung im Stoffwechsel verursacht.

HOSSZANTARTÓ ÉS NAGY DÓZISÚ ÖSZTROGÉN KEZELÉS HATÁSA PATKÁNYOK PAJZSMIRIGYMŰKÖDÉSÉRE

OROSZ ANTAL, KURCZ MIHÁLY és NAGY IVÁN

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Természettudományi Kar, Összehasonlító Élettani Tanszéke (Tanszékvezető: Prof. Ádám György); Országos Közegészségügyi Intézet, Biokémiai és Izotóp Osztálya (Főigazgató: Prof. Bakács Tibor); Heim Pál Gyermekkórház Központi Laboratóriuma (Igazgató: Prof. Sárkány Jenő) Budapest

Beérkezett: 1969. április 25-én

Bevezetés

Az ösztrogén aktivitású anyagok pajzsmirigy működésre kifejtett hatására vonatkozóan az utóbbi években számos experimentális és klinikai adat gyűlt össze. A különböző kísérletek eredményei azonban olyan sok ellentmondást tartalmaznak a hatást illetően, hogy nem alakítható ki egyöntetű vélemény. A szerzők egy része ösztrogén kezelés után a pajzsmirigyműködést *változatlan*nak találta: PASHKIS és mtsai [26], DELOST és DELOST [9]; mások fokozott aktivitást észleltek: NOACH [24], FELDMAN [13], JENSEN [17], GROSVENOR [15], YAMADA és mtsai [29]. A harmadik csoport: BROWN-GRANT [6], ESKIN és mtsai [12], BECKER és DE VISCHER [2] a pajzsmirigyműködés csökkenését figyelte meg. Legutóbb BROWN-GRANT [7] illetve BITHELL és BROWN-GRANT [3] azt találta, hogy az ösztradiolbenzoát egyetlen injekciója fokozza a pajzsmirigy aktivitását. Megoszlanak a vélemények a hatásmechanizmust illetően is: NOACH [24], BROWN-GRANT [6], BOGDANOVE és HORN [5], AMESBURY és mtsai [1] feltételezik, hogy az ösztrogének *közvetve* fejtik ki hatásukat, mivel a hypophyseális támadásponttal a TSH secretiot változtatják meg. FELDMAN [13], FLORSHEIM [14], BOCCABELLA és ALGER [4] szerint viszont *direkt* hatással a pajzsmirigy jódkoncentráció képességét befolyásolják. Több szerző a vérfehérjék jódhormon-kötő kapacitásának megváltozását tartja elsődlegesnek: DOWLING és mtsai [10], ENGBRING és ENGSTRÖM [11]. Összefoglalva MEANS és mtsai [21], valamint WERNER és NAUMAN [30] munkáiban.

Az irodalmi adatok túlnyomó többsége a rövid ideig tartó ösztrogén kezelés hatásáról számol be. Kevesen foglalkoztak azzal a kérdéssel, hogy a nagy dózisú és hosszantartó ösztrogén kezelés miként befolyásolja a pajzsmirigy működését [8, 23]. Elismerésre méltó, hogy egyes adatok szerint az ösztrogének — az alkalmazott dózis, valamint a kezelés időtartamától függően — stimulálhatják, vagy éppen ellenkezőleg, csökkenthetik a pajzsmirigy funkcióját [13, 28].

Jelen munkánkban a hosszantartó és nagydózisú ösztrogén kezelésnek a pajzsmirigyműködés egyes mutatóira [20] kifejtett hatását kívánjuk megvizsgálni.

Anyag és módszer

A vizsgálatokat két kísérletsorozatban, különböző törzsből származó, hím és nőstény ivarérett fehér patkányokon végeztük. Az állatokat 22 ± 2 C°-os hőmérsékleten és standard patkánytápon tartottuk. Vezetéki vizet ad libitum kaptak.

Az első kísérletsorozatban az outbred patkányállomány hím és nőstény állatait két csoportra osztottuk. Egy részük kontroll volt, a többi hat hónapig — hetenként két alkalommal — 1,0 mg öszttronacetátot (Hogival, Chinoín) kapott s. c. olajos injekcióban.

A második kísérletsorozatban beltenyésztett, „Rehbrücke-Hungary” patkánytörzs állatainak egy része az előzőhöz hasonló ösztrogén kezelésben részesült, másik része kontrollként szerepelt. Ezen törzs nőstényei újabb csoportjának hátbőre alá 25 mg diaethylstilboestrolt (továbbiakban: DES) ültettünk. Néhányba három hónap múlva újabb tablettát implantáltunk.

Mindkét kísérletsorozatban a kezelés befejezése előtt két héttel megvizsgáltuk a pajzsmirigy *in vivo* J¹³¹ felvételét. Az állatoknak 0,3 ml fiziológiás só-oldatban 5 μ Ci aktivitású, hordozómentes J¹³¹-et adtunk intraperitonealisan. Ezután 2, 12, 24, 48, 72 és 96 óra múlva az általunk szerkesztett berendezésben, scintillációs detectorral a nyak felett mértük a pajzsmirigy aktivitását.

A hatodik hónap végén az állatokba — az előbbiekhöz hasonlóan — 10 μ Ci aktivitású J¹³¹-oldatot injiciáltunk. 48 óra múlva — testsúlymérés után — az állatokat decapitáltuk, vérüket felfogtuk, majd a hypophysis és pajzsmirigy súlyát torziós mérlegen, 0,2 mg pontossággal lemértük. CLIFTON és MEYER [8] szerint a hypophysiseket 12 mg-os súlyig normálisnak, 12–30 mg között hyperplasiásnak és 30 mg felett tumorosnak tekintették. A pajzsmirigyeket 2N NaOH-ban 60 C°-on egy órán át hidrolizáltuk. A hidrolizátumok aliquot térfogatának aktivitását Frieske-Hoepfner típusú készülék üreges kristályos scintillációs detectorával mértük. A véreket alvadás után centrifugáltuk, majd a nyert szérum adott térfogatának aktivitását mértük. A szérum fehérjéhez kötött J¹³¹ (PBJ¹³¹) tartalmának meghatározása céljából a fehérjét triklórecetsavval kicsaptuk és háromszor mostuk. A csapadékot 2N NaOH-ban feloldottuk és aktivitásukat ugyancsak üreges kristályos detectorral határoztuk meg.

Eredmények

Az 1. táblázat a kontroll és az öszttronacetáttal kezelt patkányok testsúlyát, hypophysis-, valamint pajzsmirigysúlyát mutatja. Látható, hogy az ösztrogén adagolás az állatok testsúlyának csökkenését (helyesebben: a kísérlet 6 hónapja alatti testsúly növekedés gátlását), és a hypophysisek súlyának jelentékeny növekedését eredményezi. A pajzsmirigy súlyában lényeges változás nem tapasztalható. A második kísérletsorozatban nyert hasonló adatainkat a 2. táblázaton tüntettük fel. Megfigyelhető, különösen a DES tablettával implantált állatok testsúlyának kifejezett csökkenése. Az öszttronacetáttal kezelt hím és nőstény patkányok hypophysise tumoros volt, míg az implantáltaké csak hyperplasiás megnagyobbodást mutatott. A pajzsmirigy abszolút súlya a kezeltékben csökkent, viszont a 100 g testsúlyra számított pajzsmirigysúly nem tért el a kontrollokétól.

I. táblázat

Testsúly, hypophysis és pajzsmirigy — súly kontroll és oestronacetáttal kezelt outbred patkányokban

Csoport	Állatok		Testsúly	Hypophysis	Pajzsmirigy	Pajzsmirigy
	neme	száma	g	mg	mg	100 g testsúly
I. Kontroll	♂	15	304 ± 11**	8,6 ± 0,3	14,9 ± 0,6	6,1 ± 1,0
II. Kezelt*	♂	11	207 ± 8	23,0 ± 2,6	12,9 ± 0,7	6,2 ± 0,9
III. Kontroll	♀	15	208 ± 4	9,9 ± 0,4	14,8 ± 0,2	7,5 ± 1,1
IV. Kezelt*	♀	14	162 ± 6	24,6 ± 1,6	11,1 ± 0,7	6,7 ± 0,7

* Hetenként kétszer 1 mg Hogival sc.

** Középhiha

II. táblázat

Testsúly, hypophysis és pajzsmirigy — súly kontroll, oestronacetáttal és diaethylstilboestrollal kezelt inbred patkányokban

Csoport	Állatok		Testsúly	Hypophysis	Pajzsmirigy	Pajzsmirigy
	neme	száma	g	mg	mg	100 g testsúly
I. Kontroll	♂	10	412 ± 11***	13,5 ± 1,1	23,3 ± 1,2	5,7 ± 0,3
II. Oestronacetáttal kezelt*	♂	7	257 ± 4	84,8 ± 11,9	16,7 ± 1,8	6,4 ± 0,6
III. Kontroll	♀	6	266 ± 5	10,0 ± 0,3	19,3 ± 1,3	7,2 ± 0,9
IV. Oestronacetáttal kezelt*	♀	6	215 ± 10	69,6 ± 6,7	14,5 ± 1,9	6,9 ± 1,0
V. Tablettával implantált**	♀	10	174 ± 4	28,9 ± 2,7	10,1 ± 0,6	5,7 ± 0,5
VI. Tablettával kétszer implantált**	♀	6	175 ± 4	24,4 ± 2,6	10,3 ± 0,3	5,9 ± 0,4

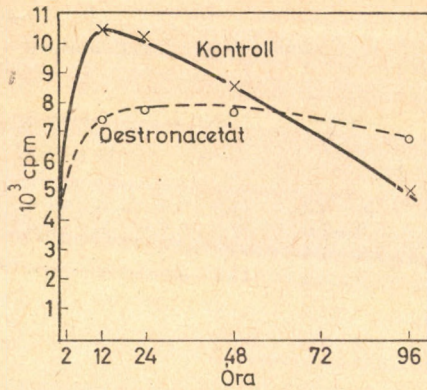
* Hetenként kétszer 1 mg Hogival sc.

** 1 tableta = 25 mg diaethylstilboestrollal

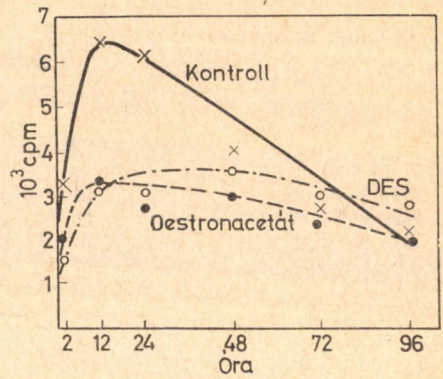
*** Középhiha

Az 1. és 2. ábra a J^{131} felvétel és leadás dinamikáját mutatja be. Szembetűnő, hogy a kontroll állatok pajzsmirigyének J^{131} felvétele mintegy kétszerese a kezelt állatokénak. Eltérést találtunk a jódfelvétel maximumának idejében, mivel a kontroll csoportoknál az izotóp beadása után 12 óra múlva, míg a kezeltéknél csak 24 óra múlva figyelhető meg. Az utóbbiak J^{131} leadása lassabb, a görbe a 48. órától az időtengellyel majdnem párhuzamosan fut.

A 3. és 4. táblázat a vérszérum szerves és szervetlen J^{131} tartalmának arányát, illetve a pajzsmirigy J^{131} felvételét mutatja a beadott aktivitás százalékában, 48 órával az izotóp oldat injiciálása után. Mivel a második kísérlet-sorozatban („Rehrücke-H” patkánytörzs) a pajzsmirigy súlyát és funkcionális paramétereit illetően a hím és nőstény állatok között nem mutatkozott szignifikáns különbség, jobb áttekinthetőség céljából, a hat csoportot háromba vontuk össze. Látható, hogy a kezelt patkányokban jelentősen csökken a szérumfehérjéhez-kötött J^{131} (PBJ¹³¹) tartalom és növekedett az anorganikus



1. ábra



2. ábra

III. táblázat

A vérserum szerves és szervetlen J^{131} tartalmának aránya és a pajzsmirigy J^{131} felvétele kontroll és oestronacetáttal kezelt outbred patkányokban

Csoport***	Állatok		1 ml vérserum cpm		PB J^{131}/J^{131}	A pajzsmirigy J^{131} felvétele %-ban
	neme	száma	PB J^{131}	anorg. J^{131}		
I. Kontroll	♂	15	2015	1588	$1,27 \pm 0,17^{**}$	$4,64 \pm 0,35$
II. Kezelt*	♀	11	933	2069	$0,47 \pm 0,05$	$2,71 \pm 0,58$
III. Kontroll	♂	15	2096	2089	$1,04 \pm 0,11$	$5,59 \pm 0,74$
IV. Kezelt*	♀	14	1305	2357	$0,56 \pm 0,07$	$2,56 \pm 0,16$
Valószínűség I./II. III./IV.					$P < 0,01$ $P < 0,01$	$P < 0,01$ $P < 0,01$

* Hetenként kétszer 1 mg Hogival sc.
 ** Középhiha
 *** Boncolás 48 órával a J^{131} injicálása után

IV. táblázat

A vérserum szerves és szervetlen J^{131} tartalmának aránya és a pajzsmirigy J^{131} felvétele kontroll oestronacetáttal és diaethylstilboestrollal kezelt inbred patkányokban

Csoport****	Állatok		1 ml vérserum cpm		PB J^{131}/J^{131}	A pajzsmirigy J^{131} felvétele %-ban
	neme	száma	PB J^{131}	anorg. J^{131}		
I. Kontroll	♂	10	$1279 \pm 165^*$	320 ± 56	$3,99 \pm 1,01$	$9,48 \pm 0,91$
II. Oestronacetáttal kezelt**	♀	6	396 ± 48	863 ± 86	$0,62 \pm 0,14$	$4,15 \pm 0,48$
		7				
III. Tablettával implantált***	♀	10	560 ± 90	1292 ± 144	$0,32 \pm 0,09$	$3,49 \pm 0,30$
		6				
Valószínűség	I./II. I./III.		$P < 0,01$ $P < 0,01$	$P < 0,01$ $P < 0,01$	$P < 0,01$ $P < 0,01$	$0,02 < P < 0,05$ $P < 0,01$

* Középhiha
 ** Hetenként kétszer 1 mg Hogival sc.
 *** 1 tableta = 25 mg diaethylstilboestrol
 **** Boncolás 48 órával a J^{131} injicálás után

J^{131} mennyisége. Az intrathyreoidealis jód anyagcsere, illetve a hormonki-bocsátás csökkenésére utalnak a PBJ^{131}/J^{131} hányados értékei is, mivel ezek nagysága a kezelt állatok minden csoportjában szignifikánsan kisebb, mint a kontroll csoportokban. Ugyancsak szignifikánsan csökkent a kezelt állatok pajzsmirigyének százalékos J^{131} felvétele.

Diskusszió

Korábbi vizsgálatainkkal [18] megegyezően a kezelt állatok testsúlyának jelentős csökkenését, valamint a hypophysisek hyperplasiás, illetve tumoros átalakulását figyeltük meg. Jelen kísérleteinkben a tartós ösztrogénkezelés hatását két eltérő patkánypopulációban vizsgáltuk, és azt tapasztaltuk, hogy a hypophysisek tumoros növekedése különbözik a két állományban. Eredményeink arra utalnak, hogy a hypophysis tumor iránti fogékonyságában törzsi különbség van, vagyis a genetikai konstitúció szerepe jelentős.

A „Rehbrücke-H” törzs patkányaiban a két különböző ösztrogén kezelési módszer is eltérő eredményeket hozott. Míg az ösztroacetát injekciózás minden esetben a hypophysisek tumoros megnagyobbodásához vezetett, addig a DES tablettá implantációja — feltehetően az ösztrogén nem kielégítő felszívódása miatt — az állatok túlnyomó többségében csak hyperplasiás elváltozást idézett elő.

SULLIVAN és SMITH [27] szerint az ösztrogén kezelt patkányok növekedésbeli elmaradása a csökkent táplálékfelvétellel magyarázható. MEITES [22] szerint az ösztrogének nagy dózisban csökkentik a patkányok étvágyát és a hiányos táplálkozás leromlott állapothoz vezet, ami a hypophysis TSH secretiójának csökkenését eredményezi. Véleményünk szerint azonban az ösztrogénnel kezelt állatok kisebb testsúlyában hypophysisek csökkent STH produkciója is feltétlen szerepet játszik [19]. CLIFTON és MEYER [23] patkányokba DES tablettákat implantáltak. 50—70 nap múlva a hypophysis TSH secretióját a hemithyreoidectomia után bekövetkező compensatórikus pajzsmirigy-hyperthrophia mértékéből becsülték meg. Megállapították, hogy a kezelt állatokban a hypophysis TSH aktivitása közel azonos a kontrollokkal. A szerzők szerint az ösztrogén kezelés következtében kialakuló leromlott állapot gátolja ugyan a hypophysis TSH secretióját, ezt azonban kiegyensúlyozza a DES-nek a hypophysis TSH termelésére kifejtett stimuláló hatása.

Kísérleteinkben a kezelt állatok testsúlycsökkenésének megfelelően a pajzsmirigyek súlyában is kisebb-nagyobb mértékű csökkenést figyeltünk meg. Ez a súlycsökkenés azonban látszólagos, mivel a 100 g testsúlyra számított pajzsmirigy-súlyban az egyes csoportok között lényeges eltérést nem találtunk. Hosszantartó ösztrogén kezelés után FELDMAN [13] hasonló eredményeket kapott. HARVEY [16] véleménye szerint figyelembe kell venni a testsúlyt a radio-jód felvétel értékelésénél. A testsúly növekedésével csökken a pajzsmirigy 24 órás J^{131} felvétele. Saját kísérleteinkben az ösztrogénnel kezelt állatok testsúlya mindig kisebb, aminek alapján a pajzsmirigy J^{131} felvételének fokozódnia kellene. A felvétel azonban csökken, így a testsúly változása figyelmen kívül hagyható.

A pajzsmirigyműködés számos paraméterét megvizsgáltuk. Eredményeink egyöntetűen arra utalnak, hogy a hathónapos ösztrogén kezelés a *pajzsmirigyműködés szignifikáns csökkenését idézi elő*. Vizsgálataink szerint

a kezelt állatok pajzsmirigyének mind *in vivo*, mind *in vitro* mért J^{131} felvétele a kontrollokhoz képest alacsonyabb értékeket mutatott és a mirigy jó leadása is nagyobb mértékben lelassult. A hormonsecretio is csökkent, erre mutatnak a vérszérum vizsgálatok: a kezelt állatok szérumfehérjéjéhez kötött J^{131} tartalma a kontrolloknál szignifikánsan kisebb. Különbséget kell tehát tennünk a rövid ideig tartó, kis dózissal történő kezelés, és a hosszú, nagy dózissal történő kezelés eredménye között. PALKOVICS és mtsai [25] a pajzsmirigy szöveti szerkezetének kvantitatív értékelése segítségével — mások munkáit megerősítve — a kis dózisú ösztrogén működést fokozó hatását állapították meg. Jelen adatok alapján azonban nem fogadható el az a véleményük, hogy ez a stimuláció független a dózistól és a kezelés tartamától. Hosszantartó nagy dózisú ösztrogén kezelés a pajzsmirigy működését csökkenti.

A hatásmechanizmust illetően kísérleteink nem nyújtanak támpontot, a következő lehetőségek felvetése mégis jogos:

1. A tartós ösztrogén túlsúly hypothalamikus, vagy közvetlen hypophysealis támadásponttal a reguláló rendszer olyan károsodását idézi elő, amely a tumorosan átalakuló hypophysisek TSH termelésének csökkenéséhez vezet.

2. Az ösztrogének a pajzsmirigy jódakumulációját gátolják.

3. A patkányok nagymértékű fogyása miatt a kialakuló leromlott állapot következményeként alacsonyabb TSH és STH secretió tételezhető fel.

Összefoglalás

A szerzők patkányokban hat hónapig tartó nagy dózisú ösztrogén kezelés végén a hypophysisek hyperplasiás, illetve tumoros megnagyobbodását észlelték. A pajzsmirigyműködés különböző paramétereit jódízotópos módszerekkel vizsgálva a mirigy csökkent működését állapították meg az *in vivo* és *in vitro* mért J^{131} felvétel és leadás, valamint a jódhormonsecretio vonatkozásában. Az eredmények más szerzők adataival való összehasonlítása után feltevéseket sorolnak fel a kezelés hatásmechanizmusára vonatkozóan.

IRODALOM

1. AMESBURY, O. F., CONTOPOULOS, A. N., KONEFF, A. A. (1965) Effects of oestrogen on pituitary function. *Acta endocr.* 48, 355.
2. BECKER, C., DE VISCHER, M. (1961) Ovary and thyroid secretion. *Acta endocr.* 36, 343.
3. BITHELL, J. F., BROWN-GRANT, K. (1968) An experimental analysis of the effects of oestrogen on thyroid gland of castrated and adult male rats. *J. Endocr.* 40, 397.
4. BOCCABELLA, A. V., ALGER, E. A. (1964) Influence of oestradiol on thyroid: serum radioiodide concentration ratios of gonadectomized and hypophysectomized rats. *Endocrinology* 74, 680.
5. BOGDANOVE, E. M., HORN, E. H. (1958) Thyroid iodide concentration in oestradiol-treated hypophysectomized rats. *Endocrinology* 62, 97.
6. BROWN-GRANT, K. (1955) The effects of some gonadal hormones on thyroid activity in the rabbit. *J. Physiol.* 127, 390.
7. BROWN-GRANT, K. (1968) The effect of a single injection of estradiol benzoate on thyroid function in intact male rats. *Canad. J. Physiol. Pharmacol.* 46, 697.
8. CLIFTON, K. H., MEYER, R. K. (1956) Effect of food intake on the secretion of thyrotrophin during diethylstilbestrol treatment. *Endocrinology* 58, 681.

9. DELOST, M. P., DELOST, M. H. (1957) Influence des hormones sexuelles sur l'activité thyroïdienne de l'hypophyse. *C. R. Acad. Sci. (Paris)* 245, 208.
10. DOWLING, L. T., FREINKEL, N., INGBAR, S. H. (1956) Effect of diethylstilbestrol on the binding of thyroxine in serum. *J. Clin. Endocr.* 16, 1491.
11. ENGBRING, N. H., ENGSTRÖM, W. W. (1959) Effects of estrogen and testosterone on circulating thyroid hormone. *J. Clin. Endocr.* 19, 783.
12. ESKIN, B. A., DRATMAN, M. B., DEWITT-PETTIT, M. (1961) The influence of ovarian hormones on goitrogenesis. *Endocrinology* 69, 195.
13. FELDMAN, J. D. (1956) Effects of estrus and estrogen on thyroid uptake of I^{131} in rats. *Endocrinology*, 58, 327.
14. FLORSHEIM, W. H. (1958) Effect of estrone on some criteria of thyroid function. *Amer. J. Physiol.* 193, 408.
15. GROSVENOR, C. E. (1962) Effects of estrogen upon thyroidal I^{131} release and excretion of thyroxine in ovariectomized rats. *Endocrinology*, 70, 673.
16. HARVEY, R. F. (1968) Influence of body weight on thyroidal uptake of radioiodine. *J. Clin. Endocr.* 28, 912.
17. JENSEN, S. E. (1959) Studies of the effect of diethylstilbestrol the plasma lipids and thyroid function. *Acta Med. Scand.* 164, 1.
18. KURCZ, M., TIBOLDI, T., KOVÁCS, K., OROSZ, A., JULESZ, M. (1966) Der Prolaktin gehalt der durch Östrogenverabreichung in den intrasellären und in die vordere Augenkammer transplantierten Rattenhypophysen hervorgerufenen Tumoren. *Endokrinologie*, 50, 316.
19. KURCZ, M., NAGY, I., GERHARDT, V., BARANYAI, P. (1968) Starch gel electrophoresis of rat adenohypophysis under different physiological and pathophysiological conditions. *Acta Biol. Acad. Sci. Hung.* 19, 123.
20. LAMBERG, B. A. (1968) Thyroid function tests. *Acta endocr.* 56, 153.
21. MEANS, J. H., DEGROOT, L. J., STANBURY, J. B. (1963) The thyroid and its diseases. McGraw-Hill Book Comp., Inc., New York, Toronto, London, 618.
22. MEITES, J. (1949) Relation of food intake to growthdepressing action of natural and artificial estrogens. *Amer. J. Physiol.* 159, 281.
23. MEYER, R. K., CLIFTON, K. H. (1956) Effect of diethylstilbestrol-induced tumorigenesis on the secretory activity of the rat anterior pituitary gland. *Endocrinology* 58, 686.
24. NOACH, E. L. (1955) Influence of estrogens on thyroid function. *Acta endocr.* 19, 127.
25. PALKOVITS, M., CZEIZEL, E., PALKOVITS, I. (1967) Quantitative histologische Untersuchung bezüglich der Wirkung von Oestrogenen auf die Schilddrüse von Ratten. *Endokrinologie* 52, 232.
26. PASCHKIS, K. E., CANTAROW, A., PEACOCK, W. C. (1948) Influence of estrogens on thyroid function as measured by uptake of radioactive iodine. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 68, 485.
27. SULLIVAN, L. W., SMITH, T. C. (1957) Influence of estrogens on body growth and food intake. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 96, 60.
28. WOLTERINK, L. F., LEE, C. C., OLSEN, K., MURRA, Y. M. (1950) *Fed. Proc.* 9, 138. cit. by FELDMAN, J. D., DANOWSKI, T. S. (1956) Effect of estrogen on the metabolism of protein bound iodine. *Endocrinology* 59, 463.
29. YAMADA, T., TAKEMURA, Y., KOBAYASHI, I., SCHICHIJO, K. (1966) Re-evaluation of the effect of estrogen on thyroid activity in the rat and its mechanism. *Endocrinology* 79, 849.
30. WERNER, S. C., NAUMAN, J. A. (1968) The thyroid. *Ann. Rev. Physiol.* 30, 213.

ВЛИЯНИЕ ДЛИТЕЛЬНОГО ПРИМЕНЕНИЯ БОЛЬШИХ ДОЗ ЭСТРОГЕНА НА ФУНКЦИЮ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ КРЫС

А. Орос, М. Курц и И. Надь

После шестимесячного применения больших доз эстрогена авторы выявили гиперпластическое, а также опухолевидное увеличение гипофиза крыс. Различные показатели функции щитовидной железы, исследованные при помощи меченых атомов йода, указывают на снижение ее функции в отношении секреции йод-гормона, а также усвоения и выделения I^{131} в условиях *in vivo* и *in vitro*. После сравнения результатов с данными и выводами других авторов высказаны предположения о механизме действия данного влияния.

DIE WIRKUNG EINER LANGANDAUERNDEN UND IN GROßER DO SIS
VERABREICHTEN ÖSTROGENBEHANDLUNG AUF DIE
SCHILDDRÜSENFUNKTION VON RATTEN

von

A. Orosz, M. Kurcz und I. Nagy

Bei Ratten, die sechs Monate lang mit einer großen Dosis Östrogen behandelt wurden, beobachteten die Verfasser eine hyperplatische bzw. tumoröse Hypophyse. Die verschiedenen Parameter der Schilddrüsenfunktion wurden mit einem Jodisotopsystem untersucht, und es wurde in der *in vivo* und *in vitro* gemessenen J^{131} -Aufnahme und -abgabe sowie bei der Jodhormonsekretion eine Verminderung der Drüsenfunktion festgestellt. Nach dem Vergleich der Resultate mit den Daten anderer Autoren führen sie Hypothesen über den Wirkungsmechanismus der Behandlung an.

PROLACTIN AKTIVITÁS LOKALIZÁLÁSA NÉHÁNY FAJ ADENOHYPHYSISÉNEK POLYACRYLAMID-GÉL ELEKTROFORETOGRAMJÁBAN*

NAGY IVÁN, KURCZ MIHÁLY, BARANYAI PÁL

Heim Pál Gyermekkórház (Igazgató: Prof. Dr. Sárkány Jenő) Központi Laboratóriuma; Országos Közegészségügyi Intézet. (Főigazgató: Prof. Dr. Bakács Tibor) Biológiai és Biokémiai Osztálya, Budapest

Bevezetés

A SMITHIES [53]—POULIK-[49] féle keményítő-gél elektroforézis alkalmas módszernek bizonyult a proteohormonok tisztaságának, homogenitásának és a hypophysis extraktumok fehérje összetételének a vizsgálatára [4, 6, 7, 8, 9, 16, 17, 18, 26, 40, 41, 42, 46, 47]. Az ORNSTEIN [45] és DAVIS [14] által leírt acrylamid-gél elektroforézissel ezek a vizsgálatok pontosabban, ugyanakkor egyszerűbben és gyorsabban elvégezhetőek. A patkány hypophysis prolactin és somatotrophin tartalmának különböző hatásokra bekövetkező változása a két módszerrel semiquantitatív pontossággal mérhető [4, 6, 9, 10, 23, 26, 27, 28, 37, 38, 50, 52, 54]. Újabb vizsgálataink azt bizonyították, hogy acrylamid-gél elektroforézissel a patkány adenohypophysis prolactin tartalma quantitativé is meghatározható [44].

Jelen munkánkban a következő kérdésekre kívántunk választ kapni:

1. Milyen különbségek vannak az általánosan használt kísérleti állatok adenohypophysiseinek elektroforetogramjai között.

2. Van-e eltérés a prolactin aktivitást mutató frakció vagy frakciók elektroforetikus mobilitásában és lokalizációjában.

3. Van-e lehetőség arra, hogy az alkalmazott módszerrel az adenohypophysis prolactin tartalmát a vizsgált fajokban, quantitativé meghatározzuk.

Anyag és módszer

Vizsgálatainkhoz a következő fajok hypophysiseit használtuk fel: tyúk, galamb, aranyhörsög, patkány, egér, tengerimalac, nyúl, kutya, macska, sertés, szarvasmarha, majom (M. Rhesus) és ember (I. táblázat). A laboratóriumi állatok hypophysisét mély éter narcosisban történő decapitálás után 2—3 percen belül kivettük, az adeno- és neurhypophysist szétválasztottuk és az előbbi alikvot részét elektroforetizáltuk. Néhány esetben a hypophysiseket mélyfagyasztva tároltuk. A szarvasmarha és sertés hypophysiseket is frissen, az állatok levágása után nyertük. Az emberi hypophysisek sectios anyagból származtak. Ezek egy részét acetonban tároltuk, és az ilyen acetonnal vízte-

* Előadásra került a Magyar Biológiai Társaság VIII. Vándorgyűlésén, Gödöllő, 1968. május 25-én.

lenített hypophysisek extraktumait elektroforetizáltuk. Hasonló módon víztelenítettük olyan patkányok adenohypophysiseit is, amelyekben diaethylstilboestrol-propionat tablettá implantálásával prolactint termelő hypophysis tumort indukáltunk [11].

1. táblázat

A vizsgált fajok és az analizált hypophysis mennyiségek

Vizsgált fajok	Az elektroforetizált adenohypophysisek nedves súlya mg		Az elektroforézisek száma		Gélből történt prolactin meghatározás száma
	analitikai	preparatív	analitikai	preparatív	
	gél oszlopon		gél oszlopon		
Aranyhörsög	3,0	17,0	12	4	33
Patkány	1,0; 2,0; 3,0; 4,0	22,6	300	4	110
Patkány tumor por	—	5,0	—	2	11
Egér	3,0	9,0; 15,0	24	9	45
Tengerimalac	3,0	9,0; 15,0	24	3	28
Nyúl	3,0	5,0; 10,0; 15,0; 24,0	12	10	63
Sertés	3,0	5,0; 23,0	24	6	69
Szarvasmarha	3,0	5,0; 15,0	4	8	43
Majom (M. Rhesus)	3,0	11,8; 14,5; 16,5	15	4	36
Ember	3,0	20,9	4	2	14
Ember (acetonos)	0,4	—	12	—	—
Kutya	3,0	—	2	—	—
Macska	3,0	—	6	—	—
Kakas, tyúk	3,0	—	10	—	—
Galamb	3,0	—	2	—	—
Juh prolactin preparátum	0,05; 0,10; 0,20	—	36	—	44
Sertés prolactin preparátum	0,05; 0,10; 0,20	—	15	—	—
„Human prolactin” preparátum	0,20; 0,40	—	16	—	—

A különböző fajok adenohypophysisein kívül megvizsgáltuk a juh* (Panlitar-USA-NIH) és sertés prolactin** tisztított preparátumokat, valamint APOSTOLAKIS [1] módszerével általunk izolált „human prolactin”.

Az adenohypophysisek alikvot részét 0,02 M-os, pH = 7,0-es foszfat pufferben homogenizáltuk. A homogenizáláshoz felhasznált puffer térfogata nem haladta meg a minta-gél térfogatának a felét. A géloszlopra felvitt adeno-

A szerzők köszönettel tartoznak a National Institute of Health-nek (Bethesda, Md., USA) a tisztított juh prolactinért,* és Dr. Gráf Lászlónak (Gyógyszeripari Kutató Intézet, Budapest) a sertés prolactin** preparátumért.

hypophysis nedves szövet mennyiségeket az 1. táblázaton foglaltuk össze. Eldörzsölés után a homogenizátumokhoz nagypórusú gél oldatot adtunk, a mintával összekevertük, a szövettörmeléket centrifugáltuk, és az így kapott felülúszót elektroforetizáltuk. Az analitikai géloszlopokra 1–4 mg adenohipophysis nedves szövetet, a preparatív oszlopra pedig 5–24,0 mg-ot vittünk fel. A juh prolactin különböző mennyiségeit szintén az említett pufferben, a sertés és „human prolactint” 0,05 N NaOH-ban oldottuk, majd sósavas semlegesítés után kevertük a nagypórusú gél oldattal. A preparátumok jól oldódtak, az elektroforézis előtt ezeket nem centrifugáltuk.

Az elektroforézist ORNSTEIN [45] és DAVIS [14] módszere szerint végeztük, csupán a géloszlopok méreteit változtattuk meg. Az analitikai oszlopok kispórusú géljeinek volumené 2,0 ml, hossza 66,0 mm volt, amelyekre a 0,2–0,2 ml „spacer” és minta gél oldatát rétegeztük. Az elektroforézis időtartama 120 perc, 300 V feszültséggel és 46–48 mA áramerősséggel. A preparatív oszlopok hossza 140 mm, 10,0 ml-es kis- és 1,0–1,0 ml-es nagypórusú gél térfogattal. A preparatív elektroforézisek időtartama 500 V feszültség és 40 mA áramerősség mellett 360 perc. Az elektroforézis befejezése után az analitikai géleket 60, a preparatívokat 90 percig festettük 1% naphtalene black 10B (C. I. 20470, „Reanal” Budapest) 7%-os ecetsavas oldatával. Az analitikai gélekből a felesleges festéket 7%-os ecetsavval távolítottuk el, a preparatív géleket elektroforetikusan színtelenítettük [14].

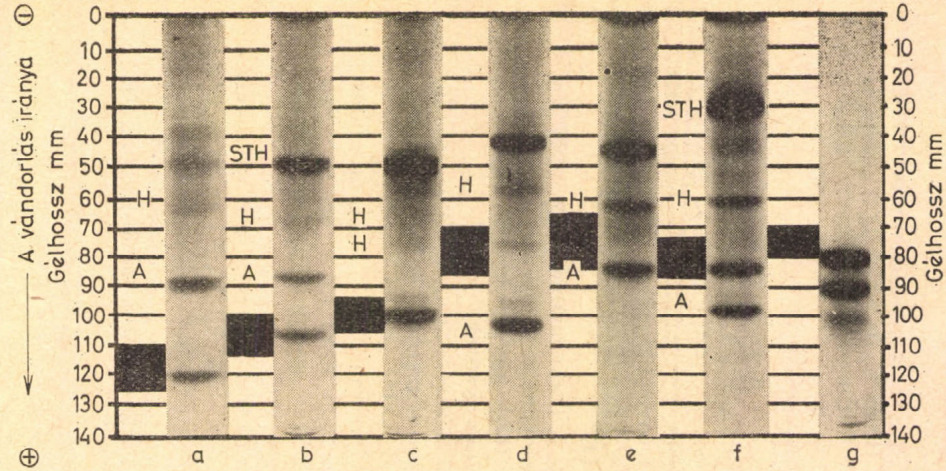
A preparatív gélen történt szeparálásnál a frakcionálódás az analitikai gélével azonos volt. A frakciók száma minden esetben megegyezett. A preparatív géloszlopok méretei nagyobbak — rajtuk több anyag szeparálható — az egyes frakciók közötti távolságok arányosan növekedtek.

Az egyes frakciók prolactin aktivitását GROSVENOR és TURNER [20] általunk módosított [24] galambbegy mikro-módszerével határoztuk meg. A festetlen géloszlopokat festett paralellejek frakciói alapján szétvágtuk, és az így kapott gélkorongok nagyságának megfelelően 1,0–2,5 ml desztillált vízben homogenizáltuk. A homogenizátumokat 24 órán át 4°-on tároltuk, majd hűtve centrifugáltuk, és a supernatans teljes mennyiségét intradermálisan injektáltuk a galambbegy érzékeny területére fölé.

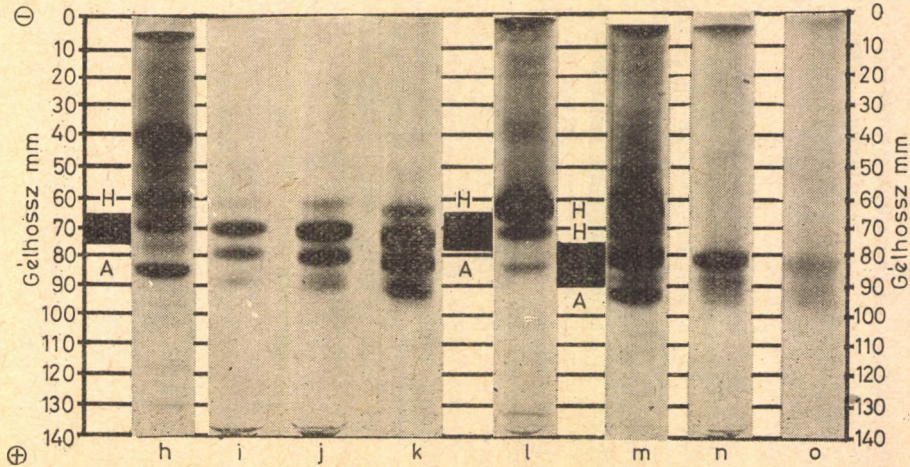
Jelen vizsgálatainkban nem voltunk tekintettel az egyes fajokon belüli egyedi eltérésekre. A patkányra vonatkozóan korábbi munkánkban [26] kimutattuk, hogy a prolactin és az STH aktivitású csík intenzitása függ a kortól, nemtől, a fiziológiai, illetve patofiziológiai állapottól. Ezt más fajok esetében is megfigyeltük. Jelenlegi adataink általában kevert adenohipophysis homogenizátumokból származnak.

Eredmények

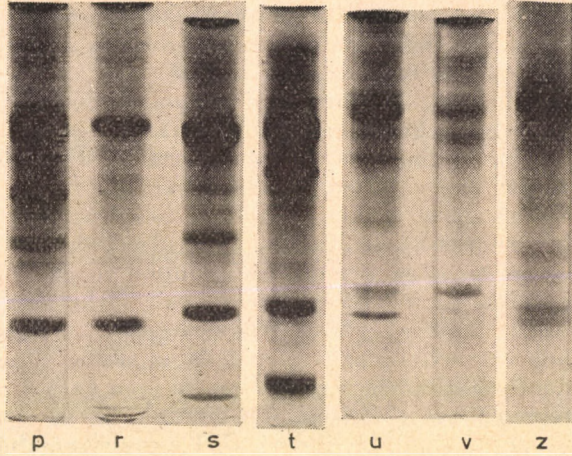
A különböző fajok elektroforetogramjai között jelentős eltérések vannak — még szűkebb értelemben vett rokonsági körökön belül is — amelyeket jól szemléltetnek a rágesálók képei (1a–g. ábra). A legsavanyúbb az aranyhőrcsög prolactin aktivitású frakciója (1a ábra). A vizsgált fajok között ez rendelkezik a legnagyobb mobilitással (4. ábra). Enyhe aktivitás kimutatható a közepes mobilitású másik prominens frakcióban, az albuminban, és néhány, a post-albumin régióban vándorló, kevésbé intenzív festődésű komponensben. Ezek az aktivitások azonban a P-vel jelzett frakcióéhoz képest elenyészőek



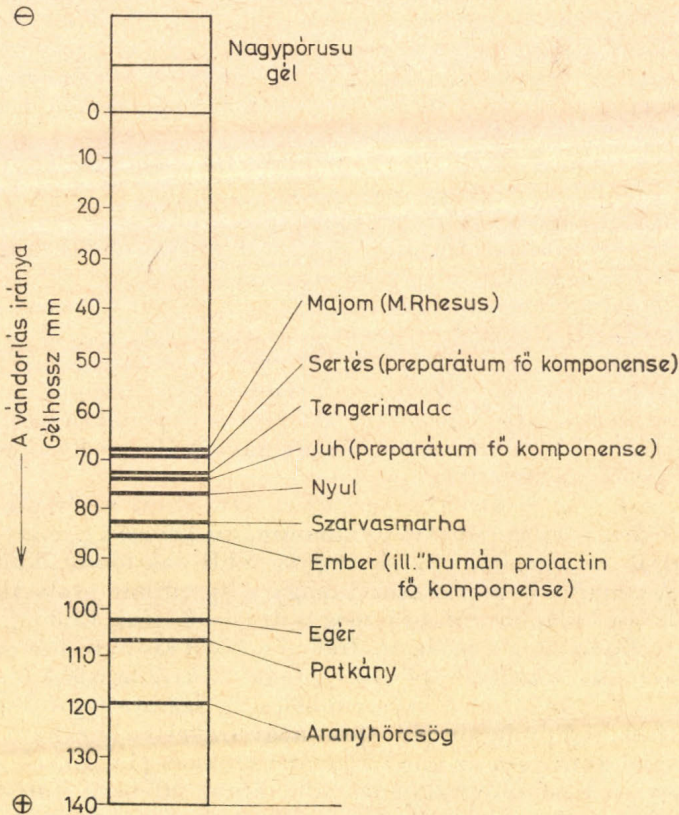
1. ábra. a) aranyhőrsög; b) patkány; c) egér; d) nyúl; e) tengerimalac; f) szarvasmarha; 3,0–3,0 mg adenohypophysisének elektroforetogramja; g) 0,20 mg juh prolactin (Panlitar-NIH). Az elektroforetogramok melletti skála feketén satírozott része a maximális prolactin aktivitás helyét jelöli. A = albumin, STH = somatotrophin, H = haemoglobin



2. ábra. h) 3,0 mg sertés adenohypophysis; 0,05—; j) 0,10—; 0,20 mg sertés prolactin (Dr. Gráf); l) 3,0 mg majom; m) 3,0 mg emberi hypophysis; n) 0,40 mg acetonban víztelenített emberi hypophysis; o) 0,40 mg „human prolactin” elektroforetogramja. Az elektroforetogramok melletti skála feketén satírozott része a maximális prolactin aktivitás helyét jelöli. A = albumin, STH = somatotrophin, H = haemoglobin



3. ábra. p) nőstény —; r) csecsemő —; s) hím macska; t) kutya; u) kakas; v) tyúk; z) galamb 3,0–3,0 mg adenohipophysisének elektroforetogramja



4. ábra. Különböző speciestek adenohipophysiséből elektroforetikusan szeparált maximális prolactin aktivitást mutató frakció mobilitása és lokalizációja

voltak. Itt jegyezzük meg, hogy a hypophysisekből szeparált albumint a megfelelő fajok szérum elektroforetogramjának albuminja alapján verifikáltuk. Ez minden esetben intenzíven festődő frakció.

Patkány esetében a prae-albumin régióban vándorló frakció mutat nagy aktivitást. Ezen eredményünk megegyezik JONES és munkatársai [23], LEWIS és munkatársai [37], valamint KRAFT és MEITES [28] eredményeivel és korábbi keményítő-gél elektroforézises adatokkal [3, 9]. Az említett szerzők patkánynál az STH-t a post-albumin régióban legintenzívebb festődést mutató bázikus fehérjében tudták kimutatni. Ha az általunk elektroforetizált patkány adenohipophysis mennyisége preparatív oszlopon meghaladta a 20,0 mg-ot, kis prolactin aktivitás az STH-ként identifikált frakcióban is mutatkozott. 3,0 mg elektroforézise esetén — analitikai oszlopon — a maximális aktivitást mutató frakcióhoz viszonyítva az STH-ban és az albuminban csak akkor tudunk enyhe prolactin aktivitást regisztrálni, ha igen nagy specifikus prolactin aktivitású homogenizátumot elektroforetizáltunk, és az ilyen elektroforetogramok több egyesített albumin, illetve STH segmentumból készült extraktum aktivitását vizsgáltuk meg. Hasonló eredményekről számoltak be BAKER és munkatársai [3], valamint KRAFT és MEITES [28].

A diaethyl-stilboestrollal indukált patkány hypophysis tumor 5,0 mg, acetonnal szárított porát elektroforetizálva prolactin aktivitás csak a kontroll patkány prolactinjának megfelelő helyen mutatkozott. Az ilyen állatok elektroforetogramjában a start és az albumin közötti területen prolactin aktivitás nélküli, intenzíven festődött diffúz homály látható. A tumoros hypophysisekkel kapcsolatos eredményeink megegyeznek régebbi, keményítő-gél elektroforézises adatainkkal [26].

Az *egér* hypophysisének specifikus prolactin aktivitása kicsi [21]. A jelzett helyen 15,0 mg hypophysis szeparálásakor a többi fajhoz hasonlítva lényegesen kisebb az aktivitás. A gél többi részén prolactin nem mutatható ki (1c. ábra). Az aktív helyen három, egymástól rosszul elváló frakció látható. Mivel ezek lokalizációjával a szérum albuminé is megegyezik, jelenleg nem tudjuk megmondani, hogy melyik csík felelős a prolactin aktivitásért. KWA és munkatársai [30] vizsgálatai szerint a tisztított egér prolactin gyorsabban vándorol az anód felé, mint a homológ albumin.

A *nyúl* prolactin az alkalmazott rendszerben közepes mobilitásúnak bizonyult (1d. ábra). Nagy specifikus aktivitású hypophysisek (pl. gravid és szoptató nyulak) elektroforézisekor néhány savanyúbb és bázikusabb frakció is mutatott prolactin aktivitást.

A *szarvasmarha* elektroforetogramjára (1f. ábra) négy prominens disc jellemző. A legnagyobb mobilitású az albumin, ezt követi a prolactin, a haemoglobin és végül, az irodalmi adatok alapján STH-nak identifikálható frakció [19]. A szarvasmarha hypophysisének nagy a specifikus prolactin aktivitása [21]. Vizsgálataink alapján ezt mi is meg tudtuk erősíteni. 15,0 mg adenohipophysist elektroforetizálva a prolactin frakción kívül kis aktivitás gyakorlatilag minden frakcióban kimutatható. Ez 5,0 mg elektroforézisekor a prolactin utáni frakcióból eltűnik, de az albuminból még kimutatható.

A tisztított *juh* prolactin (1g. ábra) négy frakcióra bontható. Ezek festődése és biológiai aktivitása az anód irányába csökken [13, 15, 17, 48, 50].

A *sertés* elektroforetogramjának (2h. ábra) intenzív festődésű frakciói a post albumin régióban láthatók. Maximális prolactin aktivitást a haemoglobin és az albumin közötti gélrészben észleltünk. A sertés hypophysisének szin-

tén magas a specifikus prolactin aktivitása. 23,0 mg-os minta esetén a 30 és 90 mm közötti gélrész frakciói a prolactin „peak”-hez viszonyítva is jelentős aktivitást mutatnak. 5,0 mg elektroforézisekor a post-prolactin régióban észlelt aktivitás eltűnik, a prolactinon kívül a prolactin és az albumin közötti területen látható frakció mutat enyhe aktivitást. A sertés adenohypophysisének electrophoretogramjában a prolactin aktivitású frakció lokalizációja meg-egyezik a tisztított sertés prolactin fő frakciójának lokalizációjával (2i-k. ábra).

A majom (*M. Rhesus*) hypophysisében az albumin jelentéktelen frakciónak tűnik. Mobilitásában ezt követi a prolactin aktivitású frakció, majd egy igen intenzív festődésű komponens, amely a haemoglobintól gyakorlatilag nem választható el. Ez a frakció viszont a prolactinhoz is nagyon közel van, ami a gél e két frakciója közötti pontos szétvágást nagyon megnehezíti. Talán ezzel magyarázható ezen frakció enyhe prolactin aktivitása.

A 23,0 mg emberi hypophysis (2m. ábra) elektroforézisekor enyhe prolactin aktivitás minden frakcióban kimutatható. Maximumot az albumin és egy nehezen fracionálódó, haemoglobint is tartalmazó komponens között észleltünk. A frakció azonos lokalizációt mutat az acetonnal víztelenített hypophysis (2n. ábra) lúgos extraktumának prominens disc-jével, és az általunk APOSTOLAKIS [1] módszerével preparált „human prolactin” fő komponensével (2o. ábra).

A 3. ábrán bemutatott fajok elektroforetogramjában a prolactin aktivitást nem lokalizáltuk.

Diskusszió

Vizsgálataink eredményei azt mutatják, hogy az elektroforetogramok az egyes specierekre jellemzőek. Jellegüket elsősorban 3–4 promienens frakció különböző elhelyezkedése adja meg. Ezek közül identifikáltuk az albumint és a prolactint. A legtöbb esetben a haemoglobin is egy kifejezett, a festetlen gélben is jól látható disc formájában vándorol. A különböző specierek albuminja nem mutat nagy mobilitásbeli különbséget. Elhelyezkedése alapján a gél felosztható egy prae- és post-albumin regiona.

A vizsgált fajok közül az aranyhüresög és a patkány prolactin a prae-albumin régióban lokalizálható, nagy mobilitású frakció. A mobilitás csökkenésének sorrendjében ezeket az egér prolactin követi. A többi vizsgált species prolactinja mind post-albumin frakció, mobilitásuk fajra jellemző, majdnem fele az előbb említett három rácsalóéknak. Ha figyelembe vesszük, hogy a mobilitás, amely adott elektroforézises rendszerben állandó, de a fehérjemolekula töltésének, molekulaszúlyának, nagyságának és szerkezetének a függvénye, levonhatjuk azt a következtetést, hogy a különböző fajok prolactinja között jelentős kémiai és strukturális különbségek vannak. Ez a különbség lehet a prolactin fajspecifitásának az alapja. Az anti-juh prolactin szérum csak a szarvasmarha és juh prolactint precipitálja, de nem reagál az ember, kutya, sertés, nyúl, patkány, tengerimalac és galamb prolactinjával [5, 25]. Ugyanígy nem adott reakciót az anti-juh és az anti-human prolactin szérum a patkány prolactint termelő, tumoros hypophysisének extraktumával [33]. Ezek az eredmények tették fel a prolactin immunológiai meghatározásának a lehetőségét, amelyet nagyon szellemes módon patkány és egér esetében KWA és munkatársai [29, 30, 31], juh esetében pedig ARAI és LEE [2] az utóbbi idő-

ben dolgoztak ki. A mobilitás és lokalizációbeli különbséget, még rokon fajok között is, messzemenően alátámasztják KWA [30] azon eredményei, amelyek szerint az egér és patkány prolactin sem mutat komplett antigén azonosságot. Figyelemre méltóak LI [39] adatai, aki kimutatta, hogy a juh és szarvasmarha prolactin között oldékonysághelyi különbség van, és tirozin tartalmuk is eltérést mutat. FERGUSON és WALLACE [16] elektroforézises vizsgálataik alapján számoltak be a szarvasmarha és juh prolactin közötti különbségekről.

A patkány és szarvasmarha elektroforetogramjában leglassabban vándorló, intenzív festődésű frakció irodalmi adatok alapján STH. A patkány hypophysisének elektroforetogramjában az STH frakció teljesen azonosan vándorolt az általunk REISFELD és munkatársai [51] módszerével izolált, nagy tisztaságú patkány STH-val. A vizsgált rágcslóokban ennek a lassan vándorló komponensnek a helye a patkány STH-val gyakorlatilag azonos. Feltételezzük, ez szintén STH.

Mint említettük, a géloszlop méreteihez képest extrém mennyiségű, vagy nagy specifikus aktivitású homogenizátum elektroforézisekor az igen intenzív, prolactin aktivitású frakció mellett több kisebb disc is mutat enyhe aktivitást. Az elektroforetizált hypophysis mennyiségét csökkentve a prolactin aktivitás csak az előzőleg maximális aktivitást mutató frakcióban jelentkezik. A jelenséggel kapcsolatosan néhány megállapítást tehetünk, jóllehet a kérdés tanulmányozása a jövőben feltétlenül figyelmet érdemel. Nyilvánvaló, hogy az acrylamid-gélnek is limitált a szeparálóképessége. Ezt nem csak az oszlopra felvitt fehérje össz mennyisége, hanem az egyes komponensek aránya is befolyásolja. Egyéb vizsgálataink kapcsán azt tapasztaltuk, hogy ha relatíve nagy mennyiségű juh prolactint elektroforetizáltunk, aktivitás csak a festődésnek megfelelő helyen volt kimutatható. STH preparátumot (CHOAY, Paris) elektroforetizálva a gélből nem mutatható ki prolactin aktivitás. Ha a két preparátumot együtt elektroforetizáltuk, kis prolactin aktivitást az STH is mutatott. Ez azt jelenti, hogy több komponens extrém mennyisége olyan módon befolyásolhatja a szeparálást, hogy lokalizációban eltérést nem eredményez, a fehérje disc-ek kialakulása tökéletes, de ugyanakkor az egyes komponensek egymással szennyeződhetnek [44]. A több ponton jelentkező prolactin aktivitás valószínű okát jelenleg egy ilyen mechanizmussal magyarázzuk. Az előbbi eredmények sem cáfolják azonban annak lehetőségét, hogy a hypophysis esetleg több olyan fehérje komponenst tartalmaz, amelyeknek prolactin aktivitása van. Tény azonban, hogy az aktivitás igen jelentős hányada egyetlen frakcióhoz kapcsolódik, és ez a frakció az alkalmazott rendszerben homogénnek bizonyult.

Ismeretes, hogy a tisztított juh prolactin preparátum több frakciót tartalmaz. Legnagyobb az aktivitása a leglassabban mozgó komponensnek [17, 50]. Mivel a preparátum fehérje tartalmának nagy részét ez a frakció foglalja magába [15, 50], még preparátum esetén is egyetlen frakcióhoz kapcsolódik az abszolút aktivitás zöme [34]. LEWIS kimutatta [34, 35, 36], hogy különböző enzimatis vagy kémiai hatásokra a prolactin fragmentálódik. REISFELD és munkatársai [50] adataiból arra következtethetünk, hogy a prolactin izolált fő komponense olyan kémiai hatásokra is degradálódik, amelyek a preparálási procedúra folyamán előfordulnak. Minden bizonnyal ezek a hatások is előidézhetik a tisztított juh és sertés prolactin jellegzetes elektroforetikus inhomogenitását. Az elektroforézis ideje alatt a proteolitikus enzimek hatása ugyan nem zárható ki, de véleményünk szerint ez

a szeparálási technika lényegesen kíméletesebb a szokásos prolactin preparálási módszereknél [1, 12, 22, 43]. Az aranyhörcsög és patkány prolactin egyáltalán nem mutatnak ilyen degradációs jelenséget, de a többi speciesnél sem figyelhető meg egy olyan jellegű kép kialakulása, mint a tisztított preparátumok esetében. Az elektroforetogramokon a maximális prolactin aktivitás mellett kimutatható kisebb aktivitásokért — a gél szeparálóképessége mellett — enzimhatások inkább szerepet játszanak, mint a kémiai anyagok degradáló hatása.

Eredményeink alapján az a véleményünk, hogy a polyacrylamid gél elektroforézissel több faj adenohypophysisének prolactin tartalma kvantitatíve meghatározható. A meghatározás kritériumai: az illető speciesre nézve optimálisan elektroforetizálható hypophysis mennyiségének ismerete, a prolactin aktivitású frakció lokalizálása és az ehhez kapcsolódó extinkció és biológiai aktivitás közötti összefüggés megállapítása.

Összefoglalás

A szerzők polyacrylamid-gél elektroforézissel vizsgáltak tyúk, galamb, aranyhörcsög, patkány, egér, tengerimalac, nyúl, szarvasmarha, sertés, majom (M. Rhesus) és human adenohypophysisekből készült homogenizátumokat, valamint néhány prolactin preparátumot. Megállapították, hogy az egyes fajok elektroforetogramjai még szűkebb értelemben vett rokonsági körökön belül is nagy eltéréseket mutatnak. Identifikálták az albumint, a haemoglobint és a prolactint. A különböző fajok prolactin aktivitású frakciójának az elektroforetikus mobilitása eltérő. A jelenséget fiziko-kémiai különbségekkel magyarázzák, és alátámasztják a prolactin fajspecifitását és fiziko-kémiai tulajdonságairól közölt adatokkal. A prolactin aktivitás a vizsgált fajokban egyetlen frakcióhoz, vagy egy prominens és több gyengébben festődő komponenshez kapcsolódik. Részletesen tárgyalják ez utóbbi jelenség lehetséges okait.

Véleményük szerint a polyacrylamid-gél elektroforézis a prolactin aktivitás lokalizációja, a frakció extinkciója és biológiai aktivitása közötti összefüggés ismeretében széles körben alkalmazható módszer az adenohypophysis prolactin tartalmának a meghatározására.

*

A szerzők köszönetüket fejezik ki technikai munkatársaiknak, Hejtejer Lászlónénak, Szulinszky Antóniának, Lazarits Miklósnak, Káldi Istvánnénak és Szarka Ilonának az igen gondos munkájukért.

IRODALOM

1. APOSTOLAKIS, M. (1965) The extraction of prolactin from human pituitary glands. *Acta endocr.* 49, 1—16.
2. ARAI, Y., LEE, T. (1967) A double-antibody radioimmunoassay procedure for ovine pituitary prolactin. *Endocrinology* 81, 1041—1046.
3. BAKER, B. L., CLARK, R. H., HUNTER, R. L. (1963) Starch gel electrophoresis of rat hypophysis in relation to prolactin activity. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 114, 251—255.
4. BAKER, B. L., ZANOTTI, D. B. (1966) Electrophoresis of pituitary proteins after treatment of rats with norethynodrel. *Endocrinology* 78, 1037—1040.

5. BARANYAI, P., NAGY, I., KURCZ, M., OROSZ, A. (1966) Species specificity of prolactin. *Nature* 212, 1255.
6. BARANYAI, P., NAGY, I., KURCZ, M. (1967) Einrichtung für die Fraktionierung der Eiweissstoffe der Adenohypophyse. *Clin. Chim. Acta* 16, 449–451.
7. BARRETT, R. J., FRIESEN, H., ASTWOOD, E. B. (1962) Characterisation of pituitary and peptide hormones by electrophoresis in starch gel. *J. Biol. Chem.* 237, 432–439.
8. CARSTEN, M. E., PIERCE, J. G. (1960) Starch-gel electrophoresis and chromatography in the purification of beef (TSH) thyrotropic hormone. *J. Biol. Chem.* 235, 78–84.
9. CATT, K., MOFFAT, B. (1965) Fractionation of rat pituitary extract by starch gel electrophoresis and identification of growth hormone and prolactin. *Endocrinology* 76, 678–684.
10. CATT, K., MOFFAT, B. (1967) Isolation of internally labeled rat prolactin by preparative disc. lelectrophoresis. *Endocrinology* 80, 324–328.
11. CLIFTON, K. H., MEYER, R. K. (1956) Mechanism of anterior pituitary tumor induction by estrogen. *Anat. Rec.* 125, 68–82.
12. COLE, R. D., LI, C. H. (1955) Studies on pituitary lactogenic hormone. XIV. A simplified procedure of isolation. *J. Biol. Chem.* 213, 197–201.
13. COLÉ, R. D., LI, C. H. (1959) Occurrence of several active components in ovine lactogenic hormones as revealed by zone electrophoresis on starch. *Biochim. Biophys. Acta* 33, 563–570.
14. DAVIS, B. J. (1964) Disc electrophoresis. II. Method and application to human serum proteins. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 121, 404–427.
15. EMMART, E. W., BATES, R. W., CONDLIFFE, P. G., TURNER, W. A. (1963) Immunological studies with ovine prolactin. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 114, 754–763.
16. FERGUSON, K. A., WALLACE, A. L. C. (1961) Starch-gel electrophoresis of anterior pituitary hormones. *Nature* 190, 629–630.
17. FERGUSON, K. A., WALLACE, A. L. C. (1961) Prolactin activity of human growth hormone. *Nature* 190, 632–633.
18. FERGUSON, K. A., WALLACE, A. L. C. (1963) The characterization of pituitary hormones by starch gel electrophoresis. *Recent Progr. in Hormone Res.* Acad. Press, N. Y. 1963, 19, 1–55.
19. FURTH, J., MOY, P. (1967) Use of antibodies to sera of hypophysectomized animals in pituitary hormone analysis and the application of Landsteiner's inhibition test in agar gel immunoassays. *Endocrinology* 80, 435–446.
20. GROSVENOR, C. E., TURNER, C. W. (1958) Pituitary lactogenic hormone concentration and milk secretion in lactating rats. *Endocrinology* 63, 535–539.
21. HURST, W., TURNER, C. W. (1942) Lactogenic hormone content of anterior pituitary gland of albino mouse as compared to other species. *Endocrinology* 31, 334–339.
22. JIANG, N., WILHELMI, A. E. (1965) Preparation of bovine, ovine and porcine prolactin. *Endocrinology*, 77, 150–154.
23. JONES, A. E., FISHER, J. N., LEWIS, U. J., VANDERLAAN, W. P. (1965) Electrophoretic comparison of pituitary glands from male and female rats. *Endocrinology* 76, 578–583.
24. KURCZ, M. (1966) Specificity of the micro-test of the pigeons crop-sac for prolactin determination. *Ann. Univ. Sci. Budapest de Rolando Eötvös, Sect. Biol.* 8, 149–154.
25. KURCZ, M., NAGY, I., BARANYAI, P., OROSZ, A., AJTAI, K. (1967) Prüfung der immunologischen Eigenschaften des auf einfache Prolaktinbehandlung entstandenen Anti-prolaktinserums. *Endokrinologie*, 51, 307–313.
26. KURCZ, M., NAGY, I., GERHARDT, V. J., BARANYAI, P. (1968) Starch-gel electrophoresis of rat adenohypophysis under different physiological and pathophysiological conditions. Comparison of newborn, adult, old male and female, animals, thyroidectomized, androgenized, castrated and lactating animals; tumorous animals and those with implanted hypophysis. *Acta Biol. Acad. Sci. Hung.* 19, 123–131.
27. KURCZ MIHÁLY, NAGY IVÁN, GERHARDT JÓZSEFNÉ, BARANYAI PÁL. (1968) Androgenizált nőstény és hím patkány adenohypophysis STH és LTH tartalmának analízise acrylamid-gél elektrophoresissel. *Kísérl. Orvostud.* 20, 380–386.
28. KRAFT, C. L., MEITES, J. (1966) Separation of rat anterior pituitary hormones by polyacrylamide gel electrophoresis. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 121, 805–808.
29. KWA, H. G., VERHOFSTAD, F. (1967) Radioimmunoassay of rat prolactin. *Biochim. Biophys. Acta* 133, 186–188.
30. KWA, H. G., VAN DER BENT, E. M., PROP, F. J. A. (1967) Studies on hormones from the anterior pituitary gland. II. Identification and isolation of prolactin from the „granular” fraction of transplanted rat pituitary tumors. *Biochim. Biophys. Acta* 133, 301–318.

31. KWA, H. G., VERHOFSTAD, F. (1967) Prolactin levels in the plasma of female (C₅₇BLx6BA) F₁ mice. *J. Endocr.* 38, 81—82.
32. KWA, H. G., VERHOFSTAD, F., VAN DER BENT, E. M. (1967) Radioimmunoassay of mouse prolactin based upon a protein isolated from prolactin producing pituitary tumors *Acta Physiol. Pharmacol. Neerl.* 14, 514—518.
33. LEVY, R. P., SAMPLINER, J. (1962) Prolactin, immunologic evidence of species specificity. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 109, 672—673.
34. LEWIS, U. J. (1962) Enzymatic transformations of growth hormone and prolactin. *J. Biol. Chem.* 237, 3141—3145.
35. LEWIS, U. J. (1963) Factors that affect the fragmentation of growth hormone and prolactin by hypophyseal proteinases. *J. Biol. Chem.* 238, 3330—3335.
36. LEWIS, U. J., CHEEVER, E. V. (1965) Evidence for two types of conversion reactions for prolactin and growth hormone. *J. Biol. Chem.* 240, 247—252.
37. LEWIS, U. J., CHEEVER, E. V., VANDERLAAN, W. P. (1965) Alteration of the proteins of the pituitary gland of the rat by cortisol and estradiol. *Endocrinology* 76, 362—368.
38. LEWIS, U. J., CHEEVER, E. V. (1967) Effect of toluene on bovine growth hormone and prolactin in pituitary extracts *Endocrinology*, 81, 1338—1348.
39. LI, C. H. (1961) Anterior pituitary hormones. *Postgrad. Med.* 29, 13—23.
40. LI, C. H. (1962) Preliminary investigations on the action of pepsin on human pituitary growth hormone. *J. Gen. Physiol.* 45, 169—175.
41. LLOYD, H. M., MEARES, J. D. (1962) Electrophoresis in starch gel of extracts of human anterior pituitary glands with bioassay of gonadotrophin. *Acta endocr.* 39, 163—174.
42. LLOYD, H. M., MEARES, J. D. (1965) Starch gel electrophoresis of extracts of human anterior pituitary glands and tumors. *Clin. Chim. Acta* 11, 238—243.
43. LYONS, W. R. (1936—1937) Preparation and assay of mammatropic hormone. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 35, 645—648.
44. NAGY IVÁN, KURCZ MIHÁLY, BARANYAI PÁL (1969) Új biokémiai micro-módszer a patkány adenohypophysis prolactin tartalmának meghatározására. *Kísérl. Orvostud. közlés* alatt.
45. ORNSTEIN, L. (1964) Disc. Electrophoresis. I. Background and theory. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 121, 321—349.
46. PAPKOFF, H., LI, C. H. (1958) The isolation and characterization of growth hormone from sheep pituitary glands. *Biochim. Biophys. Acta* 29, 145—151.
47. PAPKOFF, H., LI, C. H., LIU, W. K. (1962) The isolation and characterisation of growth hormone from porcine pituitaries. *Arch. Biochem. Biophys.* 96, 216—225.
48. PIERCE, J. G., CARSTEN, M. E. (1958) A micromethod of electro dialysis and its application to thyrotropic hormone. *J. Amer. Chem. Soc.* 80, 3482—3486.
49. POULIK, M. D. (1957) Starch gel electrophoresis in a discontinuous system of buffers. *Nature* 180, 1477—1479.
50. REISFELD, R. A., WILLIAMS, D. E., CIRILLO, V. J., TONG, G. L., BRINK, N. G. (1964) Characterisation of sheep prolactin. *J. Biol. Chem.* 239, 1777—1782.
51. REISFELD, R. A., MUCCELLI, A. S., WILLIAMS, D. E., STEELMAN, S. L. (1964) Preparation of rat growth hormone. *Nature* 201, 821—823.
52. SAXENA, B. B., HENNEMAN, P. H. (1966) Isolation and properties of the electrophoretic components of human growth hormone by Sephadex-gel filtration and preparative polyacrylamide-gel electrophoresis. *Biochem. J.* 100, 711—717.
53. SMITHIES, O. (1955) Zone electrophoresis in starch gels: group variations in the serum proteins of normal human adults. *Biochem. J.* 61, 629—641.
54. VANDERLAAN, W. P., LEWIS, U. J., JONES, M. D., FISHER, J. N. (1964) Practical human growth hormone. Preparation and clinical use. *Calif. Med.* 100, 175—179.

ЛОКАЛИЗАЦИЯ АКТИВНОСТИ ПРОЛАКТИНА АДЕНОГИПОФИЗА НЕКОТОРЫХ ВИДОВ НА ЭЛЕКТРОФЕРОТОГРАММЕ ПОЛИАКРИЛАМИД-ГЕЛЯ

{И. Надь М. Курц и П. Бараняй

Авторы исследовали при помощи электрофореза полиакриламидного геля гомогенаты, полученные из аденогипофиза кур, голубей, сибирских хомяков, крыс, морских свинок, зайцев, крупного рогатого скота, свиней, обезьяны и человека. Исследовали также некоторые препараты пролактина. Выявили, что электроферотограммы отдельных видов обнаруживают большие отклонения даже внутри узкого круга родственных видов.

Идентифицировали альбумин, гемоглобин и пролактин. Электрофоретическая подвижность фракций разных видов, обладающих различной активностью, пролактина, не одинаковая. Это явление объясняют физико-химическими отличиями, и в подтверждение этого приводят литературные данные о видовой специфичности и физико-химических свойствах пролактина. У исследованных видов активность пролактина связана с одной единственной фракцией, или с одним выдвигающимся и многими, слабо окрашиваемыми компонентами. Возможные причины последнего явления подробно обсуждаются.

По мнению авторов, если известна взаимосвязь между локализацией активности пролактина, экстинцией его фракций и его биологической активностью, методика электрофореза полиакриламидного геля может широко применяться для определения содержания пролактина в аденогипофизе.

LOCALIZATION OF PROLACTIN ACTIVITY IN POLYACRYLAMIDE-GEL ELECTROPHORETOGRAMS OF THE ADENOHYPHYSIS OF SOME SPECIES

by

I. Nagy, M. Kurcz and P. Baranyai

Authors investigated homogenisates prepared from the adenohiphysis of the hen, the pigeon, the golden-hamster, the rat, the mouse, the guinea-pig, the rabbit, the cattle, the pig, the monkey (*M. Rhesus*) and man, as well as some prolactin preparates. It was found that the electrophoretograms of some species displayed great deviations even within the narrower sense of kinship. Albumin, haemoglobin and prolactin were identified. The electrophoretic mobility of the fraction's prolactin activity differs in various species. This phenomenon may be explained by physico-chemical differences, and goes to prove the previously published data concerning the prolactin specificity of species and their physico-chemical properties. The prolactin activity of the species investigated is connected to one single fraction or one prominent and several slightly stained components. Possible reasons of the latter circumstance are discussed in detail.

In our opinion, knowing the connection between the localization of prolactin activity, extinction of the fraction and biological activity, polyacrylamide-gel electrophoresis is a method which can be applied in a wide range for determining the prolactin contents of the adenohiphysis

A SZÉN-, A KÉK- ÉS A BARÁTCINEGE HANGJELZÉSEINEK EGYEDFEJLŐDÉSE

SASVÁRI LAJOS—SZŐKE ZSUZSA

Beérkezett: 1969. március 28-án

Az állati szignalizáció vizsgálata az utóbbi években a zoológia egyik legérdekesebb és jelentős kutatási ágává növekedett. A hangos közlés a madarak kommunikációs kapcsolataiban kitüntetett szerepet játszik, így érthető, hogy szép számmal gyarapodtak az egyes madárfajok hangjeleit és ezek funkcionális jelentését tárgyaló tanulmányok. W. E. LANYON [1], E. I. MESSMER [2], F. SAUER [3], W. E. D. SCOTT [4], G. THIELCKE [5], W. H. THORPE [6] e széles kutatási területen belül különös figyelmet szenteltek a hangképzés ontogenetikus folyamatainak.

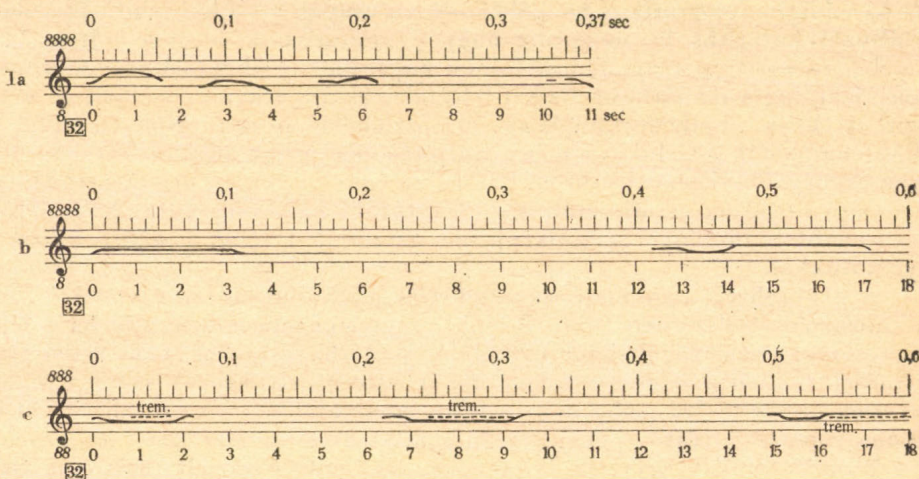
A jelen tanulmány szintén a hangok ontogenetikus kialakulásával kíván foglalkozni, de az eddigitől eltérő, pontosabb ábrázoló módszer alkalmazásával. Az eddigi szonografikus hangábrázolások csupán a fizikai szintű frekvenciaváltozásokat írták le, mégpedig nagyon pontatlanul, és nem volt eszköz az észlelés szintjén percepiálódott formai hallásélmény ábrázolására. A szonogram kizárólag a madárhang fizikai feltételeinek tükörképe, azonban ez nem elégítheti ki a viselkedéstani és az állatpszichológiai kutatásokat, mivel a hallás—hangadás pszichikai élményszintjéről nem nyújt adekvát strukturális képet. Nem a légrézgváltozások, hanem az ennek nyomán keletkezett hangmagasságváltozások manifesztálják a strukturális hallásélményt, s az észlelés-szint specifikus törvényei semmiképp sem azonosak a velük összefüggő fizikai folyamatokkal.

A generalizált hangmagasságérzékelést gyakorlatilag az ötvonalas „zenei” ábrázoló rendszerben tükrözhetjük a legszemléletesebben, még ha a lépcsőzetes magassági tagoltságot nélkülöző madárhangtípusok nem zenei természetűek is. A lépcsőzetesen tagolt, tehát zeneileg strukturált madárhangok közvetlen ábrázolására pedig nem is lehet adekvátabb — és vizualitásával is audiális képzetet nyújtó — módszerünk, mint az ötvonalas zenei kalibráció.

Vizsgálatainkat egyrészt fajtársaitól elkülönítve nevelt, másrészt természetes körülmények között élő cinegefajokon (Paridae) végeztük. A Kárpát-medence lomberdeinek (főképp a síkvidék és alacsony hegyvidék lomberdeinek és parkos területeinek) három leggyakoribb Parus fajtát tanulmányoztuk: a *széncinegét* (Parus maior), a *kékcinegét* (Parus coeruleus), és a *barátcinegét* (Parus pallustris). Hangfelvételeket naponta végeztünk négysebességű UHER 4000 L terepmagnetofonnal, majd hangmikroszkópiás (hanglassító) módszerrel elemeire bontva a kapott hangszerkezeteket, pontos időméréssel és magasságmeghatározással analizáltuk a struktúrát. A hangadással együtt figyelemmel kísértük a madarak tevékenységét, s összefüggéseket állapítottunk meg a

hangadásformák és funkcionális jelentésük, illetve a hangokhoz kapcsolódó cselekvésmechanizmusok között.

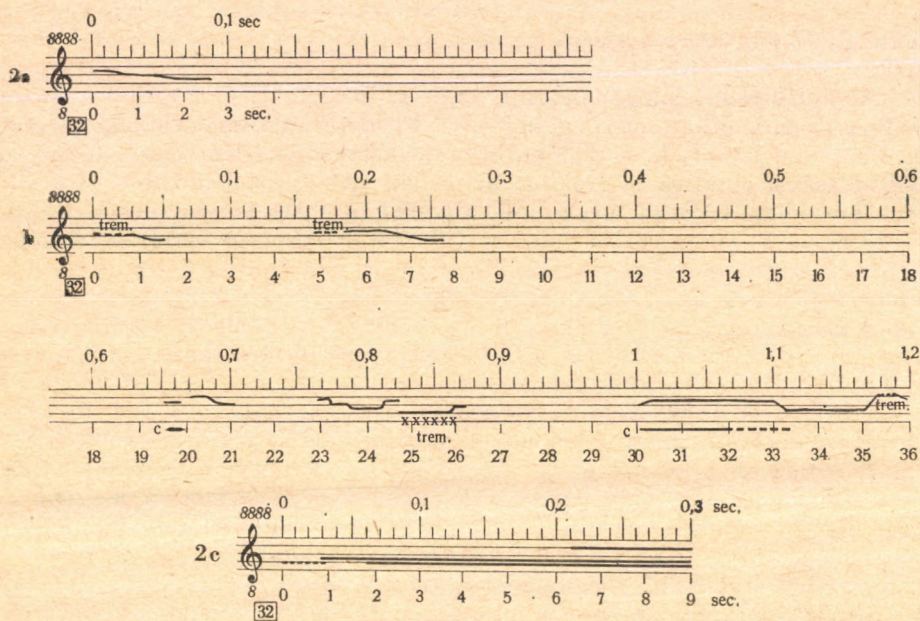
A csupasz és vak 3 napos *széncinege fióka* táplálékkérő hangja ismételtetett amuzikális hangcsúszás (*1a ábra*).¹ Az ismételtetés ritmusa nem periodikus, zenei hangközi átfúvás nincs benne, a hangok magassága kötetlenül emelkedik, majd visszaesúszik. Rendkívül magas hangok (5600–8500 Hz). Jóllakottan és külső készítés nélkül alig hallhatóan gyengék és rövidek. A szülők érkezésének finom zöreijére azonban a táplálkozási igény hirtelen fellobban, és azt éles intenzitású és hosszabb időtartamú hangok kísérik, illetve fejezik ki. Már az egyedi élet első napjaiban a funkció nélküli hangadásokban és a táplálkozás élettani folyamatához kapcsolt optimális ingerek hangjelzéseiben hangerőkülönbségek és időtartamkülönbségek mutatkoznak. A kiváltó inger a fiókátárs egyetlen erős felkiáltása is lehet. Egyetlen egyed intenzív, hangos táplálékkérését az egész fészekalj kórusban követi, mindaddig, amíg bele nem fárad, és a fiókák fokozatosan, egyik a másik után, el nem hallgatnak. 4 napos korukban tremolószerű hangképzést is észleltünk. 5–6 napos korukban táplálékkérő hangadásformájuk még változatlan, de az egyes hangok erősebbek, és jobban elnyúlnak (*1b ábra*). Ez nyilván összefügg hangképző apparátusuk fejlődésével, mozgékonyosságuk motorikus energiájuk növekedésével, mivel ekkor már esetlen tollászkodó mozdulatokat is végeznek. 7–9 napos korukban változik először a hangstruktúrájuk (*1c ábra*). Erőteljesebb hirtelen léglökések következtében akusztikai átfúvás keletkezhet, azaz zenei hangköz szólalhat meg egyes csúszó (glissando) hangokban, s gyakoribb lesz a tremoló is.



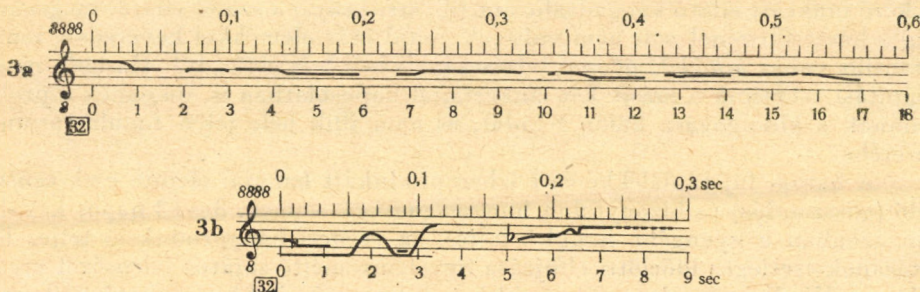
A széncinegéhez hasonló tagolatlan csúszó táplálékkérő hangokat tapasztalunk a 3–5 napos *kékcinege fiókáknál* azzal az észrevehető különbséggel, hogy az ismétlődő, magas hangelemek (7000–8500 Hz) rövidebbek (*2a ábra*). Funkció nélküli hangkibocsátásai ennél is rövidebbek. 6–7 napos korukban

¹ Az ábrák helyes értelmezéséhez szükséges jelmagyarázatokat lásd a cikk végén.

észleltük az első akusztikus zenei átfúvást, mely sokszor kétszólamúan hangzik fel. A két hang hangszíne eltérő: az alacsonyabb rekedtes, a felső csengőbb (lassított formában hallgatva) (2b ábra). 9 napos korukban elvétve „háromszólamú” kiáltásokat is találunk (2c ábra). Természetesen egy fészekaljából származó egyedek között a feltápláltságtól és a fejlettségtől függően 1 vagy 2 nap (\pm) hangfejlődésbeli eltérés könnyen adódhat. Adataink a középértékre vonatkoznak (mindhárom cinegefaj esetében).



Barátcinege fiókáknál 2–6 napos korukban még a kezdetleges amuzikális, többnyire szűk hangterjedelmű csúszó hangok tapasztalhatók (3a ábra). 8–9 napos korban megjelenik az egyidejű többhangúság (3b ábra). A csúszkáló magasságváltozás egy kiáltáson belül is sűrűbben, gördülékenyebben jelentkezik, táplálékkérő hangjuk összetettebb, többnyire két rövid barátcinege-kiáltás felel meg a kékcinege egy kiáltáshosszának.



*Szencinegék*nél 7—8 napos korukban tapasztaljuk először, hogy az éhség kiváltotta rendszertelen kiáltások szorosabb *kiáltássorozatokká* állnak össze, majd 11 napos korukban ez a jelenség csaknem rendszeressé válik. Egy-egy kiáltás időtartama megrövidül ugyan (ami szükségszerű), de 5—6 kiáltáselem gyors ismétlődése elkülönült, nagyobb egységet alkot, és ezek a nagyobb egységek mint hangsorozatok (több-kevesebb kiáltáselemmel) szintén ismétlődnek. Az eddigi egyszerűbb, szabálytalan időközökben szeszélyesen ismétlődő kiáltások egyre ritkulnak. Az egyes kiáltássorozatok között az elválasztó szünetek még szabálytalanok. A zenei átfúvások itt sokszor nehezen kivehető hangmagasságok, mert a kísérő egyéb hangfoszlányok a magasságot ködössé teszik.

A táplálékkérő hangadásforma, amit az éhségérzet és a szülők érkezése vált ki, a továbbiakban már nem módosul. Kirepülésük után a fiókák egy ideig még hangosan követelik a szülőktől a táplálékot, az élelemszerzés fokozatos önállósulásával elhal ez az öröklött hangadási (jelző) mechanizmus, és kb. 20 napos korukban teljesen megszűnik. Fogságban tartott szencinegén elvétve még 40 napos korában is észlelhető, mivel a táplálékkeresés természetes kényszerét a mesterséges élelemdagolás elnyomja, és az infantilis vonások a madarakban lappangva hosszabb ideig fennmaradnak.

A *kékcinegék*nél 8—9 napig csak laza kiáltásokat találunk, formai szervezettség nélkül. Ebben a korban azonban már bizonyos szerkezeti felépítettséget mutató kiáltássorozatok keletkeznek variálás útján, s ezek feltűnően különböznek a szencinege kiáltássorozataitól. Összehasonlítva a két faj hangtípusát azt is látjuk, hogy a kékcinege hangterjedelme jóval nagyobb.

Kirepülésüket követően speciális hangtípus keletkezik, jöllehet fogságban tartott madáron ennek az újszerű hangnak a megjelenését kb. már 12 napos korban tapasztalhatjuk. Táplálékkérésüket erőteljes, rekedtes levegőáramlás (ún. „fújás”) kíséri, pontosan meghatározható hangmagasság nélkül (de nagyjából észlelhető hangmagasságsávban). Amint a szülőktől való táplálás fokozatosan megszűnik, ez a jelforma merőben új funkcióként, az agresszivitás jelzésének eszközüvé lesz, és az egymáshoz közel kerülő egyedek távolságtartó, illetve távolságnövelő törekvését szolgálja.

A *barátcinegék*nél 8—9 napos korban megjelenő „többszólamúságot” egyúttal sűrű hangmagasságváltakozás is kíséri. A barátcinegének ez a bonyolultabb táplálékkérő hangadásformája jóval nagyobb ambitusú (hangterjedelmű), mint a szén- és a kékcinegéé, és a hangmagasságot is ezeknél sűrűbben változtatja. A kiáltássorozatok 2—3 *különböző* szerkezetű kiáltás ismétlésével (variálásával) tevődnek össze, míg a szencinege és a kékcinege táplálékkérő hangjelzései egymáshoz *hasonló* kiáltásokból állnak össze. A táplálékkérő funkciót ellátó hangadásforma, (ill. struktúra) a szülői ellátás megszűntéig a barátcinegénél már nem változik, majd más elemekkel keveredve, mint infantilis vonás *behódoló állapot* jelzésként később is előfordul. Hasonló megállapítást tehetünk a másik két cinegefajjal kapcsolatban is, de ennek a problémának a kidolgozása külön feladat, és nem illik bele jelen tanulmányunk keretébe.

A három faj táplálékkérés közben produkált hangjai eleinte csak csúszkáló (glisszandós) és bizonytalan hangmagasságú elemek. 8—12 napos korukban azonban a gyengébb hangkésztetés, az eredeti hangprodukció teljes lefutásának esetleges időelőtti elfojtása figyelemreméltó sajátos jelenséget eredményez. Mindhárom cinegefaj rövid hangkibocsátásai ekkor ugyanis jellegze-

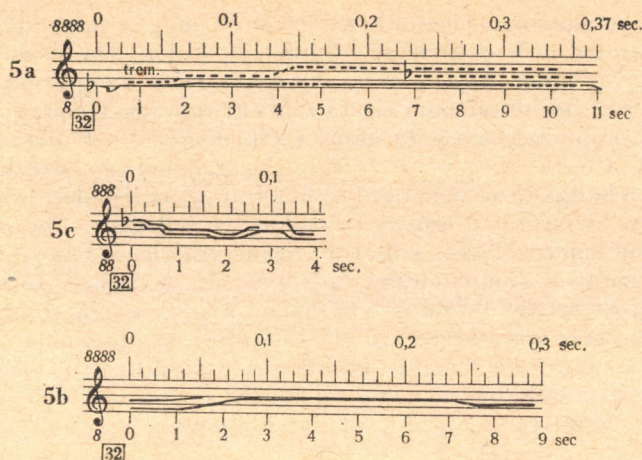
tes zenei hangmagasságú elemekként jelennek meg a hangadásban. A táplálékigény, ha nem erős indítékkal jelentkezik, különböző lépcsőzetes magasságszintekre „vagdossa” szét a hosszabb glisszandós hangformát, s a gyenge belső serkentés rövid időtartamú tiszta zenei hangmagasságokat szólaltat meg. A jelenséget a széncinegénél a *4a ábra*, a kékcinegénél a *4b ábra* (hanggörbéje és kottaképe), a barátcinegénél a *4c ábra* (hanggörbéje és kottaképe) mutatja be. Így tehát a hangképzés már rendkívül korai egyedfejlődési fokon túllépheti az elmosódott, bizonytalan csúszó formákat, és jellegzetes, pontosan meghatározható zenei lépcsőzetesség születhet benne véletlenül fellépő fizikai-akusztikai törvényszerűségek működésbe lépéseként. Ez a „zenei” formájú jelenség a glisszandós, csúszkáló formájú hangokhoz képest rendkívül ritka, jóllehet ebben a korban már következetesen elő-előfordul. Az optimális fok alatti ingerek hatására keletkezett hangok azonban a szokványostól eltérő formát is ölthetnek. Ezek pl. abban térnek el a táplálékkérő típustól, hogy jóval nagyobb az ambitusuk, időtartamuk pedig rendkívül rövid.

4a $D = 1,5 \text{ sec}$
 888
 88 mf
 $53 \text{ } \downarrow / \text{ min.}$

4b 8888 (b) (b) $0,1$ $0,13 \text{ sec.}$ 0 (b) $0,05 \text{ sec.}$ $Ua.$
 8 0 1 2 3 4 sec. 0 1 $1,5 \text{ sec.}$

4c 888 0 $\#$ $0,1 \text{ sec.}$ (b) $Ua.$
 88 0 1 2 3 sec.

Fájdalomérzetre mindhárom cinegefaj tagolatlan, rendkívül hosszan elnyújtott kiáltást hallatt (széncinege: *5a ábra*, kékcinege: *5b ábra*, barátcinege: *5c ábra*). Néhánynapos fiókakorukban még hangadás nélkül vergődnek, ha testüket inzultus éri. Feltollasodván, kirepülésük idején azonban már éles, visító, „többszólamú” hosszú kiáltás kíséri fájdalomérzetüket. Az elnyújtás mértékére jellemző, hogy bár az időtartamok szabálytalanok, a széncinegénél olykor feltűnően hosszú, 0,45 másodperces időtartamokat is mérünk. Természetesen ezek a kiáltások nem rendeződnek kiáltássorozatokká. A széncinegénél jól láthatjuk, hogy mivel a felkiáltást erőteljes levegőáram hozza létre, vele egyidejűleg több felhang is megszólal. A kékcinege olykor tisztán ki-vehető zenei hangokkal, néha tercindítással fejezi ki a fájdalmát. A barátcinegénél ilyen esetekben azt tapasztaljuk, hogy fájdalomkiáltásán belül rövid időközben gyorsan váltódik a hangmagasság.



A szülőktől való függés megszűnésével a fájdalomérzet keltette hangtípus a távolságtartás, illetve az agresszivitás eszközeként szolgál. Mihelyt idegen egyed túlságosan közelre repül a madárhoz, az védekező-támadó pózt ölt fel: nyitott csőrrel, elnyújtott nyakkal és széttárt szárnyakkal a látogató felé fordul, s a „fájdalmi” hangtípussal fenyegeti. Ennek a póznak hangnélküli változatát tapasztaltuk 6 napos széncinege fiókáknál, amikor veszély érzésére szárnyukat oldalt tartva a fészek aljára hasaltak, s fejüket igyekeztek elrejtetni. A hangot magát azonban sokszor hallhatjuk a fenyegető mozgás nélkül is, főleg amikor túlságosan megrövidül az egyedek közti távolság. Fogságban nevelt madaraknál többször megfigyeltük a fájdalomhang hallatásakor, hogy az egyik egyed állva az ágon, társát a szárnyánál csőrével fogva a levegőben lógatta, és az egy ideig hiába igyekezett szabadulni.

A cinegék természetes hangszínében is megállapíthatunk változásokat az egyedfejlődés során. A *széncinege fiókák* egyébként rekedtes, tompa, egyszerű kiáltása kb. a 20. nap után csengő színezetűvé válik, fokozatosan élesedik, anélkül, hogy maga a hangforma megváltozna. A 30. nap körül ezek erőteljes, rövid csúszásokból álló, néha csúszás nélküli hangok felveszik a faj tipikus „hívó” távoli kapcsolatot jelző kiáltásformáját (*6a ábra*). Laza formai egységet alkotva, 3–4 kiáltásból fűződik össze a kiáltássorozat. A legprimitívebb 3 napos típusból tehát kizárólag hangerő- és hangszínváltozás révén — az eredeti hangforma átalakulása nélkül — merőben más funkciójú hangjel fejlődött ki.

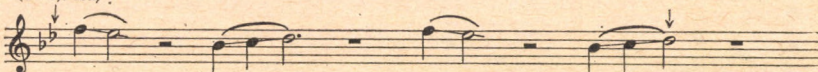
A hívó kiáltások egyszerű formáit a széncinege azonban már kombinálni is képes. A *6b ábrán* (első sor) három egyforma képletből álló összetett hívó hangadást láthatunk. A *6b ábra* második sora pedig kétféle képletből kombinálódik. Minden összetett hangadás itt egy vagy két alapképlet két-háromszori ismétlése által szerveződik egyé. A széncinegének ez a leggyakoribb hangtípusa tehát, mely a társas kontaktustartás szolgálatában áll, csengő hangszínű egyszerű elemekből épül fel ismétlés vagy kombináció útján, s a 32-szeres lassításban úgy hangzik, mintha csúszó mozgásai zenei magassági pontokat kötnének össze.



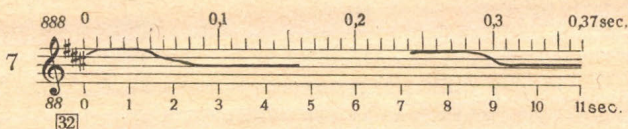
(D = 0,5 sec.)



(D = 0,6 sec.)



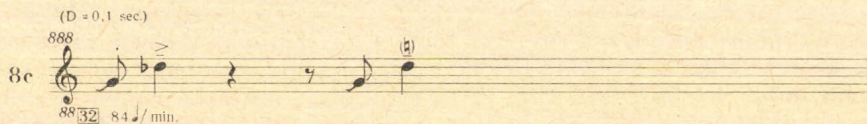
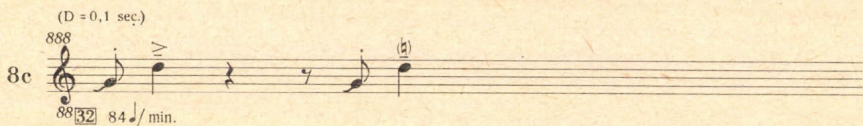
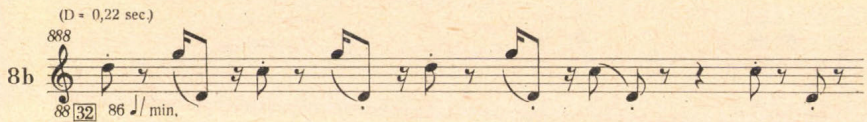
Kísérjük figyelemmel a kékcinege táplálékkérő hangjának alakulását. A fiókák 9 napos kora körül egyszerű szerkezeti felépítésű variatív kiáltássorozatok keletkeznek. A kirepült fiókák csengő hangja azonban, mely jóval finomabb, mint az előző fajé, nem ezt a struktúrát mutatja, hanem a primer, tagolatlan kiáltások élesednek ki benne, mint a széncinegénél. E kiáltások szimpla ismétlődésével rövid kiáltássorozatok jönnek létre (7. ábra).



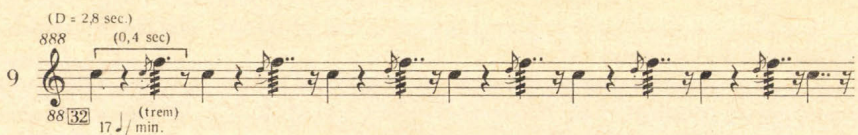
A *barátcinege* gyors hangmagasságváltoztatásai rányomják bélyegüket a hívó funkciót betöltő hangformára is. Magas (2400–7500 Hz), finom hangszínű, de a szén- és a kékcinegénél jóval gyorsabban ismételt elemek cirpelésszerűvé teszik természetes hangzásában ezt a hangformát. Ha összehasonlítjuk a táplálékkérő hangformával, származási összefüggésük szembeötlő. Ebben az általános hangtípusban jól elkülöníthető struktúrák alapján többféle konkrét formacsoportot találhatunk. Illusztrálásukra közlünk kettőt (8a és b ábrák). Nagy hangközváltású, kétszólamú, rövidmotívumos sűrű ismételtetés jellemzi a 8a típust (mely közelebb áll a táplálékkérő hangtípushoz), míg az „egyszólamú” változatát láthatjuk a 8b ábrán. A harmadik ábra (8c) az előbbiekről megrövidített változata. A barátcinegék azonban e három hangtípust nemcsak kapcsolatfenntartásra, hanem nyugtalanságuk kifejezésére is használják, ekkor rendszeresen nagyobb hangerővel, de azonos általános szerkezettel.

A szén- és a kékcinegéhez hasonlóan a barátcinege hangkészletében is megtaláljuk a legegyszerűbb hangformából levezethető ismétlődő hívó formát (8d ábra).

Bár nem tartozik jelenlegi feladatunk közé az *idősebb korban* funkcionáló hangtípusok leírása, de némi távolabbi kitekintés kedvéért rá kell mutatnunk itt a hívó kiáltásokból levezethető „ének” (song) szerkezeti összetételére is.



A felnőtt *széncinege* hívó hangja rendszerint glisszandós. Ha a glisszandó az ismételtetés során elmarad, stabilizálódott zenei hangok és hangközök jönnek létre, s a lépcsőzetesen (skálaszerűen) tagolt hangmagasságváltások a tavaszi revírfoglalás idején már rendszeresen fellépnek. A főhangok előtt felhangsori átfúvással rövid előkék is keletkezhetnek, s ez is változatosabbá teszi az éneket. Természetesen a lényeges különbséget és újdonságot a csúszó hangformákhoz képest a főhangok zenei hangközökben történő ugrásai és ezek ismétlődései okozzák (9. ábra).

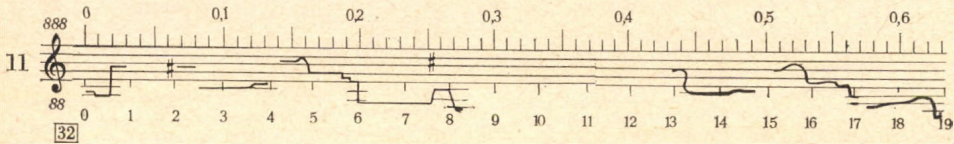
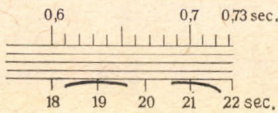


Hasonló megállapítást tehetünk a kékcinege territóriumjelző „énekének” kifejlődésével kapcsolatban. A 7. ábrán egy kiáltássorozat két tagját ábrázoltuk. Ezt a kiáltást ismételve és főleg variálva áll össze a madár teljes „éneke” erőteljes hormonális késztetések nyomán (10. ábra).

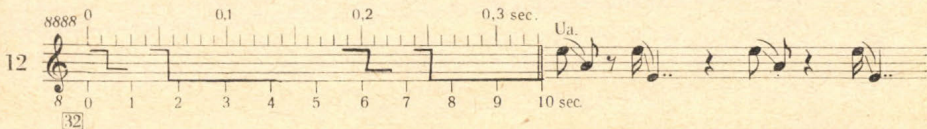
A felnőtt *barátcinege* erős belső indulat hatására széles ambitusú glisszandós elemeket lüktetészerűen és meredeken váltogat (11. ábra). A glisszandók a legkezdetlegesebb hangtípushoz kapcsolják ezt a formát (lásd: 8d). Kizárólag fajtársával szemben távolságnövelő agresszivitás jelzésként hallottuk a madártól ezt a speciális, erős hullámzó hangformát. A nyugtalanság és izgalom ilyen típusú jelzését más zavaró inger sosem provokálta ki. Ragadozó, idegen

madárfaj, ember stb. mindig a mélyhangú tremolózó „cserregést” vagy a magasabb frekvenciájú ciripelésszerű hangot váltotta ki.

A barátcinege revir-jelző „éneke” és az ősi, agresszív indulatot jelző hangformák közös vonásokat mutatnak, s e vonások alapján mindkét típust a hívó hangformákból vezethetjük le. Az erős intenzitású gyors hangmagasság-



váltás, hangerejét megtartva, megnövekedett időtartamú „énekké” alakul (12. ábra). Az itt lassabban változó hangmagasság-szint tagoltabbá válik, s a makroszkopikusan is hallható „zenei” magasságkülönülések két kiáltásból összeállt motívum ismételtetése során jönnek létre, mint kötött módon ismételtetett s a maga belső struktúrájában is kötött *song* (ének).



A fenti fejlődésmenetben nem említettük még a kirepült fiókák ún. „előénekének” (subsong) formai felépítését. Ebben a hangadástípusban befejezett, ismétlődő elemekből szerveződő formai egységet nem találunk. A kivehetetlen hangmagasságú elemek közé beépült glisszandók táplálékkérő elemekkel, még kifejeletlen hívó hangokkal és tremolózó „cserregésekkel” változnak. A felnövekvő fiókák „előéneke” tehát zömmel meghatározhatatlan hangmagasságú glisszandós elemekből áll, és ezeket fejlődésüknek megfelelően keverik azokkal a hangtípusokkal, amelyek a differenciált funkciójelzésre már alkalmasak, és amelyeket a fiókák aktuális alkalmakkor így felhasználnak. Az „előének” 20–26 napos korban már jelentkezik, majd ősszel fokozatosan megszűnik, és tavasszal lép fel ismét. Fogságban tartott madáron a

hormonális tényezők abnormis működése miatt tavasszal nem mindig észlelhetjük.

Feltűnő hasonlóságot tapasztalunk szén-, kék- és barátcinegék nyugtalanságot jelző „cseregése” között [széncinege: 13a ábra, kékcinege: 13b ábra (hanggörbe és kottakép formájában), barátcinege: 13c ábra].



Kirepülésük után hamarosan használják — zavaró körülmények észlelésekor — ezt a „többhangú” erősen rekedtes, tremolózó hangot. A széncinege cseregése nehezen különíthető el a kékcinegéétől. Ennek gyengébb hangereje, gyorsabb hangmagasságmódosulásai sokszor nem észlelhetők. A barátcinege cseregésében azt az eltérést tapasztalhatjuk, hogy a cseregés mellett éles,

magas felkiáltásszerű hanggrás is megjelenik, melyet a madár a cserregéssel váltakozva szólaltatgat meg. A cserregés az erőteljes, préselt levegőáramlás következtében *recsegő* hangzású, s a fiókakori táplálékkérő hanghoz hasonlóan nagyon egyszerű jelzés. A barátcinege e hangadásában annyiban találunk már bizonyos további kombinációt, hogy az éles hanggrás „fejlettebb” strukturális mozzanatot visz bele az egyszerűen csak cserregő hangformába.

*

A jeleket csak a jelentésükkel tárgyalhatjuk valóságos összefüggéseiknek megfelelően, ezért a fentvázolt ontogenetikus menetben a hangtípusok fejlődési kapcsolatait a jelölt funkciók kialakulásával párhuzamosan állapítottuk meg. Hang minden esetben belső élettani készítésre, vagy közvetve külső ingerhatásra lép fel egy sajátos viselkedési mozzanat kísérőjeként. Az „előének” (subsong) nem jelöl a madár életében sem külső, sem belső indítékú magatartásformát, önálló létfontossága nincs, s ennek megfelelően hangszerkezete sem specializálódott elkülönülve a többi hangjelformától. A fiókák és az idős madarak „előénekéből” egyaránt hiányzik mindennemű információs „tartalom”. A hangkészítés itt *önmagában* jelentkezik, függetlenül minden jelentősebb emocionális közlési szükséglettől. A madár nyugodtan (jólakottan) pihen, és halkán „játszik” a hangokkal, rendszertelen összevisszaságban változtatva a már ismert formákat. Funkciónélküliségét igazolja az is, hogy az „előének” elmosódó, csúszó hangok tömegét produkálja a legnagyobb szabálytalanságban. Az előének tehát nem másodlagosan, mint bizonyos magatartás kísérője, lép fel, hanem egyedül, jelentéstartalom nélkül. Sem önálló elkülönült szerkezet, sem speciális funkció így a hangos jelzőeszközök fejlődésében nem játszanak önálló, differenciált szerepet.

A táplálás során a fészekalj fióka-egyedeit felkiáltásaik különböző ereje alapján is megkülönböztetik a szülőmadarak. (A rendkívül primitív azonos hangforma magától értetődően nem lehet az egyedjellemzés eszköze.) Az éheesebb, táplálékot régebben kapott fióka erőszakosabban követeli az élelmet, mint a jóllakottabb társa. Így az egyforma feltáplálást az adott éhségérettől is befolyásolt eltérő erejű kérőhangok is biztosítják. Természetesen a fiókák testfelépítése már a kikelésüktől sem egyforma, s ez nyilván az éhségtől függetlenül is különbözően befolyásolja táplálékkérő kiáltásaikat. A gyengébbek, erősebb társuktól elnyomva ritkábban kapnak élelmet, hangerejük jóval gyengébb, kevésbé feltűnő a szülők számára. Tehát a szelekciós tényezők a hangadáson át is már az első napoktól éreztetik hatásukat. Széncinegefészekben 5–6 napos fejlettségi különbséget is találtunk a fiókák között, s kétségtelen, hogy ez nem közömbös a fészekalj sorsát illetően, kedvezőtlen környezeti változások esetén.

Fészekből történő kirepülés előtt a fiókák éhségérzete minden egyéb motívációs hatást elnyom, és azok a tényezők, amelyek a táplálékgigényt kielégítik, a legtartósabb pozitív orientációt rögzítik a madárban. Ha 6–8 napos fiókat szedünk ki a fészekből, kétségkívül először idegenkedik az új környezettől, de hamarosan felülkerekedik benne az éhség és kifejező kiáltásaival jelzi azt, legyűrve az új szituációtól való félelmet. Ahogy idősödnek a fiókák, ez az átállás egyre nehezebben történik meg, s több órát, fél napot is igénybe vehet. Mikor már elhalt az az öröklött viselkedésmód, mely az élelemkérés és a szülői táplálás koordinációját jelenti a kezessé szelidítés lehetősége megszűnik, vagy

rendkívül megnehezül. Ha már önállóan szerzi táplálékát a madár, akkor az éhség csillapításának passzív módja — azaz a tápláló egyedhez kötött formája — megszűnik, s az önmagát kielégíteni képes „magános” madár már nincs abban a kedvező kiindulási állapotban, amelyben egy másik egyedhez (emberhez!) való tartozása még kiépíthető. A fogságban tartott madárban azért rögzül bizonyos kapcsolat hordozójához, mert a táplálékkadás aktusa rendszeresen ismétlődő folyamattá lesz számára még idősebb korában is. Ez a társas kontaktus azonban szabad környezetben az adultus madarak fokozatos elmaradásával megszűnik. A fiókák élelemkérése sem kötődik mereven csak a saját szülőikhez, és táplálékigényük kielégítését épp úgy követelik — szárnyukat verdesve, előre nyújtott fejjel, a fentjelölt hangok kíséretében — idegen szülőegyedtől is, olykor akár más faj etető madaraitól, de saját testvéreiktől is. Idősebb korban egyes esetekben a madárnak a természetes környezethez fűződő kapcsolata, az önálló élelemszerzés mechanizmusa annyira konzerválódhat, hogy új körülmények (pl. a fogságba esés) oly erős gátló mechanizmusokat indíthatnak meg benne, hogy a madár egyáltalán nem táplálkozik, és elpusztul. (Ezt fiatal, de már jól repülő széncinegénéél tapasztaltuk.)

A felnevelés után a szociál-pozitív tendenciák szociál-negatívvá fordulását az egyes hangtípusok funkcionális jelentésváltozása tükrözi. Kékcinegénéél említettük, hogy idősebb fiókakorokban táplálékkéréskor az erős levegőáramlás rekedtes hangot idéz elő. Ezzel a hanggal fogadják el az élelmet, de később ha fajtársuk közvetlen közelükbe kerül, akkor lelapulva és fejüket előrenyújtva támadó szándékkal ugyanezt a hangtípust idézik fel. A felnevelés utolsó stádiumában a társakhoz való viszony ellentmondásossága kiéleződik a fiókákban. Az idős madarak csak elvétve etetik őket, s ugyanakkor nő bennük a távolságtartó törekvés. Kirepülés előtt fiókatársaikkal való szembenállásuk legfeljebb csak a táplálék elkaparintásában nyilvánul meg. Mozgásképességük megnövekedésével és megfelelő tér birtokbavételével azonban már nem szorulnak rá egymás szoros szomszédságára, mint a fészekben, s az egyedek között sokkal élesebben fejződik ki a rivalizálás. A szülő hozza neki a táplálékot, amit saját maga megszerezni még nem tud, ugyanakkor szomszédját igyekszik elriasztani, és így érthető, hogy a madár azonos hangtípust használ az ellentétes késztetések jelzésére. Az élelem elfogadását és a társaktól való biztonságot részben azonos mozdulatok kísérik. (Táplálékkéréskor rezgetteti a madár szárnyát, élelemért előre nyújtja fejét, s agresszív, elhárító magatartásakor is csőrét tátva felemeli szárnyát, lábával ellenfele felé kapkod.)

Az egyedi élet során először megjelenő hangformák szorosan kapcsolódnak a legelemibb pszichikai megnyilvánulásokhoz, és ezek a késztetések az idős madaraktól is primer (elemi) hangtípusokat váltanak ki. A fájdalomérzés keltette tagolatlan, hosszan elnyújtott kiáltást egyaránt hallatják feltollasodva a fészek elhagyása idején, és később, életük bármely szakában is. Ugyanilyen kiáltás a távolságtartó hangforma is. A közvetlen testi inzultus, és a túlságosan közel merészkedő egyedek — amelyek szintén az individuális biztonságot veszélyeztetik (ha csak a táplálék elragadásával is) — azonos hangformát keltenek. Az egyedek önvédelmét szolgáló viselkedéstípusok — így az agresszív pózok is — főként a nyugalomra térés idején aktivizálódnak, azaz mintegy megelőzik az alvó madár természetes tehetetlenségét. Az egyed biztosítani akarja környezetét a szomszédjától. Az esti órákban tehát gyakoribbá válnak a fenyegető magatartásformák, gyakrabban felhangzanak a visító, elnyújtott kiáltások, távozásra kényszerítve a közelben tartózkodó fajtársat. De ezek a

kiáltások nem különböznek a ragadozó karmaiban vergődő madár kiáltásaitól sem. Az esti riasztó viselkedéssorozatok után és azok ellenére azonban az azonos fajú társak néha mégis egymás mellé telepednek. Ez az agressziós tendencia kimerülésének tulajdonítható, s hogy ez mely egyedek között történik meg először hosszú veszekedések után, az individualisan változik. Tehát a közös alap az egyéni biztonság, a védekezés, illetve a közvetlen veszély jelzése. A létet érintő veszély jele valamennyi hangadásra képes élőlény hangadásában ösztönszerűen a legkezdetlegesebb, elmosódó hangmagasságú hangadás.

Jölehet a hangjelzések változása nem követi mechanikusan a fiókák kirepülését — ami kétségkívül fordulópont az egyedfejlődés során —, bizonyos átalakulások mégis összefüggnek a gyorsabb, nagytávolságú mozgással, az aktív, repülő életmóddal. A hangerő- és a hangszínváltozás, ami ilyenkor mindhárom cinegénél észlelhető, okvetlen összefügg a nagymértékű helyváltoztatással. A csengő hívó hangokat csak a fészkelhagyással járó egymástól való eltávolodás válthatja ki, a nagy helyváltoztatási lehetőséggel ellentétes összetartási igényt aktualizálva. A fészkekben, és az első napokban a fészkek környékén még szükségtelen ez a kommunikációs forma. Később azonban elsősorban a belső ingerhatások növekvő erejétől függően a kiáltások ismétlődhetnek, és kiáltássorozatokká szerveződhetnek össze, ami kétségkívül már bonyolultabb hangos közlésforma.

A hívójelek, a kiáltások, de még az összméretükben rövid kiáltássorozatok is arra utalnak, hogy pillanatnyi rövid időtartamú hangkészítések eredményeként születnek, s ekkor olyan tartós belső tényezők még nem lépnek fel, amelyek folyamatosabb hangadást hoznának létre. Rendszeres és hosszantartó hormonális hatásoknak kell fellépniük ahhoz, hogy ne csak rövid, hanem hosszú kiáltássorok hangozzanak fel, és lépcsőzetes hangmagassági artikuláció esetében zeneileg strukturált „ének” keletkezhessek. Az erősebb és huzamosabb belső készítés tartósabban indukál és lehetővé teszi bonyolultabb jelformák variatív alkalmazását. Ha a tartós készítések külső eredetűek, és a veszély észlelése tartósabb nyugtalanságot kelt a madárban, a legősibb individuális védelmi hangformákat hallatva, hosszan tremolózva cserreg a szén-, a kék- és a barátcinege egyaránt.

JELMAGYARÁZATOK

8888



= a hangábrához képest az eredeti természetes négy oktávval magasabban szól.



= a lassított hang a hangábrához képest egy oktávval mélyebben szól.

[32]

= 32-szeres hanglassítás (nagyítás, nyújtás)

0 0,05 sec



= a természetes hangadás időmértéke másodpercekben

0 1 2 sec



= a lassított hangadás időmértéke másodpercekben

D = természetes időtartam másodpercekben

Аз ingerészlelések tér- és időjellemezői rendkívül fontosak. Ezt látjuk a barátcinege nagy hangerejű, lüktető távolságtartó jelzéseiben is, amelyeket kizárólag fajtársaival szemben alkalmaz. Itt a fajtárs váratlan közeledésére gyorsan és intenzíven fellépő agresszív-célzatú készletés idézi elő a rendkívüli erős hangot és a benne lüktető hangmagasságváltozásokat. Ezt a hangadás-formát a madár viszonylag rövid ideig hallatja, majd átvált az általános, egyéb zavaró jelenségekre reflektáló magas, ciripelésszerű riasztó hangra.

A fenti tanulmány a cinege-fajok akusztikai viselkedésével foglalkozó széleskörű vizsgálatnak csupán egy viszonylag elhatárolható önálló részét érintette. További kutatásaink és hangjelanalíziseink az itt érintett kérdések kiegészítésén túlmenően kiterjednek e széles csoport sokoldalú halláspszichikai, jel- és jelentéstani problematikájára.

IRODALOM

1. LANYON, W. E. (1960) The ontogeny of vocalizations in birds. — *Animal Sounds and Communication*, pp. 321—347, Washington.
2. MESSMER, E. & I. (1958) Die Entwicklung der Lautäusserungen und einiger Verhaltensweisen der Amsel (*Turdus merula merula* L.) unter natürlichen Bedingungen und nach Einzelaufzucht in schalldichten Räumen, *Ztschr. f. Tierpsychol.* 13, pp. 341—441.
3. SAUER, F. (1955) Entwicklung und Regression angeborenen Verhaltens bei der Dorngrasmücke (*Sylvia c. communis*), *Proc. XI. Internat. Ornith. Cong.*, pp. 218—226.
4. SCOTT, W. E. D. (1904) The inheritance of song in passerine birds. Remarks on the development of song in the rose-breasted grosbeak *Zamelodia ludoviciana* (Linnaeus) and the meadowlark *Sturnella magna* (Linnaeus), *Science* 19, pp. 957—959.
5. THIELCKE, G. (1964) Zur Phylogenese einiger Lautäusserungen der europäischen Baumläufer (*Certhia brachydactyla* Brehm und *Certhia familiaris* L.), *Ztschr. Zool. Syst. Evolutionsforschung*, Bd. 2, pp. 383—413.
6. THORPE, W. H. (1958) Further studies on the progress of song learning in the chaffinch (*Fringilla coelebs gengleri*), *Nature* 182, pp. 554—557.

ОНТОГЕНЕЗ ЗВУКОВОГО СИГНАЛА У СИНЦ (*PARUS MAIOR*, *PARUS CAERULEUS* ET *PARUS PALUSTRIS*)

Л. Шашвари и Ж. Сёке

Исследовался онтогенез звукового сигнала у живущих в естественных условиях и воспитанных в неволе синц (*Parus maior*, *Parus caeruleus* et *Parus palustris*) путем экспериментов, наблюдений и звукозаписи.

Образование звука — звука требования пищи — у птенцов всех трех видов неправильное, он состоит из скользящих (*glissando*) звуков, из отдельных слабых, редких криков. Эти неправильные периодические крики в дальнейшем преобразуются в серии криков.

Из скользящего первичного крика птенца развивается кричащий голос боли и особый хриплый, неопределенный, так называемый «дующий» голос.

У всех трех видов хриплые-тремолирующие чирикание, вызванное волнением и беспокойством, также нужно считать первичной начальной формой образования звука, который является следствием развития ранней формы звука. Из первичных скользящих звуков требования пищи в возрасте птенцов развиваются сигналы призыва путем усиления и изменения оттенков звука. Путем комбинации и организации в музыкальном отношении, особенно у *Parus maior*, они преобразуются в пение, которое служит в первую очередь для охраны места высиживания. Из сигнала призыва *Parus palustris* образуется сигнал, который звучит агрессивно и пульсирующим образом, а из него развивается также пение определенной структуры. Из простого же звука требования пищи развивается чирикообразный сигнал звука, состоящий из смены высоты голоса, выполняющий функцию призыва и возбуждения.

Эксперименты и звукозаписи продолжаются в отношении всех трех видов. Обобщение наблюдений и выводы, сопоставляемые с контролем материала еще более широких наблюдений и окончательное сформулирование выводов являются задачей будущего. Выводы данной статьи носят предварительный экспериментальный характер.

THE ONTOGENY OF VOCAL SIGNALS IN THE GREAT TIT, THE BLUE TIT AND THE MARSH TIT

by

L. Sasvári and S. Szőke

The authors investigated the ontogeny of the vocal signals of the Great Tit (*Parus maior*), the Blue Tit (*Parus caeruleus*) and the Marsh Tit (*Parus palustris*). Experiments founded on systematic observation and tape-recording of sounds were carried out on individuals living free and on ones reared in captivity.

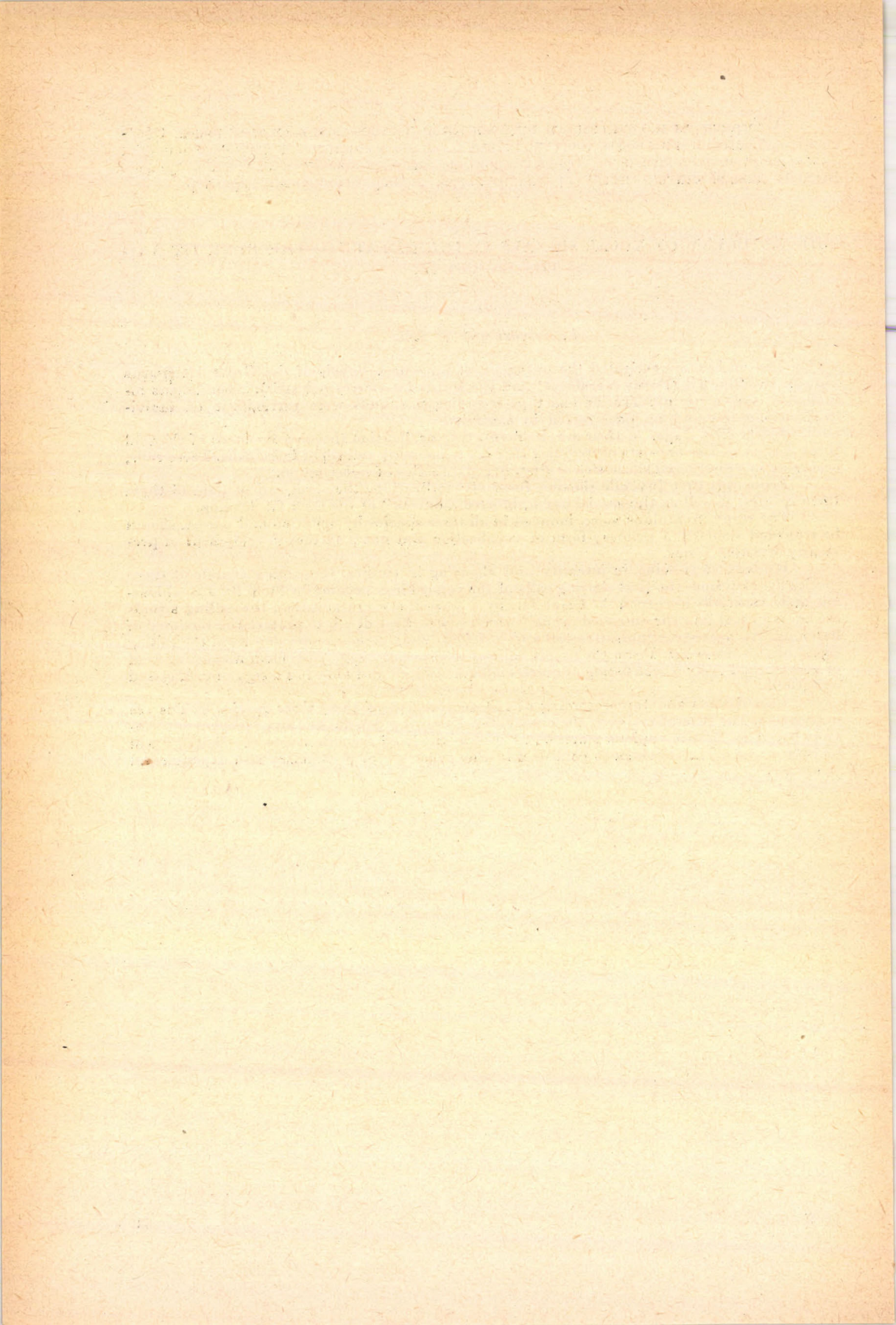
In the first stages of their development, the vocalization (begging for food) of the said three species of Tits consists of irregular slurring (glissando) and slight loose calls. These calls, occurring in a disordered succession at first, become a series of calls later on.

From this first juvenile slurring form of vocalization, the shrill call of pain of these three species, as well as the special harsh, blurred „puffing” of the Blue Tit develop.

The raspy, tremulous voice, induced in all three species by agitation and unrest, should be regarded similarly a primary form of vocalization and not a further development of previously existing forms.

By way of growing in intensity and changing in timbre, the calling signals of these species develop from the first slurring calls of the young birds begging for food. By a combination and, especially in case of the Great Tit, by a musical structuralization, the calling signals are transformed into the so-called „song” which serves, first of all, to protect the territory of hatching. An aggressive, pulsating call and a definite song structure develop from the calling signal of the Marsh Tit. From the simple calls of this species begging for food, a chirping kind of vocal signal evolves, consisting of quick changes of pitch and aimed as a sign of calling and agitation.

Experiments and tape-recording of the vocalization of these three species of Tits are in progress. The generalization of the observations, drawing conclusions and carrying out controls based on a more copious material, as well as the final formulation of the findings will be future tasks. The conclusions published in this paper are of preliminary and experimental character.



A BOTE II. SZ. SEBÉSZETI KLINIKA MUNKACSOPORTJÁNAK 1969. V. 23-ÁN TARTOTT BESZÁMOLÓJA A LASER BIOLÓGIAI HATÁSAIRA VONATKOZÓ VIZSGÁLATAIRÓL

Összeállította: Prof. MESTER ENDRE, a klinika igazgatója

1. *Náray Zsolt* (KFKI): Fizikai bevezetés.
2. *Ludány Gy., Vajda Gy.* (MÁV Kórház): A fehérvérsejtek bacterium phagocytosisára vonatkozó vizsgálatok.
3. *Prof. Frenyó V.* (ELTE Növényélettani Tsz.): Laser irradiatio hatása leukocyták kataláz-aktivitására (In extenso közölve jelen számunkban).
4. *Szende B.* (I. Kórb. Int.): Egerek szőrnövekedésére irányuló hatás.
5. *Gyenes G.* (I. Kórb. Int.): A sebgyógyulás befolyásolására vonatkozó vizsgálatok.
6. *Sellyei M.* (Róbert Károly K.): A laser irradiatio hatása az Ehrlich-féle ascites tumor növekedésére.
7. *Prof. Lapis, Gyenes G.* (I. Kórb. Int.): Laser által okozott ultrastructuralis elváltozások ascites tumorsejtekben.
8. *Ihász M., Karika Gy.*: Laser hatása a vékonybél nyálkahártyájára.
9. *Rontó Gy.* (Biofizikai Int.): A laser inactiváló hatása a bacteriophagekora.
10. *Kiss A. F.* (Anat. I. Debrecen), *Kalabay L.*: A laser hatása a patkány mellékvese-kivonattal kezelt nyúlszaruhártyára.
11. *Döhlen A.* (Sugárbiol. Int.): Lasersugár hatása a csontvelősejtek in vitro haemoglobin-synthesisére.
12. *Prof. Juhász J.* (OTKI), *Karika Gy.*: Klinikai vizsgálatok.
13. *G. Tota J.*: Mérési módszer vékony sejtréteg laserenergia elnyelésének mérésére.
14. *Nagy E.* (Radiológiai Kl.), *G. Tota J.*: Laser hatása a sacch. cerevisiae parasynchron tevéységére.

1. DR. NÁRAY ZSOLT: FIZIKAI BEVEZETÉS

(KFKI)

A laserfény tulajdonságai alapvetően eltérnek a mindennapi életből ismert ún. klasszikus fényforrások (izzólámpák, gázkisülések) által kibocsátott fény tulajdonságaitól.

Laserekkel ugyanis a klasszikus fényforrások esetében elképzelhetetlen nagyfokú monochromaticitású, igen kis divergenciájú nyalábok állíthatók elő. Külön figyelmet érdemel az alkalmazás szempontjából, hogy a laserekkel — viszonylag ugyan igen rövid időre — óriási energiasűrűségek állíthatók elő.

A laserek több alaptípusa ismeretes. Ezek közül a legfontosabbak: a szilárdtest (leggyakrabban rubin és neodimium üveg), a gáz (többek között helium-neon, CO₂) és a félvezető laserek (GaAs).

A laser sugárzás létrehozásának alapelve abban áll, hogy a megfelelően megválasztott anyag atomjainak két energia nivója között külső behatással ún. populáció inverziót hozunk létre, vagyis külső energia betáplálásával biztosítjuk, hogy az atomok kérdéses energia nivói közül a felsőn több elektron legyen, mint az alsó nivón.

2. DR. LUDÁNY GYÖRGY ÉS DR. VAJDA GYULA: A FEHÉRVÉRSEJTEK BAKTÉRIUMPHAGOCYTÓSISÁRA VONATKOZÓ VIZSGÁLATOK

II. Seb. Klinika (MÁV Kórház)

A lasersugár felfedezése óta a kutatások egész sora indult meg biológiai téren is. A vizsgálatok nagy részben arra irányultak, hogy az alapkutatások számára megfelelő vizsgálati objektumot találjanak. Ismerve a leukocyták sokoldalú működését, kutatásaink számára ezen pluripotens sejt tanulmányozása különösen alkalmasnak látszott. Fehérvérsejtek bakterium phagocytosisa quantitáíve pontosan követhető sejtfunció, melynek következtében a fel-lépő változások jól értékelhetők.

Phagocytá vizsgálatainkat a vérkeringésből származó emberi és steril bouillon oltás útján nyert patkány hasüregébe kivándorolt ún. „Reiz-leukocytákon” végeztük. A kb. 5000 sejtet tartalmazó suspensiót egy nagyobb centri-fuga csőbe ülepítettük, melyben mint nedves kamrában a sejtüledéket laser-sugárral kezeltük. Kísérleteinkben rubinlasert (6943 Å) alkalmaztunk, mely-nek kimenő energiája impulzusonként 10 J/cm² energiának megfelelő sugár-dózis volt. Ezt az energiát Zeiss-féle szürke színszűrőkkel csökkentettük. Besugárzott, ill. kezeletlen leukocytákból heparinos Ringer-oldattal sejt suspen-siót készítettünk (5000/cmm³), melyhez bakterium elegyet adagoltunk (Staph. pyogenes aureus) úgy, hogy a leukocytá és bakterium arány 1 : 2000 volt. Megfelelő incubálás után kenetet készítettünk és May-Grünwald-Giemsa festés útján meghatároztuk a fehérvérsejtek által felvett coccusok számát. A számolás hibahatára: $\sigma < \pm 8\%$.

Megállapítottuk, hogy 0,05 J/cm² sugárenergia a phagocytosis közép-mértékben mintegy 60%-kal fokozza, míg hússzor nagyobb sugárdózis azt 50%-kal gátolja. Beigazolódott, hogy az egymás után alkalmazott kisebb ser-kentő hatású energiák kumulálódnak, és fokozatosan gátló effektust váltanak ki. Methylenkéekkel és Janus B zölddel kezelt leukocyták lasersugárzással szem-ben érzékenyebbek, és a különben kis, serkentő dózis is már phagocytosis-gát-lást eredményez.

Tekintve, hogy a leukocyták bakterium phagocytosisa a sejtben leját-szódó anyagcsere folyamatok egész sorával kapcsolatos, a sejt bekebelező tevékenységének változását jórésztben ferment hatásokkal összefüggő efek-tusoknak tartjuk.

3. PROF. FRENYÓ VILMOS: LASER IRRADIATIO HATÁSA LEUKOCYTÁK KATALAZ-AKTIVITÁSÁRA

(In extenso közölve jelen számunkban),

4. DR. SZENDE BÉLA: LASERSUGÁR KEZELÉS HATÁSA EGEREK SZŐRNÖVEKE-DÉSÉRE, BŐRÉRE ÉS BELSŐ SZERVEIRE

(I. Kóronctani Intézet)

Megállapítottuk, hogy C₅₇Bl és fehér egerek szőrének növekedését 3—5 héten át adagolt heti 1 J/cm² lasersugárzásdózis serkenti. A kezelés későbbi szakában, a 10—11. sugárzás után a serkentő hatás megszűnt, a szőrnövekedés gátlása következett be.

Összehasonlító vizsgálat tárgyává tettük, hogy az egy dózisban alkal-mazott, az időben elosztva, frakcionáltan adagolt, és az egy alkalommal, de

frakcionáltan alkalmazott sugárzás milyen hatással van az egerek szőrének növekedésére.

A 70 db, C₅₇Bl hím egér felhasználásával végzett kísérlet tanúsága szerint a frakcionáltan adagolt lasersugárzások hatása summálódik. A summatio akkor is bekövetkezik, ha a frakcionálást időben elhúzva végezzük.

Tanulmány tárgyává tettük, hogy a hosszú időn át, ismételten alkalmazott, kisdózisú lasersugár milyen hatást fejt ki egerek bőrre, ill. egyes belső szerveire.

A bőrben a 10. kezelés után a szőrtüszők pusztulása, és a szőrtüszők körül gyulladáshoz vezető reakció volt megfigyelhető.

A 20. kezelés időpontja körül az állatok bőrében a hám súlyos atrophíája látható.

A 30. kezelés után a hám egyes pontjain kiszélesedések voltak megfigyelhetők, melyek a basalis sejtek burjánzásának következtében jöttek létre.

A hasi szervek közül a májban figyelhetünk meg coagulatio necrosist. Három egér vékonybelében is elhalt szakaszokat találtunk.

5. DR. GYENES GÉZA: A SEBGYÓGYULÁS BEFOLYÁSOLÁSÁRA VONATKOZÓ VIZSGÁLATOK

(I. Kóronctani Intézet)

Egerek hátán ejtett 10 mm átmérőjű, kerek és művileg létrehozott teljes bőrhiányt kezeltünk kis energiájú lasersugárral. Több kísérletsorozatban eltérő dosist és változó gyakoriságú kezelést alkalmaztunk. Megállapítottuk, hogy 1,1 Joule/cm² energia hetente kétszer adagolva a besugárzott seb gyógyulását a kontroll seb gyógyulásához viszonyítva mintegy 3 nappal (20–25%-kal) meggyorsította. A kis energiájú lasersugár a sejtműködést és a sejtoszlatást serkenti, a sejtzaporodást fokozza, és ezzel per granulationem gyógyuló sebek telődését sietteti.

6. DR. SELLYEI MIHÁLY: LASERSUGÁR IN VITRO HATÁSA EHRICH ASCITES TUMOR NÖVEKEDÉSÉRE

(Róbert Károly Kórház)

Ismeretes, hogy a lasersugár mind kísérleti állatok, mind emberek daganataira nagy dosisban károsító hatást gyakorol. Jelen vizsgálatok során centrifuga eső aljára max. 0,5 mm vastagságban ülepített Ehrlich ascites tumor sejtek laser sugárzása történt. Az alkalmazott sugár kimenő energia densitása nem haladta meg az 1 Joule/cm²-t. A besugárzott sejteket 10⁶ mennyiségben fehér egereknek i. p. implantáltuk. A daganat növekedését, a daganat sejtek mitosis indexét és az állatok túlélését azonos donortól származó, de nem sugárzott daganat sejtekkel inoculált kontroll csoporthoz viszonyítottuk. Az ascites tumor növekedését az állatok testsúlya és az összes daganat sejt száma alapján határoztuk meg. Hat kísérletsorozatban a sugárzott sejtekkel beoltott állatok testsúlya 10–16%-kal, a daganat sejtek száma 19–30%-kal haladta meg a kontroll csoportot. A különbség három sorozatban bizonyult magasan significansnak. 10 egérből álló csoportban a sugárzott sejtek inoculálása után a túlélés rövidebbnek bizonyult, mint az azonos számú állatot tartalmazó kontroll csoportban. Ezek alapján a lasersugár kis dosisa valószínűleg serkenti

a daganatok növekedését. Ezt támasztja alá az is, hogy a mitosis index a daganatnövekedés 8. és 14. napja között a kísérleti csoportban meghaladta a kontroll csoport mitosis indexét.

7. PROF. LAPIS ÉS GYENES G.: LASER ÁLTAL OKOZOTT ULTRA-STRUCTURALIS ELVÁLTOZÁSOK ASCITES TUMORSEJTÉKBEN

(I. Kórbonctani Intézet)

Szerzők Ehrlich asciteses egerekből tumorsejteket tartalmazó ascitest in vitro 1,0 joule erősségű laser-sugár hatásának tették ki. Kontrollként azonos állatból a besugárzás előtt levett ascites mintákat dolgozták fel. A besugárzást követően különböző időpontban a mintákból 37°-on történt inkubálás után elektronmikroszkópos feldolgozás történt.

Megállapították, hogy 15 perccel a besugárzás után súlyos sejtkárosodás jelei mutatkoztak. A sejthártya continuitása a sejtek túlnyomó többségében megőrzött, a sejtfelszínen a mikrobolyhok száma csökkent. A mitochondriumok duzzadtak, a crista-állomány pusztult, a matrix elektrondensitása is nagymértékben csökkent. A cytoplasmában kisebb-nagyobb, organellumoktól mentes elektronáteresztő areák alakultak ki. A sejtek egy részében a kontrollhoz viszonyítva nagyobb számban secundaer típusú lysosomák voltak jelen. A maghártya mindenütt megmaradt. A magállományon belül nagyki terjedésű elektronáteresztő területek alakultak ki. A chromatin-állomány a maghártya és a nucleolusok mentén tömörült. A nucleolusok szokványos ultrastructurális organisatiója megmaradt. Extracellularisan jelentős mennyiségű cytoplasmaticus organellumok helyezkedtek el.

Nem mutatkoztak sejtkárosodás jelei hasonló dósisú laser-sugár hatására, ha az ascitest előzőleg egyenlő mennyiségű 1%-os vizes acridin-orange oldattal hozták össze. Ugyancsak nem mutatkozott károsító hatás, ha nem a sejt-szuspensiót, hanem a centrifugálással kiülepített sejt-masszát sugározták be.

Szerzők discutálják a vázolt kísérleti feltételek között szerepet játszó és a sejtkárosodásokat kiváltó faktorokat.

8. DR. IHÁSZ MIHÁLY: LASER BESUGÁRZÁS HATÁSA A BÉLNÝÁLKAHÁRTYA MIKROMOTILITÁSÁRA

II. Seb. Klinika

A bélnýálkahártya röntgen sugárérzékenységének ismeretében a szerzők a laser sugárnak a bélboholymozgásra kifejtett hatását vizsgálták. Rubin laser készülék ($\lambda = 6943 \text{ \AA}$) segítségével kutya vékonybél-nýálkahártyájának methýlénkéssel megfestett $0,5 \text{ cm}^2$ nagyságú területeit $0,5-7 \text{ Joule/cm}^2$ energiával sugarozták be.

$0,5 \text{ Joule}$ energiájú laser besugárzás a bélboholykontrakciók számát lényegesen nem változtatja meg. $1-3 \text{ Joule/cm}^2$ energia az automatiát átmenetileg kifejezetten fokozza, $4-5 \text{ Joule}$ -enak megfelelő dosis viszont csökkenti. 6 Joule hatására a bélboholymozgás $1-1,5$ percre meg is szűnik. A morfológiai elváltozásokat előidézó dosisküszöb 7 Joule/cm^2 , ennek hatására a bolyhok oedémássá válnak, csúcsukon petechiák keletkeznek.

Ganglionbénítóval (nikotinsavtartarát, $100 \text{ gamma/kg i. v.}$) felfüggesztve a boholyozgást, a különben serkentő $1-3 \text{ Joule/cm}^2$ sugárenergia hatástalan. Szerzők szerint a lasersugár részben ganglionális ideghatás révén fejti ki effektusát.

9. DR. RONTÓ GYÖRGYI: A LASER INACTIVÁLÓ HATÁSA A BACTERIOPHAGOKRA

(Biofizikai Intézet)

A szerző relatíve jól definiált biológiai rendszer, T7 fág-E. coli gazdasejt esetében vizsgálta a rubinlaser ($\lambda = 694,3$ nm) által emittált fény hatását. Megállapította, hogy a szervesetlen sóoldatban szuszpendált fágokra beeső, 15 alkalommal adott, összesen 180 Joule/cm^2 -nyi energia nincs semmiféle hatással a fágok tarfoltképző aktivitására. 10^{-6} mólos methylenkék (fotodinámiai szenzibilizáló hatású) oldatban szuszpendált T7 fágok esetében a tapasztalat szerint a tarfoltképzés inaktivációja lép fel. A szerző $0,75 \text{ Joule/cm}^2$ maximális beeső energiáig elvégezte az inaktivációs dózishatásgörbe felvételét. A dózishatásgörbe jellege, valamint a létrejött inaktiváció gazdasejteken történő reaktiválódásának hiánya miatt a fág fehérje-burkának sérülésére lehet az eredmények alapján következtetni.

10. DR. KISS A. FERENC: A LASER HATÁSA A PATKÁNY MELLÉKVESEKIVONATTAL KEZELT NYÚLSZARUHÁRTYÁRA

(Anatómiai Intézet, Debrecen)

A szerzők lasersugár (6943 \AA , $1-3-5 \text{ Joule/cm}^2$) hatását vizsgálták az ereződést elősegítő fehér patkány mellékvese összkivonattal (Kiss és Krompecher, 1962) kezelt házinyulak szaruhártyáin. Kísérleteiket 18 házinyúlön végezték. A házinyulak egyik felének bal szaruhártyáiba $0,1 \text{ ml}$ mellékvese összkivonatot fecskendeztek laser besugárzás mellett, a másik felének bal szaruhártyáit pedig csak lasersugárral kezelték. A laser besugárzás a szaruhártya felső felére és a limbus felső szélére történt. Mellékvese összkivonattal kezelt és kezeletlen kontrollként a jobb szaruhártyákat használták. Megfigyeléseiket két hetes kísérleti anyagokon — lupe nagyítással makroszkópos preparátumokon és ezekből készített szöveti metszeteken — tették.

Eredmények: kisebb adagban ($1-3 \text{ Joule/cm}^2$) a laser sugárzás a mellékvese összkivonattal ereződést elősegítő hatását csökkentette számszerűleg (6 esetből 4 esetben volt csak érbenövés) és kvantitatíve is (az érbenövés területileg is csökkent). Nagyobb adagban 5 Joule/cm^2 a laser besugárzás a mellékvese összkivonattal ereződést elősegítő hatását gyulladás, fekély képződés és perforatio mellett kvantitatíve fokozta. Úgy tűnik, hogy a roncsoló adagú laser-sugárnak távolhatása is van, mivel az ellenoldali mellékvese összkivonattal kezelt kontroll-szemek szaruhártyájának érterületét is növelte.

A lasersugár az esetek 50%-ában egymagában is csekély fokú ereződést okozott, ha az ellenoldali szemek mellékvese összkivonattal voltak kezelve. Viszont, ha az ellenoldali szemek mellékvese összkivonattal nem voltak kezelve, a lasersugár csekély fokú ereződést elősegítő hatása elmaradt, csak cornealis homályt okozott az esetek egy részében. Úgy látszik, hogy a mellékvese összkivonattal — bizonyos feltételek mellett — ereződést elősegítő távolhatása is van. Mellékvese összkivonattal kezelt kontroll szemek szaruhártyáin 15 esetből 14 esetben volt érbenövés.

11. DR. DÖKLEN ANNA: LASERSUGÁR HATÁSA A CSONTVELŐ-SEJTEK IN VITRO HAEMOGLOBIN SZINTÉZISÉRE

(Sugárbiológiai Intézet)

Szerző vizsgálta 0,05 és 26 Joule közötti dózistartományban a lasersugár haemoglobin-szintézisre gyakorolt hatását *in vitro* besugárzott short-term patkány csontvelő kultúrákon. Parallel tenyészetekben külön követte a haem- és globinszintézis alakulását Fe-59, ill. glycin-C-14 inkorporáció mérésével.

Adatai szerint a lasersugárzás hatása a haemoglobinszintézisre — a két vizsgált fehérje szintézisét véve alapul — nem egyértelmű. Ugyanis míg alacsony dózistartományokban a haem-szintézis jelentősen fokozódott, majd magasabb dózisértékeknél mérsékelt gátlódásba hajlott át, addig, bár a globin-szintézisben, kezdeti kisfokú csökkenés után, ugyancsak látszott némi emelkedés, ez azonban végig mérsékelt maradt, és főként azoknál a dózisértékeknél jelentkezett, amelyeknél a haem-szintézisben már gátlódás volt.

A haemoglobin két komponensének eltérő fokú szintézise laser sugárzás hatására, feltehetően, a két fehérje különböző mértékű energia-abszorpciójával hozható összefüggésbe.

12. DR. JUHÁSZ JENŐ (OTKI); ÉS DR. KARIKA GYULA: A LASERSUGÁR ALKALMAZÁSA A GYÓGYÁSZATBAN

1. Három esetben végzett laser-kezelés közül kettő (malignus melanoma és basalsejtes rák) hatásos volt. A harmadik esetben a többenél lényegesen intenzívebb (7384 Joule/cm²) sugárhatás sem járt semmi eredménnyel. Ez a tapasztalat is a laser-hatás selectivitását bizonyítja. Az eredménytelenséget — a pigment hiányon kívül — talán az is magyarázza, hogy a lobos fekélyben kifejlődő irritatív bőrrák sugár-érzékenysége alapján véve különbözik a genuin daganatétól, és hogy a heges szövet a laser-hatással szemben resistens.

2. Kisebb sugárenergiák summálásával is lehet hatást elérni.

3. A laser hatása a pigmentált daganatra selectív, és nemcsak hőhatáson alapul. Az eredményes kutatás alapfeltétele a laser instrumentatio fejlesztése, a biológiai hatás alaposabb megismerése, az orvos, biológus és fizikus szoros kooperációja alapján.

13. G. TOTA JOLÁN: MÉRÉSI MÓDSZER VÉKONY SEJTRÉTEG LASER-ENERGIA ELNYELÉSÉNEK MÉRÉSÉRE

II. Seb. Klinika

Leukocyta réteg lasersugár abszorbeáló képességét kívántuk meghatározni. A probléma megoldásánál vékony, 0,1 mm vastag sejtréteg preparátumot készítettünk mikroszkóp tárgylemezek között. Cu-Konstantán kalori-méterrel mértük a sejtrétegen áthaladó energiát, festett, ill. festetlen sejtek esetén. A lasersugár energiáját 0,4—1 Joule között változtattuk. Mérési sorozatokat végeztünk. Eredményeinket kiértékelve, kapjuk, hogy a leukocyta réteg a rubin laser sugár energiájának 14—19%-át nyeli el. Methylénnékkal festett sejteknél nem kapunk szignifikánsan eltérő eredményt.

14. DR. J. NAGY ÉVA—G. TOTA JOLÁN: LASER HATÁSA SACCHAROMYCES CEREVISIAE PARASYNCHRON TENYÉSZETÉRE

(Radiológiai Klinika)

Megfigyelések utaltak arra, hogy a lasersugárzás és a biológiai anyag kölcsönhatásakor más természetű effektusok is észlelhetők, mint ha az élő sejtet röntgen, gamma-sugár, ultraibolya vagy hőkezelésnek tesszük ki. Korábbi eredményeink felhasználásával viszonyítási alapot igyekeztünk teremteni a laser effektus számára.

Vizsgáltuk, hogy a laser kivált-e valamilyen serkentő hatást az élesztősejt besugárzás utáni első sarjadzására.

Nem fókuszált, szűrt laser sugárzás esetében sikerült ugyanolyan dózist találnunk ($0,1 \cdot 10^{-2}$ Joule), ami a sejtszám alakulása, az oxigénfogyasztás, a túlélő sejtek százaléka szempontjából látszólag teljesen indifferens volt, sem gátlást, sem serkentést nem sikerült regisztrálnunk, de a sejtszaporodásban stimuláció nem mutatkozott. Ugyanezen dózissal megsugárzott sejtpopuláció oxigénfogyasztása (120'-en belül) $102,3 \mu\text{l}$ volt a kontroll sejtek $98,5 \mu\text{-nyi}$ oxigénfogyasztásához képest. Tekintve, hogy valószínűtlen, miszerint egy mégoly csekély dózis is hatástalan legyen, ezt a körülményt csak olyan értelemben lehetne stimulációs hatásnak értékelni, mint ami adott feltételek mellett kompenzatorikusan közömbösíti a gátló effektust.

Megfelelően az esetenként alkalmazott dózissal (az eredmények 4—6 kísérletsorozat átlageredményeit reprezentálják) az élesztősejtek sarjadzásában, ill. szaporodásában különböző mértékű késleltetést lehetett megfigyelni. $0,61 \cdot 10^{-1}$ Joule-al megsugárzott mintáink O_2 fogyasztása két óra alatt 38%-a volt csak a kontrollénak. Általánosságban megfigyelhető, hogy az első mitózisnál észlelt késleltetést a sejt a továbbiakban nem képes kompenzálni, a szaporodás sebességében mutatkozó lemaradást a sejt a további generációk során sem tudja behozni.

KÖNYVISMERTETÉSEK

Recent Studies on the Hypothalamus.

British Medical Bulletin vol. 22, Nr. 3, pp. 195—284, Published by the Medical Department, The British Council, London, 1966.

A jólismert sorozatnak ezt a monográfiászerű kötetét a szerkesztők a hypothalamusnak szentelték. A nagyagyvelő mélyében elhelyezkedő ezen fontos idegrendszeri központ iránti érdeklődés századunk első évtizedei óta egyre fokozódik ugyan, de a hypothalamussal kapcsolatos kutatómunka volumene különösen az utolsó negyedszázadban nőtt meg. A sokrétű vizsgálatok nyomán jobban megismertük ezen komplex agytörzsi neuroncsoport szerepét a belső elválasztású rendszer ellenőrzésében, az állatok és az ember magatartási reakcióiban, az anyag- és energiaforgalomban stb. Meglepő ugyanakkor, hogy a hypothalamikus funkció minden részletét felölelő rövid összefoglaló munka 1940 óta nem jelent meg. Ebből a szempontból a *British Medical Bulletin* kezdeményezése hézagpótló jelentőségű.

A kötet Harris professzor bevezetőjén kívül 14 tanulmányt tartalmaz. A referátumok mindegyikét a kérdés legjobb angol ismerője állította össze, ilymódon hiteles képet kapunk a hypothalamus-kutatások és klinikai vizsgálatok mai állásáról. A kötet sorrend szerint a következő közleményeket foglalja magában: A hypothalamus idegi kapcsolatai; A hypothalamus és a hypophysis vérellátása; A hypothalamikus neuroszekréció; Táplálékfelvétel, energiaegyensúly és növekedés; Kolinergiás és monoaminergiás pályák a hypothalamusban; A gerincesek hypothalamus-neurohypophysis rendszerének hormontartalma; Hypothalamus és vízfelvétel; Hőszabályozás és a hypothalamus; A cardiovascularis rendszer hypothalamikus szabályozása; A hypothalamus kísérleti károsítása; A hypothalamus elektrofiziológiai vizsgálata; Hypothalamus és tejlévasztás; A hypothalamikus „releasing” faktorok és az elülső hypophysis-lebeny működésének ellenőrzése; Hormonok hatása a hypothalamusra.

A kötet áttanulmányozása után a biológia és a medicina legkülönbözőbb ágaiban járatos szakember teljes képet kaphat e fontos szabályozóközpont működéséről. Ez igen hasznos körülmény, tekintettel arra, hogy a szakirodalom egyre növekvő áradatában az ilyen rövid, közérthető összefoglaló munkák nélkül szinte lehetetlen nyomonkövetni a rokon szakterületek újabb eredményeit. A kitűnő ábraanyaggal és világosan prezentált táblázatokkal kiegészített mintegy nyoleven oldalnyi szöveg éppen ezt a tájékozódást segíti elő.

Dr. Ádám György

Intestinal Absorption.

British Medical Bulletin, vol. 23, Nr. 3, pp. 205—292.

Published by the Medical Department, The British Council, London, 1967.

A kitűnő összefoglalókat közreadó *British Medical Bulletin* e kötetét a bélfelszívódás kérdésének áttekintésére szánta. A különböző tápanyagoknak a bélből történő felszívódási mechanizmusát sok esztendeig olyan funkcióknak tekintettük, melyről Verzár Frigyes és mások úttörő kísérletei óta nem sok új mondanivalónk lehet. A legutóbbi években azonban a bélből történő abszorpció kérdése újból „divatba jött”. Az orvosi és biológiai érdeklődésnek ezt a növekedését nagyrészt azok a klinikai felismerések serkentették, melyek értelmében egy sor gyomor-bél bántalomban és anyagcsere betegségben a felszívódás zavarai játszókat a döntő szerepet. A klinikus orvos egész sor kórképet vezet ma vissza „malabsorptio”-ra. A felszívódás-

sal kapcsolatos kutatások fellendülését a bélhámsejtek ultrastruktúrájának megismerése és a só-vízforgalom mechanizmusainak feltárása is elősegítette.

Jelen kötet mindezen korszerű tendenciákat hűen tükrözi. D. H. Smyth érdekes bevezetője után a könyv 17 kitűnően összeállított közleményt tartalmaz a legkompetensebb angol szakemberek tollából. A vizsgálati technikáktól kezdve egészen a felszívódás genetikai és mikrobiális vonatkozásaiig e monográfiászerű kötet a bélfelszívódás minden jelentős kérdését felöleli. Igen imponáló a kötet illusztrációs anyaga is: jól szerkesztett grafikonokon és táblázatokon kívül több igen szép fénymikroszkópos és elektronmikroszkópos felvételt tartalmaz.

A jólismert sorozatnak ezt az új kötetét nemcsak a tárgyalt kérdések iránt speciálisan érdeklődő fiziológus, morfológus, vagy klinikus szakember tanulmányozhatja sok haszonnal, hanem — ezen túlmenően — a medicina és a biológia más területein dolgozó specialista is. E rövid, kitűnő összefoglaló munka kapcsán újból hangsúlyozni kell az ilyen hasznos referátumok nagy jelentőségét a biológiai szakirodalom egyre terebélyesedő áradatában.

Dr. Ádám György

Bauer Ervin: Elméleti biológia
Akadémiai Kiadó, 1967. 243 o.

A mű a kevés számú kifejezetten elméleti biológiai jellegű munkák egyike. Az 1942-ben tragikus körülmények között elhunyt, magyar származású orvos-biológus mai napig időszerű műve első részében egyrészt olyan feladatokat vet fel, amelyeket a jelenlegi molekuláris biológia készül megvalósítani, másrészt megválaszol olyan kérdéseket, amelyeket más kutatók vagy nem említenek, vagy helytelenül értelmeznek. Ilyen kérdés valamennyi életjelenség dinamikus voltának a forrására utaló termodinamikai elmélet. Különösen értékesek azok a fejezetek, amelyek az élőrendszerek szabad szerkezet-energiájának a forrására vonatkoznak.

A könyv második része a biológiai tudományok egyes ágazatait érintő speciális kérdéseket tárgyal. Ezek egy része a különböző életjelenségekkel foglalkozó tudományterületekre (fiziológia, szaporodásbiológia, növekedésbiológia, evolúciótan stb.) vonatkozik. A további fejezetek — magának az életnek a sajátos anyag-energetikai problémái tisztázását vizsik előbbre. A biológiai mozgásforma sajátos szakmai vonatkozásait mély elméleti megalapozottsággal taglalja.

A könyvnek különösen az 1920-ban megjelent kisebb munkájának függeléként csatolt, de történelmi szempontból érdekes része, de az újabb keletű fejezetei is filozófiai szempontból részben kiforratlanok. Nem is az volt a szerző elsődleges célkitűzése, hogy a problémák filozófiai, hanem, hogy elméleti elemzését végezze el, amelyeket azonban minden esetben marxista nézőpontból közelített meg.

A könyv minden biológus számára tanulságos, időszerű és feltétlenül gondolatkeltő.

Dr. Faludi Béla

É R T E S Í T É S

Felhívjuk az érdeklődők figyelmét, hogy a Mérnöki Továbbképző Intézet 1970 tavaszán nappali tanfolyamot indít „Korszerű fizikai mérési módszerek a biológiában” címmel.

A tanfolyam tematikája az általános érdeklődésnek megfelelően került összeállításra, és az alábbi fő fejezeteket foglalja magába:

- I. Biomechanikai mérések,
- II. Biológiai hőtani mérések,
- III. Bioelektronikus mérések,
- IV. Optikai mérések a biológiában,
- V. Számítógépek felhasználásának főbb lehetőségei a biológiában,
- VI. Biológiai mérések radioizotópokkal.

Az előadások időtartama összesen 32 óra. Előadó: Dr. Major János fizikus.

A radioizotópokkal foglalkozó 2 órás előadást Csáki László fizikus tartja.

A tanfolyamra 1970. február 15-ig lehet jelentkezni, a Mérnöki Továbbképző Intézet 1970 januárjában megjelenő tájékoztatójában közlésre kerülő feltételekkel.

A tanfolyam iránt érdeklődő intézmények, illetve magánszemélyek a tájékoztató megjelenése előtt is bővebb felvilágosítást kaphatnak a Mérnöki Továbbképző Intézet Tanfolyami Osztályán, Budapest XI., Egri József u. 20—22. címen, vagy telefonon (258—945, 29—57 m.). Ugyanitt kérhető az 1970 januárjában megjelenő részletes tájékoztató is, amelyet kérés alapján minden érdeklődőnek szívesen megküldenek.

MAGYAR
TUDOMÁNYOS AKADÉMIA
KÖNYVTÁRA

A kiadásért felel az Akadémiai Kiadó igazgatója

Műszaki szerkesztő: Merkly László

A kézirat nyomdába érkezett: 1969. VI. 9. — Példányszám: 900 — Terjedelem: 5,6 (A/5) ív + 0,35 (A/5) ív melléklet

69.67795 Akadémiai Nyomda, Budapest — Felelős vezető: Bernát György

Világviszonylatban is egyedülálló vállalkozás!

ORVOSI LEXIKON

4 kötetben

Főszerkesztő: Dr. HOLLÁN ZSUZSA

1. A—D kötet

2. E—J kötet

1967. 925. I. Kve 200,— Ft 1969. 1200 I. Kve 240,— Ft

„... páratlanul kiemelkedő újszerű vállalkozás... tartalomgazdagságával messze fölülmúlja az eddig közkézen forgó külföldi orvosi értelmező szótárakat.”

Orvosi Hetilap

„A lexikon szerkesztői kitűnően oldották meg a nehéz feladatot.”

Természettudományi Közlöny

„... nemzetközileg is úttörő jellegű munka... a szakembereknek íródott, emellett a művelt laikusok széles tábora is haszonnal forgathatja majd köteteit.”

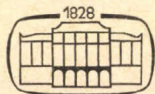
Magyar Hírlap

„... nemzetközi viszonylatban is nagy jelentősége van a kiadványnak.”

Népszava

„... 60 000 címszavával gyakorlatilag felöleli a mind nagyobb mélységekig specializálódó orvosi szakágak minden aprólékos részletét... a kiadó rendkívüli munkát tett a magyar orvostudomány asztalára, és az sem kétséges, hogy ez a lexikon rövidesen nélkülözhetetlen mindennapos segédeszközként az orvosok könyvespolcain is szolgálni fogja a jobb betegellátást.”

Népszabadság



Akadémiai Kiadó

Ára: 12,— Ft

Évi előfizetési ára: 20,— Ft

INDEX: 26,073

TARTALOMJEGYZÉK — INDEX

- ÖKRÖS I., FAZEKAS I., BÁCSY E., RAPPAY GY. és TÖRŐ I.: Hidrolitikus enzimek aktivitásának elektronmikroszkópos vizsgálata *in vitro* tenyésztett patkány thymus-sejtekben — Electron microscopic investigation of the activity of the hydrolytic enzymes of *in vitro* cultivated rat thymus cells — Электронномикроскопическое исследование активности гидролитических ферментов в культивированных *in vitro* клетках тимуса крыс 3
- MESTER E., LUDÁNY GY. HÉJJAS M. és FRENYÓ V. Laser irradiáció hatása leukocyták katalázaktivitására — Die Wirkung der Laserstrahlen auf die Katalaseaktivität der Leukozyten — Действие иррадиации лазера, на активность каталаз лейкоцитов 11
- OROSZ A., KURCZ M. és NAGY I.: Hosszantartó és nagy dózisu ösztrogén kezelés hatása patkányok pajzsmirigyműködésére — Die Wirkung einer langandauernden und in grosser dosis verabreichten östrogenbehandlung auf die Schilddrüsenfunktion von Ratten — Влияние длительного применения голящих доз эстрогена на функцию щитовидной железы крыс 17
- NAGY I., KURCZ M. és BARANYAI P.: Prolactin aktivitás lokalizálása néhány faj adenohypophysisének polyacrylamid-gél elektroforetogramjában — Localization of prolactin activity in polyacrylamide-gel electrophoretograms of the adenohypophysis of some species — Локализация активности пролактина аденогипофиза некоторых видов электроферотограмме полиакриламид-геля 25
- SASVÁRI L. és SZÓKE Zs.: A szén-, a kék- és a barátcinege hangjelzéseinek egyedfejlődése — The ontogeny of vocal signals in Great Tit, the Blue Tit and the Marsh Tit — Онтогенез звукового сигнала у синиц (*Parus maior*, *Parus caeruleus* et *Parus palustris*) 37
- MESTER E.: A BOTE II. sz. Sebészeti Klinika munkacsoportjának 1969. V. 23-án tartott beszámolója a laser biológiai hatásaira vonatkozó vizsgálatairól 53

Könyvismertetések

- Recent studies on the hypothalamus. *British Med. Bull.*, 22, (Dr. Ádám Gy.) 60
- Intestinal absorption. *British Med. Bull.*, 23, (Dr. Ádám Gy.) 60
- Bauer E.: Elméleti biológia (Dr. Faludi B.) 61

Értesítés

- Korszerű fizikai mérési módszerek a biológiában — tanfolyam (Dr. Major J.) 61

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.

304.441

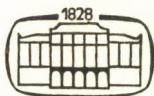
BIOLÓGIAI KÖZLEMÉNYEK

A MAGYAR BIOLÓGIAI TÁRSASÁG
ÁLTALÁNOS BIOLÓGIAI SZAKOSZTÁLYÁNAK FOLYÓIRATA

Szerkesztő
FALUDI BÉLA

XVII. kötet

2. füzet



AKADÉMIAI KIADÓ, BUDAPEST 1970

A Biológiai Közlemények a Magyar Biológiai Társaság Általános Biológiai Szakosztályának folyóirata. Megjelenik évente két füzetben. Közli a Szakosztály tárgykörébe tartozó (szármasztán, 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.*

8-METOXIPSORALEN ÉS FOTOSZENZITIZÁLÓ ULTRAIBOLYA FÉNY LETÁLIS ÉS MUTAGÉN HATÁSA*

IGALI SÁNDOR

Országos „Frédéric Joliot-Curie” Sugárbiológiai és Sugáregészségügyi
Kutatóintézet, Budapest

A kutató számára mindig nagy élmény — különösen a molekuláris és elektronbiológia korszakában — ha olyan témával találkozik, aminek irodalma több mint 3000 év távlatába nyúlik vissza. Az emberiség kutatószenvédelvényének egyik legrégebb tárgya a bőrön található fehér „leprafoltok” megszüntetése volt. Ezt a betegséget manapság inkább leucoderma vagy vitiligo néven diagnosztizálnák, amit a bőr melanintermelésének elégtelensége idéz elő. Az i. e. 1400-ból vagy még régebbi időkből származó hindu Atharva Veda szent könyvben már pontos leírás található, hogyan lehet a fehér foltokat bizonyos fekete magvak és egyéb növényi anyagok segítségével eltüntetni. Az ősi megfigyeléseket a modern tudomány igazolta, amikor e drógokban fotodinamikusan ható aktív furocumarinokat találtak, mint amilyenek a psoralenek.

Bár az első furocumarint, a bergaptent (5-metoxipsoralen) több mint 100 évvel ezelőtt izolálta Kaltenbrunner bergamottolajból — a mai napolajok és kölnik egyik alkotórészéből — e vegyületek igazi biológiai természetét és jelentőségét csak napjainkban ismerték fel [13]. A psoralenek széleskörű elterjedése méltán keltette fel az érdeklődést, mi is lehet a szerepük a növények életében? Kiderült, hogy e vegyületek bizonyos fajok növekedését gátolják, ami nemhogy nem ártalmas, hanem ellenkezőleg, elősegíti a növények túlélését mostoha életkörülmények között. Ilyen növekedésgátló vegyületet találtak egyes sivatagi növények gyökereiben, leveleiben, de különösen koncentráltan a termésfalban (perikarpium). A növényembrió körülvevő anyag a kicsírázást és növekedést kidiffundálásának sebességével szabályozza — ez viszont a talaj víztartalmától függ [2]. Joggal feltételezhető tehát, hogy e növekedésgátló anyagok fontos szerepet játszanak olyan esetekben, amikor a növény élete a kis mennyiségű elérhető víztől való küzdelemtől függ.

A psoralenek egyúttal hatékonyan gátolják egyes gombafajok növekedését [4]. Ily módon a kísérletek gyönyörűen demonstrálták a természet ökonómiáját. Hiszen ugyanazon vegyületek egyrészt megakadályozzák a növekedést vízhiány esetén, másrészt a növényből kidiffundálva a patogén gombák elpusztításával fertőtlenítik a talajt.

A napvilágra kerülve azonban a psoralenek viselkedése meglepően átalakul, amint azt az ősi népek megfigyelték, és Kuske a phytodermatitis vizsgálataival demcnstrálta 1938-ban [20]. Ez a bőrhólyagosodás olyan pacien-

* A Ciba Alapítván y 1969. június 3-i vitaülésén Londonban elhangzott előadás szövege

seknél jelentkezik, akiket bizonyos növényekkel történt érintkezés után napfény ér. A kellemetlen hatást előidéző vegyületeknek a bergamottolajból kivont bergapten és a fűgéből nyert psoralen bizonyult. Később a fotoszenzitivizáló psoraleneket számos más növényben is megtalálták [28]. Ilyenek a paszternák, kömény, kapor, petrezselyem, sárgarépa, zeller, angyalgyökér (*Umbelliferae*); ruta, ezerjófű, narancs, Citrus bergamia (*Rutaceae*); boglárka (*Ranunculaceae*); mustár (*Cruciferae*); apró szulák (*Convolvulaceae*); parlófű (*Rosaceae*); cickafark (*Compositae*); libatop (*Chenopodiaceae*); Psoralea coryfolia (*Leguminosae*); orbáncfű (*Hypericaceae*). Ez utóbbi növényből a carcinogen hypericint izolálták.

A psoralenekkel komolyan a negyvenes években kezdtek el foglalkozni a kairói egyetemen Fahmy vezetésével [10]. Az egyiptomi orvos-papok által ősidők óta a vitiligo gyógyítására használt szürkészöld növényporból izoláltak egy furocumarint, a 8-metoxipsoralent — 8-MOP.

Klinikai vizsgálatokban a vegyület napfényel kombinálva hatásosnak mutatkozott a vitiligo gyógyítására. Latens periódus után a bőrön levő fehér foltok megpirosodtak, majd megbarnultak. A további kísérletekben kiderült, hogy a furocumarinok segítségével az emberi bőrt a napfényel szemben ellenállóbbá lehet tenni. A feltevés elméleti és klinikai jelentősége következtében az ötvenes években eléggé széleskörű kutatómunka indult, ami a furocumarinok növényi előfordulásával, hatásmechanizmusukkal, toxicitásukkal, nagyintenzitású ultraibolya sugárforrások kialakításával foglalkozott. Különösen érdekelté a kutatókat esetleges szerepük a napfényel, illetve ultraibolya sugárzással indukált bőrrák keletkezésében. Egyesek e hatást bizonyították. Mások ellentétes eredményeket kaptak. Macdonald, Hopkins és munkatársaik széleskörű klinikai kutatómunka eredményeit közölték [22, 18]. Kettős vak kontrollal irányított vizsgálataikban 265, főleg szabadban dolgozó pácienst vett részt. Az emberek naponta 20 mg psoralent kaptak orálisan, és Ausztráliában illetve az USA-ban mezőgazdasági munkát végeztek. Megjegyzendő, hogy mind fokozott fogékonyságot mutattak bőrrák iránt. A 15—24 hónapig tartó vizsgálatok alatt egyetlen esetben sem találtak új bőrrák léziókat.

A kémiai, biológiai és klinikai kutatómunka eredményeképpen úgy látzik, hogy a psoralenek fotodinamikus hatásának feltételezése is követi a hipotézisek sorsát, ami William James szerint 3 klasszikus stádiumon megy keresztül.

Először a hipotézist képtelenségnek tartva támadják és elvetik.

Másodszor elismerik ugyan hogy igaz, de nyilvánvalónak és jelentéktelennek bélyegzik.

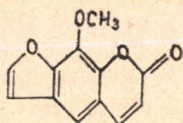
Végül, mikor már jelentősége minden kétséget kizáróan beigazolódott, a hipotézis felfedezését immár eddigi ellenzői maguknak tulajdonítják.

A psoralen hipotézis jelenleg az első stádiumban van, de már mutatkoznak a következő fázis szimptomái is. Előrehaladását elősegítendő, Dr. Ashwood-Smith és Dr. Bridges tanácsára kísérleteket indítottunk baktériumokkal mutagén hatásuk tisztázása végett. A csábítás azért is nagy volt, mert a psoralenek fotoszenzitivizáló hatása emlékeztetett az ultraibolya, rtg. gamma sugárzás mutagén hatásaira.

Mielőtt azonban rátérnék eredményeinkre, hasznosnak látszik röviden — a teljesség igénye nélkül — áttekinteni a psoralenek fotodinamikus hatásának természetét. A továbbiakban a fotoszenzitivizáló kifejezést használjuk, mivel itt az oxigén nem játszik szerepet.

A psoralenek fotoszenzitiváló hatása

A psoralenek a cumarin furán származékai. A két molekula kapcsolódásának 12 féle lehetősége van, melynek mindegyike egy-egy származékcsoport kiinduló tagja lehet. Csaknem az összes alapvegyületet szintetizálták már, de a természet nagyon konzervatívnak mutatkozott e területen is. Eddig az összes természetesen előforduló furocumarin az angelicin és a psoralen származékának bizonyult (1. ábra).



1. ábra. A 8-metoxypsoralen, a legismertebb fotoszenzitiváló furocumarin szerkezeti képlete

A psoralenek szerkezete döntően befolyásolja fotobiológiai viselkedésüket, amint ezt Pathak és munkatársainak széleskörű vizsgálatai bizonyították [29]. 36 furocumarin származék közül legnagyobb mértékű erythemát a psoralen idézte elő emberen és albino tengeri malacokon. A 4, 8 és 5' hely metilezése nem csökkentette a biológiai hatást, viszont a 3 és 4' hely szubsztitúciója igen. A 4' és 5' hely telítése hidrogénnel inaktíválta a vegyületeket. A hydrocortisonból és catecholból előállított hasonló típusú vegyületek hatásalanoknak bizonyultak.

A bőrszövet érzékenyítés a 320–400 nm hosszúságú (near ultraviolet — NUV) fényvel szemben a psoralen gyűrű speciális tulajdonsága. A metilezésen kívül, a psoralen molekula elektronkonfigurációjának mindennemű megváltoztatása csökkenti vagy megszünteti fotoszenzitiváló képességét.

A psoralenek kémiaiailag eléggé közömbösek — jelentős aktivációs energiára van szükségük, hogy kémiai és biológiai reakciókban résztvegyenek.

Kizárólag az elnyelt fényenergia quantumai indítanak el fotokémiai reakciókat, ezért a psoralenek egyik leglényegesebb tulajdonsága abszorpciós spektrumuk. Fotokémiaiailag a psoralenek megfelelnek a fotoszenzitiválás követelményeinek, mert aktivációs — fluoreszcencia — és emissziós — foszforeszcencia — csúcsuk a 340 nm-es hullámhossznál van, míg 360 nm a leghatásosabb biológiai reakciók kiváltásában [31].

A fotoszenzitiváló molekula tehát a specifikus hullámhosszú fényenergiát elnyeli és azt a biológiai rendszerekben továbbítva az életfontosságú óriásmolekulák átalakításával éri el hatását.

A fotokémiai reakciók Pathak szerint az alábbiak lehetnek [27]:

1. Compton és Roman hatás nyomán bekövetkező fizikai kölcsönhatások atom vagy molekula vibrációt vagy rotációt váltanak ki.

2. Az energia hőkibocsátással vagy az érintett molekulának singlet állapotba történő gerjesztése révén levezetődik — e folyamat már elindíthat fotokémiai reakciókat.

3. Fluoreszcencia — a gerjesztett singlet állapotból az alaphelyzetbe való visszaállás során történő energiakibocsátás — közvetlenül, 10^{-8} másodperccel a besugárzás után.

4. Molekula disszociáció — újrendeződés vagy két új molekulatermék képződése.

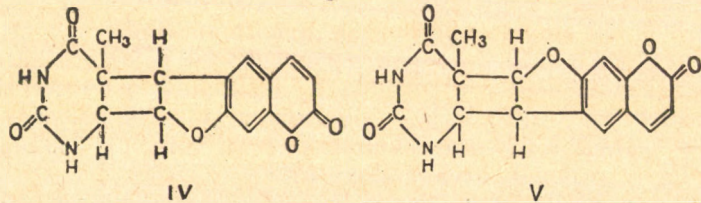
5. Egy másik lehetőség az aktivált molekulák átalakulása metastabil tripletté, amit foszforeszcencia kísér.

Mindez a molekula ionizációjához — egy elektron elvesztéséhez — vezethet, ami azután a besugárzott élőlényben biológiai elváltozásokat okozhat. A 8-MOP-ot fluoreszcencia és foszforeszcencia jelenségek mellett aktiváló fény hullámhossza 340—360 nm között van, ami egyúttal a biokémiai és biológiai reakciók kiváltásához is szükséges. A vegyület fotoszenzibilizáló hatása tehát nyilvánvaló.

A psoralenek biológiai hatásainak felderítése az eddig exponált problémákon kívül még azért is érdekelte a kutatókat, mert számos jel arra mutatott, hogy a fotoszenzibilizáló effektus nagyon hasonlít a 260 nm-es ultraibolyáéhoz (far ultra-violet — FUV) és különösképpen mert úgy látszott, hogy a dezoxiribonukleinsavra (DNS) hat.

E mikrobiológiai kísérletek alapján tett megállapításokat erősítették meg Musajo [24], valamint Farid és Krauch [12] fotokémiai adatai. Szerintük akár közvetlenül, akár fotoszenzitivizációval kerül a furocumarin gerjesztett állapotba, a pyron vagy a furán gyűrű kettős kötéséhez kapcsolódik a másik furocumarin molekula — homodimerizáció — vagy más molekula — kodimerizáció —, ciklobután gyűrű képződésével. Megjegyzendő, hogy a FUV által indukált fotoproduktumok is ciklobután típusú pirimidin dimérek. Kísérleteikben tríciummal jelzett nukleozidokat sugároztak be NUV-al és a fotoproduktumok közt kimutatták a psoralen-timidin, illetve a psoralen uridin 1 : 1 arányban képződött kodimerjeit. Citidinnel a fotokémiai reakció sokkal kisebb mértékű volt. A dimerképzés valószínűleg a furán gyűrűvel történő C4 cikloaddícióval megy végbe.

Musajo a ³H-psoralen jelenlétében NUV-al besugárzott Ehrlich ascites tumorsejtek DNS-éből is ki tudta mutatni a timin-psoralen fototermekeket, amik azonosnak mutatkoztak az in vitro kísérletekben izolált kodimerekkel [24] (2. ábra).



2. ábra. Psoralen-timin fotoszenzitivizációval keletkezett kodimérek szerkezeti képlete

A psoraleneknek bőrreakciókat kiváltó fotoszenzitivizáló hatásmechanizmusa még teljes sötétségben van. Tudjuk, hogyha albino személyeknek orálisan vagy lokálisan 8- vagy 5-MOP-ot adnak, majd napfény vagy NUV hatásának teszik ki őket, bőrreakciók fejlődnek ki. Lappangási periódus után a depigmentált részek megpirosodnak, majd melaninképződés következtében megbarnulnak. Súlyos esetekben oedema, vesicatio, desquamatio, ulceratio, sőt carcinoma kialakulását is megfigyelték. A hatás függ a psoralen koncentrációjától, a besugárzás hullámhosszától és dózisától, valamint az egyed fogékonyságától. A vegyület elviselhető adagja kísérleti állatokban napi 20 mg/kg volt, az LD₅₀ felnőtt Swiss albino hím patkányokban 200—750 mg/kg [15]. Az elviselhető dózis adagolása esetén patológikus elváltozásokat — fibro-

sarcoma, cataracta — figyeltek meg 10^8 erg/cm² NUV dózis hatására [5]. A tolerálható humán dózis 20 mg volt naponta orális alkalmazás esetén. Mint már említettük, káros elváltozásokat nem mutattak ki 2 évi folyamatos adagolás után sem.

Az elmúlt évtizedben végzett széleskörű klinikai kutatások folyamán kiderült még, hogy a levegő páratartalmának növelése elősegíti a helyileg alkalmazott psoralenek hatását [16]. A fotoszenzitivizációt immunológiai tényezők is befolyásolják. Azok a paciensek, akiknek α_2 globulin szintje alacsony volt, lassabban reagáltak az orális psoralen kezelésre, mint a normális szintűek [8]. Másrészt corticosteroidok kombinációjával nagymértékben fokozódott a melaninképződést elősegítő hatás. E megfigyelés azért is fontos, mert egy feltevés szerint a csökkent autoimmun válasz a melanocyták tirozináz aktivitásának gátlásával vitiligo kialakulásához vezethet [11].

A psoralen problémakör még komplikáltabb lett El-Mofti és munkatársainak egy előzetes közleménye után [9]. Albino patkányoknak orálisan beadott 8-MOP — 100 mg besugárzás előtt 2 órával, vagy 0,33 mg 15 napon át — szenzitivizálta az állatokat rtg. sugárzással szemben. 900 R 230 kV-os dózis esetében a túlélés 8,6 illetve 6 nap volt — az adagolás módjától függően — a 8-MOP-al nem kezelt, de besugárzott egyedek 12,6 napos túléléséhez képest. Másrésztől viszont a vegyület sugárvédő hatást mutatott fokozatosan adagolt béta sugárzás esetében, 1200 rep-ig. A bőrreakciók megjelenése 8-MOP adagolás esetén elhúzódott, a károsodás mértéke csökkent és az állatok gyorsabban regenerálódtak, mint a fotoszenzitivizátorral nem kezelték.

Az előzőekben felvázolt homályos és sok tekintetben ellentmondásos kép csak úgy deríthető fel, ha feltételezzük — s méghozzá jogosan — hogy a psoralen fotoszenzibilizáló hatása közvetve vagy közvetlenül kapcsolatos a sejtek életfontosságú molekuláiban végbemenő biofizikai és biokémiai változásokkal. S valóban, a szabadonélő sejtrendszernek többet árulnak el a psoralen fotoszenzitivizáló hatásmechanizmusáról, mint a bőrreakciók.

A psoralenek letális és mutagén hatása

A psoralenek letális fotoszenzitivizáló hatását már 1958-ban bizonyították [14]. Fowlks és munkatársai a szűrőpapír-korong diffúziós eljárás segítségével 25 furocumarin közül 13-at aktívnak találtak 5 baktériumtörzsszel szemben. A Gram pozitív coccusok érzékenyebbek voltak, mint a Gram negatív pálcika alakú baktériumok. Érdekes, hogy ionizáló sugárzások esetében e helyzet fordított.

A következő évben jelent meg Oginsky és munkatársainak közleménye [26], amelyben részletesen analizálták a 8-MOP letális hatását. A vegyület nagymértékben csökkentette a 300—400 nm-es NUV fényvel besugárzott *Staphylococcus aureus* és *Escherichia coli* sejtek túlélését. A B/r törzs rezisztensebb volt, mint a B és túlélési görbéje nagyobb vállat mutatott. Pontosan úgy, mint a FUV, rtg. és gamma sugárzások esetében. A 8-MOP effektus eltér a metilénkék és látható fény fotodinamikus hatásától, amennyiben nincs szüksége molekuláris oxigénre, sőt O₂ jelenléte a 8-MOP fotoszenzitivizációt gátolja is. Ezt egyébként fotokémiai kísérletek eredményeivel is megerősítették. A 8-MOP hatás relatíve érzéketlen a környezeti pH-ra, de érzékeny a hőmérsékletre. A besugárzás alatti hőmérséklet növelése 0—45 C° között arányosan csökkenti a letalitást. A hőmérsékleti koefficiensek (a B törzsnél Q₁₀—

0,67, a B/r törzsnél $Q_{10} - 0,44$) lényegesen kisebbek a metilénkék fotodinamikus hatásánál ($Q_{10} - 1,6$) és FUV használata esetén ($Q_{10} - 1,77 \pm 2,2$) talált értékeknél. A baktériumok érzékenysége a tenyészetek korától függött. A B törzs logaritmikus növekedési fázisban volt a legérzékenyebb, míg a B/r a lag periódus alatt. A 8-MOP-al fotoszenzitivizált sejtek kolóniaképző — tehát osztódási — képességét a tápközeg is befolyásolta. A besugárzás előtt komplex, tápanyagokban gazdag mediumban tenyésztett baktériumok közül több élte túl a fotoszenzitivizációt, mint minimális feltételek mellett — mindkét növekedési fázisban. Ugyanilyen kedvező hatású volt a túlélésre a besugárzás utáni tápanyagbőség.

A 8-MOP letális fotoszenzitivizáló hatását kimutatták polio- és influenza vírusok [21], in vitro tenyésztett emlősejtek [24], kezelt spermiumokkal megtermékenyített tengeri sünn peték [6], valamint Ehrlich ascites tumorsejtek esetében. Ez utóbbinál Musajo [25] megfigyelte a bőrt nem érzékenyítő 5,8-dihidroxipsoralen radioszenzitivizáló hatását gamma sugárzással szemben.

A felsoroltakon kívül a psoralenek genetikai hatását is felfedezték. Dolcher és munkatársai az 5-MOP-ot és a psoralent csaknem olyan hatásosnak találták, mint az abban az időben legaktívabb tryptaflavint. A mitózisok 40%-ban kromoszómaaberrációkat találtak, ha hagyma gyökércsúcsokat $20\text{ }^\circ\text{C}$ -on 4 óráig inkubálták 5×10^{-5} mólos koncentrációjú oldatokban. Nagyobb koncentrációnál a mitózis teljesen leállt. Sajnos a közleményből nem derült ki, hogy a kísérleteket milyen fényviszonyok mellett végezték, így az adatokat nehéz megfelelően értékelni (lásd Fowlks, 13). Annál is inkább, mert idézésük az újabb irodalomból hiányzik.

A mutagén hatást először Altenburg [1] mutatta ki minden kétséget kizáróan. Psoralen és NUV külön-külön nem okoztak öröklődő megváltozásokat *Drosophila* fejlődő petéiben. Viszont együttes alkalmazásuk 2,7%-kal megnövelte a Muller-féle „sifter” technikával kimutatható látható recesszív mutációk rátáját a kontrollhoz képest.

Baktériumoknál — a letalitás mellett — Matthews [23] demonstrálta a 8-MOP mutagén hatását, érzékeny *Sarcina lutea* baktériumok penicillinrezisztenciájának ugrásszerű megnövekedésével: $3 - 12 \times 10^{-3}$ mutáns indukálása túlélőnként! Eredményei alapján arra a figyelemreméltó következtetésre jutott, hogy a sejtek fotoszenzitivizációja nem a sejt enzim-proteinjeit károsította, hanem a DNS-et.

A 8-MOP mutagenitását NUV fotoszenzitivizációval Drake és McGuire [7] T_4 bakteriofágokkal bizonyították. Számításaik szerint 4×10^{-4} mutáns indukálása várható letális találatonként, ami a gyengén ható mutagénekre jellemző frekvencia. Az így keletkező mutánsok legtöbb vizsgált bélyegeik alapján egymástól nem különböztethetők meg. Speciális kémiai mutagénekkel történő revertibilitásuk alapján a mutánsok zöme transitio következtében nyerte vissza eredeti funkcióját — adenin-timin \rightarrow guanin-citozin átalakulással — és csak elenyésző kisebbségük bizonyult transzverzionnak, olyan bázispár szubsztitúciónak, ahol a purin-pirimidin orientáció megváltozott, pl. A-T \rightarrow T-A.

Összefoglalva a psoralenek fotoszenzitivizáló hatását megállapítható, hogy kifejezett ilyen effektussal rendelkeznek és ehhez nincs szükségük molekuláris oxigén jelenlétére. Különösen jelentős — amennyiben igaznak bizonyul — az ionizáló sugárzásokkal szembeni szenzitivitásijuk. Ha biológiai anyagokkal együtt NUV fényvel sugározzák be őket, bőrreakciókat, sejtletali-

tást és mutációkat indukálnak — feltehetően a DNS bázisaihoz, különösen a pirimidinekhez való kötődésük révén.

Mindezek ellenére alig tudunk valamit a baktériumsejtekben keletkező léziók természetéről, vagy a psoralenek fotoszenzitiváló mutagén hatásának mechanizmusáról. Mindössze annyit, hogy megnövelik a *Sarcina lutea* penicillin-rezisztens sejtjeinek keletkezési gyakoriságát. Ezért érdemesnek látszott a FUV mutagenézisének döntő szerepet játszó jólismert baktériumtörzsekkel megvizsgálni a 8-MOP NUV fotoszenzibilizáló hatását. Ezt abban a reményben tettük, hogy az így nyert eredmények elősegíthetik az emlős sejtekkel folytatandó kísérleteket a mutagén és carcinogén hatás esetleges összefüggéseinek felderítésében. Elsődleges célunk a 8-MOP fotoszenzitiváló mutagén hatásának felderítése volt speciális sugárérzékeny és rezisztens baktériumtörzsekkel és ennek összehasonlítása a 260 nm-es FUV sugarak mechanizmusával abból a célból, hogy megállapítsuk a fotoszenzitiváló hatás helyét. Másodszor azt reméltük, hogy megtudunk valamit a léziók természetéről is.

Anyag és módszer

A 95%-os etanolban oldott 8-metoxipsoralent (Upjohn Co.) a kísérletekben használt 50 illetve 100 $\mu\text{g/ml}$ koncentrációig 0,15 mólos NaCl oldattal hígítottuk.

A sugárforrás 125 Wattos Philips „fekete fényű” fluoreszcens higanygőz lámpa volt. A 300—400 nm tartományban kibocsátott NUV fény maximális hullámhossza 365 nm volt.

A logaritmusos növekedési fázisban levő baktériumkultúrákat $2 \times 10^8/\text{ml}$ sűrűségnél lehűtöttük, kétszeri mosás után 0,15 M NaCl oldatban reszuszpendáltuk, majd szobahőmérsékleten — kb. 25 C° — 8-MOP hozzáadása után besugároztuk. A lámpa teljesítménye 20 cm távolságból kb. $10^4 \text{ erg/mm}^2/\text{sec}$ volt, nem számítva az infravörös fényt.

A túlélők és mutánsok arányát 5% élesztős bouillont (Oxoid Nutrient Broth) tartalmazó minimum agar lemezekben határoztuk meg 48 óras 37 C°-on történő inkubálás után. Egyes esetekben 0,75 $\mu\text{g/ml}$ 1-triptofánt tartalmazó minimum agar lemezeket is használtunk. Sem a 8-MOP — telített koncentrációig — sem a NUV besugárzás — 30 perces expozícióig — nem befolyásolta szignifikánsan a baktériumok túlélését. A használt 50 illetve 100 $\mu\text{g/ml}$ -es koncentrációk fotoszenzitiváló hatása között semmi különbség nem volt.

Az összes kísérleteket halvány sárga fényben végeztük el és a lemezeket sötét termosztátban inkubáltuk.

Mutációs rendszerek

A 8-MOP fotoszenzitiváló hatását olyan jólismert *Escherichia coli* baktériumtörzsek segítségével próbáltuk meg kideríteni, amik a DNS-ben FUV hatására keletkező léziókat képesek reaktiválni, reparálni vagy más módon eliminálni.

A mutációk és ennek megfelelően az összes öröklődő megváltozások helye a baktérium kromoszóma. Ezért joggal feltételezzük, hogy a mutagén agensek a DNS-re hatnak. Egyik legegyszerűbb módszer ennek kiderítésére az aminosav dependenciá (auxotopia) mutációja aminosav independenciává

(prototopia), ami lehetővé teszi, hogy mind a túlélő, mind a mutációs frekvenciát ugyanazon a tápközegen határozzuk meg. Az aminosav szintézissel kapcsolatos mutációk valószínű eredete a baktérium DNS-ben 4 bázis sorrendjével lefektetett genetikai kód átalakulása, pl. A-T ↔ G-C, A-T ↔ T-A.

Az *E. coli* auxotroph sejtjeiből keletkező prototrophok nem mind valódi mutánsok. Egyrésztük lassan nő, és bizonyos mértékben instabil [17]. Ezek nem az eredeti bázissorrend visszaállítása révén nyerték vissza elvesztett képességüket, hanem valamilyen más locus átalakulásával, ami aztán elnyomja az eredeti locus megmaradt deficienciáját. Egy ilyen suppressor mutáció több, egymással nem rokon aminosav igényt is megszüntethet [30].

Az általunk használt törzsek auxotrophiája mind „értelmetlen” (non-sense) mutáció következménye. A DNS mutációja következtében az ún. „amber” típusú sejtek messenger RNS-e az UAG kodont, az „ochre” típusúak mRNS-e pedig az UAA kodont tartalmazza. Ezek a kombinációk nem kódolnak semilyen aminosavat sem, és így jelenlétük e ponton leállítja a következő aminosav beépítését a polipeptid láncba. Ha e mutáció valamelyik enzimehéjre szintézisét irányító locusban következik be, a sejt rendszerint nem tud tovább osztódni. Prototroph mutánsok keletkezhetnek az DNS eredeti locusában bekövetkező „értelmetlen” → „értelmes” kódátalakulással. Ezeket valódi revertánsoknak nevezzük. Másrésztől aminosav independencia kialakulhat a DNS más részén bekövetkező változással is, ami a genetikai translatios apparátuson keresztül hat. A suppressor mutáció következtében megváltozik a szóbanforgó aminosavat aktiváló transfer ribonukleinsav úgy, hogy az „értelmetlen” kódot „értelmesnek” olvassa. Az eredeti lánczáró mutáció ilyenkor megvan ugyan, de hatástalanná válik és a felépülő fehérjébe e helyen egy másik aminosav kerül vagy egy hiányozni fog. Az enzimehéjre ettől a kis hibától általában nem válik inaktívvá, legfeljebb aktivitása csökken — a baktériumtelep lassabban nő.

A suppressor mutációkat az auxotrophoktól és a valódi mutánsoktól olyan T_4 bakteriofágok segítségével különböztetjük meg, amelyek csak a suppressor mutáns locust hordozó baktériumokban szaporodnak el. Pl. a B22 jelzésű fág a DNS polimerázt kódoló locuson tartalmaz egy amber codont. Ilyen speciális rendszerek segítségével Bridges és Munson [3] kimutatták, hogy az *E. coli* WP2 triptofán igényes auxotrophok valódi reverziója triptofánt nem igénylőkké A-T → G-C bázispár szubsztitúció eredménye az ochre kodont kontrolláló tripletben. A suppressor mutáció — ezzel szemben — egy G-C → A-T átalakulással mehet végbe a tRNS glutamint aktiváló antikonjonjában.

Kísérleti eredmények

Az első mutációs típus törzsei a besugárzott bakteriofágok reaktiválásában különböznek — HCR (host cell reactivation) rendszer. E reparációs mechanizmus működéséhez fényt nem igényel (dark repair).

A Hcr⁺ baktériumok — valószínűleg a DNS helix eltorzulása következtében — képesek felismerni az UV-indukálta pirimidin dimereket, majd kivágással eltávolítva őket a hiányzó részt a templát fonal alapján szintetizálják és a szabad végeket összekötik. Úgy néz ki, hogy mindezt egy nukleáz-polimeráz-ligáz enzimkomplexum végzi el, aminek két tagját már izolálták *Micrococcus luteus* baktériumokból. Az első bevágja a károsított fonalat,

míg a másik kivágja a dimert kb. 5 nukleotiddal együtt. Ezeket a részeket kémiaiilag pontosan ki lehet mutatni kvantitatíve. A HCR⁺ phenotypusú törzsek a potenciálisan mutagén és letális UV lézióknak mintegy 90%-át eltávolítják exciziós reparációval. Annyi dimert hagynak meg a DNS-ben, amit tízszer kisebb UV dózis hozott volna létre. Ezért UV rezisztensek és indukált mutációs frekvenciájuk kicsi. Az ilyen típusú reparációnak az első DNS replikáció előtt kell végbemennie.

A HCR⁻ phenotypusú törzsek zöme képtelen eltávolítani a pirimidin dimereket s ennek következtében 10–20-szor érzékenyebbek a HCR⁺ baktériumoknál. Ugyanígy kb. ennyivel nagyobb az indukált mutációs frekvenciájuk is [17].

A besugárzás utáni túlélés függ először a DNS-ben az exciziós reparáció után megmaradó UV léziók számától; másodsor a baktériumok azon képességétől, hogy miképpen tudnak megbirkózni a károsodással, azaz hogy a pirimidin dimerek jelenléte ellenére miképpen képesek elszaporodni. A HCR phenotypus úgylátszik nem függ az utóbbi képességtől, hanem csak az exciziós reparáció által eltávolított UV léziók mennyiségét szabja meg. Emiatt a HCR⁻ sejtek letalitása és mutációs frekvenciája ugyanakkora, mint a HCR⁺ baktériumoké ugyanazon reziduális károsodást indukáló UV dózis esetén.

A 8-MOP fotoszenzitivizációs kísérleteinkben a letális és mutagén hatás ugyanilyenek mutatkozott. A HCR⁺ törzs rezisztensebb mind letalítás, mind mutabilitás tekintetében. A mutációs frekvencia megközelítőleg a dózis négyzetével arányosan nő. Viszont eltérések vannak a túlélési görbe alakját, a „broth effect”-et és a valódi: suppressor mutánsok arányát illetően. Mindkét törzs túlélési görbéje határozott vállat mutat, a HCR⁺ esetében 1×10^5 erg/mm², a HCR⁻-nál 2×10^4 erg/mm² dózisoknál.

A „broth effect” a baktériumok sugárbiológiájának egyik legtöbbet kutatott, de legrejtélyesebb jelensége. Lényege, hogy ha a besugárzott populációt 5% bouillon tartalmazó minimum mediumon tenyésztjük, sokkal több mutáns telep nő ki, mint az igényelt aminosav minimális koncentrációjának jelenlétében.

A legújabb eredmények arra utalnak, hogy a protein szintézis stimulálása bakteriológiai húslevessel, gátolja a FUV-indukálta dimerek eltávolítását a suppressor locusból. A „broth effect” hiánya a 8-MOP.NUV esetében azt sugallja, hogy fotoproduktum vagy nem távolítható el, vagy a bouillon jelenlétében is eltávolítható a DNS fonalból. Kísérleteink tanulsága szerint úgylátszik, hogy a második alternatíva helyes.

A suppressor locusban keletkezett lézió eltávolítása bouillon jelenlétében egyrészt függhet a fotoproduktum természetétől, másrészt a 8-MOP és NUV fiziológiai hatásától. Az utóbbi lehetőség megvizsgálására néhány kísérletet állítottunk be. Azt óhajtottuk tisztázni, vajon a 8-MOP vagy a NUV képes-e modifikálni a FUV fény hatására keletkező károsodások eliminálását bouillon jelenlétében.

E. coli WP2 triptofán dependens auxotoph sejteket 15 perces 8-MOP illetve NUV expozíció után 165 erg/cm² FUV dózissal sugároztuk be. A túlélés mindkét esetben azonos volt. A FUV besugárzás után a bouillon tartalmú lemezeken tapasztalt mutációs frekvenciát NUV előkezelés kismértékben, 8-MOP előkezelés nagymértékben lecsökkentette.

A NUV előkezelés (fotoprotekció), bouillon tartalmú tápközegen jól ismert, s valószínűleg a protein szintézisen keresztül fejt ki védőhatását.

Később kiderült, hogy a fehérje és valószínűleg az RNS szintézis gátlása csökkenti a „broth effect”-et. Nem tudunk viszont a 8-MOP ilyenirányú hatásáról.

Egy előzetes kísérletben a 8-MOP nem gátolta sem a ^{14}C -leucin, sem a ^{14}C -uracil beépülését az *E. coli* W P_2 törzsbe a mutációs kísérletek feltételei között. Ezért arra a következtetésre jutottunk, hogy a vegyület a suppressor mutációk új típusú antimutagénje lehet. Amíg ennek mechanizmusára fény nem derül, csak annyit mondhatunk, hogy a FUV valamint a 8-MOP.NUV által indukált suppressor mutációs frekvenciák eltérése a 8-MOP és NUV-nak a sejtek fiziológiai funkciójára gyakorolt hatásának a következménye lehet.

Az EXR^+ phenotypus a FUV által indukált túlélést és mutációs frekvenciát befolyásolja. De kapcsolatban van azzal a mechanizmussal is, aminek révén a DNS-ben rtg. sugárzás hatására vagy timin éheztetéssel indukált léziók életképes mutációkká manifesztálódnak. Szerepe van még a DNS degradációjánál is [30].

Az EXR^+ phenotypusú sejtek bizonyos mértékben FUV rezisztensek és mutációs frekvenciájuk elég nagy. Besugárzás utáni replikációs reparációjuk hatásos, de pontatlan, DNS lebomlásuk sebessége normális.

Az EXR^- phenotypusú baktériumok az *exr* locus mutációja következtében 2–3-szor FUV érzékenyebbek, mint az EXR^+ sejtek. Viszont akármi-lyen is HCR phenotypusuk, sem FUV besugárzással, sem timin éheztetéssel nem lehet mutációkat indukálni bennük, — rtg. sugárzással is csak nagyon keveset. Ugyanakkor a két törzs spontán mutációs frekvenciája és nitroso-guanidin valamint 2-aminopurin mutagénekkel szembeni válasza ugyanolyan.

Gamma sugarakkal kezelt EXR^+ populációban kb. hússzor akkora a mutációs frekvencia, mint az EXR^- sejtek között. Timin éheztetésnél a nagyszámú Exr^+ mutáns mellett EXR^- revertánsokat nem sikerült kimutatni.

A 8-MOP fotoszenzitivizáció hasonló képet mutatott. Az EXR^+ törzs a rezisztensebb kifejezett „vállas” görbével, túlélési és mutációs frekvenciája a dózissal arányosan nő. Az EXR^- érzékenyebb, kisebb vállal, viszont mutációs frekvenciáját a 8-MOP fotoszenzitivizáció sem emeli a normális spontán szint fölé.

Következő vizsgálatunkat REC típusú mutánsokkal végeztük el. A *rec* locus — ahogyan neve is mutatja — a genetikai rekombináció folyamatának irányításában vesz részt, de befolyásolja a FUV-al indukált mutációs frekvenciát és a besugárzás utáni DNS lebomlás mértékét is.

A REC^+ phenotypusú sejtek rekombinációs, FUV-al indukált mutációs gyakorisága és DNS lebomlása, valamint FUV és rtg. rezisztenciája normális.

A sokkal érzékenyebb REC^- mutánsokat két csoportba lehet osztani.

A REC^- „óvatos” törzsek rekombinációs, FUV-indukálta mutációs frekvenciája és DNS degradációja kisebb, mint a REC^+ populációké.

A REC^- „vakmerő” törzseknél sem rekombinációt, sem FUV-val indukált mutációt nem lehet kimutatni. Rendkívül érzékenyek FUV, rtg. sugárzással és metil-metánszulfonát mutagénnel szemben. Nincs besugárzás utáni DNS replikációs reparációjuk, viszont DNS-ük a besugárzás után nagyon gyorsan kezd lebomlani. Valószínűleg emiatt nincs sem rekombináció sem indukált mutáció: minden megmaradó lézió — dimer, fonálszakadás — úgy látszik letális [19].

A REC^- mutánsok tulajdonságai nagyon hasonlítanak az EXR^- sejtekéhez, csak azoknál extrémebben nyilvánulnak meg. Mindkét phenotypusú sejt

rendelkezik a már említett besugárzás utáni postreplikációs reparációs enzimrendszerrel, ami valamilyen módon lehetővé teszi az újonnan szintetizált DNS fonálban a dimerekkel szemben kialakult bázis-hiány (gap) pótlását. Amennyiben e pótlás hibás, mutáns egyedek jelenhetnek meg. A *rec* és *exr* produktuma feltétlenül szükséges a FUV, 8-MOP, NUV, rgt, gamma sugárzás és timin éheztetés révén indukált mutációk manifesztálódásához.

Az NG 30 REC⁻ „vakmerő” törzs nagyon érzékenynek bizonyult a 8-MOP fotoszenzitiváló hatásával szemben és nem sikerült indukált mutánsokat kimutatnunk. Ezzel szemben egy REC⁺ HCR⁻ phenotypusú törzs hasonló letalitás mellett normálisan mutált.

Itt említjük meg, hogy az *E. coli* sugárérzékenységét kontroláló locusot megtalálhatjuk a kromoszóma térképén. Nem kapcsolódnak egy speciális bélyeghez sem, hanem 4 csoportban különféle situs szomszédságában helyezkednek el. (A baktériumgenetikában újabban a locus helyett a situs kifejezést használják a rekombinációs pontok jelölésére). Egyik a *gal* (galaktóz fermentáció), a másik a *met A* és *mal B* (metionin szintézis és maltóz fermentáció), a harmadik az *aro D* (shikiminsav szintézis), a negyedik a *thy A* (timin szintézis) situs közelében található.

Végül a PHR rendszert vizsgáltuk meg. Ez a phenotypus az FUV-indukált léziók fotoreaktivációs képességét irányítja [3].

A PHR törzsek képesek a FUV révén keletkezett károsodások eliminálására. A látható fény energiája egy specifikus enzimrendszert aktivál, ami a pirimidin dimereket széthasítja.

A kísérletek izgalmasan indultak, mert a 8-MOP fotoszenzitiváló hullámhossza egybeesik a leghatásosabb fotoreaktiváló kvantumok energiájával. A PHR⁻ sejtek mind letalitás, mind mutáció indukció terén a PHR⁺ típusú baktériumokkal megegyezően viselkedtek. Fotoreaktivációt nem tapasztaltunk, hiszen ebben az esetben a PHR⁻ populációknak érzékenyebbeknek kellett volna lenniök.

E megfigyeléseket a fotoreaktivációs kísérletek eredményei megerősítették. Itt a fotoszenzitivált baktériumokat fotolámpával világítottuk meg, aminek fényéből a 380 nm-nél rövidebb hullámhosszokat kiszűrtük. A túlélők és mutánsok száma nem változott meg, 20 perces megvilágítás után sem.

A fotoreaktiváló fény tehát hatástalan a 8-MOP jelenlétében, nem reaktiválja a fotoszenzitiváció révén indukált léziókat, de nem hat a vegyülettel szinergetikusan sem. Ennek alapján kimondhatjuk, hogy a 8-MOP fotoszenzitivációja nem jár pirimidinek dimerizációjával.

Összefoglalás

Kísérleteinkben demonstráltuk a 8-metoxipsoralen fotoszenzitiváló hatását az *E. coli* különböző törzseiben. Mind a letális, mind a mutagén hatás a dózissal együtt nő. A túlélési görbék kifejezett vállalat mutatnak — a REC⁻ „vakmerő” törzs kivételével — ami a 8-MOP és „fekete” fluoreszcens fény kumulatív hatására utal.

Az *E. coli* WP2 törzsben a valódi reverziók és suppressor mutációk közel egyforma számban keletkeztek. Mindkét mutációs típus valószínűleg bázispár transitio következménye (A-T ↔ G-C). Sem a 8-MOP, sem a 365 nm hullámhosszú NUV fény egymagában nem letális és nem mutagén. A 8-MOP

fotoszenzitizáló hatására képződött premutációs és potenciálisan letális produktumok nagyrésze eltávolítható a DNS-ből — amit az exciziós reparációs enzimrendszerekkel rendelkező és ezt nélkülöző mutánsok érzékenységének összehasonlítása alapján lehet kimondani. A léziók nem fotoreaktiválhatók. A REC⁻ „vakmerő” törzs érzékenyen mutatkozott és nem mutált, hasonlóan az EXR⁻ mutagén hatásokról ellenálló sejtekhez. A 8-MOP.NUV fotoszenzitizáló effektus hasonlít a 260 nm-es FUV hatásmechanizmusához. Különbőség a suppressor mutánsoknak kisebb keletkezési aránya, valamint a nagyon kicsi „broth effect”, ami nagymértékben a 8-MOP fiziológiai hatásának a következménye. Lehetséges, hogy a 8-MOP.NUV kombináció új típusú anti-mutagén agens, ami megakadályozza hogy suppressor mutációk keletkezzenek a potenciálisan eltávolítható fotoproduktumokból.

Leszögezhető tehát, hogy a 8-MOP.NUV letális és mutagén hatása a fotoszenzitizálás folyamán keletkező 8-MOP-pirimidin kodimereknek a következménye. A sejtekben így előidézett károsodás exciziós és replikációs reparációval eliminálható a DNS-ből.

IRODALOM

1. ALTENBURG, E.: Studies on the enhancement of the mutation rate by carcinogens. Texas Reports on Biol. Med., 14, 481 (1956).
2. BASKIN, J. M., C. J. LUDLOW, T. M. HARRIS, F. T. WOLF: Psoralen an inhibitor in the seeds of *Psoralea subcaulis*. Phytochemistry, 6, 1209—1213 (1967).
3. BRIDGES, B. A., R. J. MUNSON: Mutagenesis in *Escherichia coli*: evidence for the mechanism of base change mutation by UV in a strain deficient in excision repair. Proc. Roy. Soc. B., 171, 213—226 (1968).
4. CHAKRABORTY, D. P., A. DAS GUPTA, P. K. BOSE: On the antifungal action of some natural coumarins. Ann. Biochem. Exptl. Med., 17, 59—62 (1957).
5. CLARK, J. H.: Photosensitization by 8-methoxypsoralen. J. Invest. Dermatol., 37, 171—174 (1961).
6. COLOMBO, G.: Photosensitization on sea urchin sperm to longwave ultraviolet light by psoralen. Exptl. Cell. Res., 48, 167—169 (1967).
7. DRAKE, J. W., J. MCGUIRE: Properties of r mutants of bacteriophage T₄ photodynamically induced in the presence of thiopyronin and psoralen. Virology, 1, 160—167 (1967).
8. EL-HEFNAWI, H., M. F. S. EL-HAWARY, A. RASHEED: Electrophoretic studies of serum proteins in vitiliginous patients treated with oral psoralens and ultra-violet irradiation. J. Invest. Dermatol., 40, 111—119 (1963).
9. EL-MOFTY, A. M., M. A. MOTAWI, S. H. TOPOUDZADA: A preliminary report on the radio-protecting and radiosensitizing effect of 8-methoxypsoralen on albino rats. J. Invest. Dermatol., 43, 149—150 (1964).
10. FAHMY, I. R., H. ABU-SHADY, A. SCHÖNBERG, A. SINA: A crystalline principle from *Amni majus* Linné. Nature, 160, 468 (1947).
11. FARAH, F. S., A. K. KURBAN, H. T. CHAGLASSIN: Treatment of vitiligo with psoralens and triamcinolone by mouth. Brit. J. Dermatol., 79, 89—91 (1967).
12. FARID, S., C. H. KRAUCH: Photochemical and -biological reactions of the furocoumarins. Radiation Research 1966 (Amsterdam, North Holland), 869—886 (1967).
13. FOWLKS, W. L.: The chemistry of psoralens. J. Invest. Dermatol., 32, 249—254 (1959).
14. FOWLKS, W. L., D. G. GRIFFITH, E. L. OGINSKY: Photosensitization of bacteria by furocoumarins and related compounds. Nature, 181, 571—572 (1958).
15. HAKIM, R. E., R. G. FREEMAN, A. C. GRIFFIN, J. M. KNOX: Experimental toxicologic studies on 8-methoxypsoralen in animals exposed to the long ultraviolet. J. Pharmacol. Exptl. Therapy, 131, 394—399 (1960).
16. HARBER, R. C., R. L. BAER: Effect of humidity on the photosensitive response to 8-methoxypsoralen. J. Invest. Dermatol., 44, 61—65 (1965).
17. HILL, R. F.: Ultraviolet-induced lethality and reversion to prototrophy in *Escherichia coli* strains with normal and reduced dark repair ability. Photochem. Photobiol., 4, 563—568 (1965).

18. HOPKINS, C. E., J. C. BELSARIO, E. J. MACDONALD, C. T. DAVIS: Psoralen prophylaxis against skin cancer: report on clinical trial II. *J. Invest. Dermatol.*, 41, 219—223 (1963).
19. HOWARD-FLANDERS, P.: DNA repair. *Ann. Rev. Biochem.*, 37, 175—200 (1968).
20. KUSKE, H.: Experimentelle Untersuchungen zur Photosensibilisierung der Haut durch pflanzliche Wirkstoffe: Lichtsensibilisierung durch Furocoumarine als Ursache verschiedener phytogener Dermatosen. *Arch. Derm. u. Syph.*, 178, 112 (1938).
21. LI, C. P., W. G. JAHNES, E. C. MARTINO, J. H. LODGE: Antiviral activity of 8-methoxypsoralen. *Fed. Proc.*, 21, 457 (1962).
22. MACDONALD, E. J., A. C. GRIFFIN, C. E. HOPKINS, L. SMITH, H. GARRETT: Psoralen prophylaxis against skin cancer: report of clinical trial I. *J. Invest. Dermatol.*, 41, 213—217 (1963).
23. MATTHEWS, M. M.: Comparative study of lethal photosensitization of *Sarcina lutea* by 8-methoxypsoralen and by toluidine blue. *J. Bacteriol.*, 85, 322—328 (1963).
24. MUSAJO, L.: Photochemical interaction between skin-photosensitizing furocoumarins and DNA. *Radiation Research 1966* (Amsterdam, North Holland), 803—812 (1967).
25. MUSAJO, L., F. BORDIN, L. BUSULINI, F. BACCICHETTI, R. BEVILAC: Co-60 gamma effect on mouse Ehrlich ascites tumour cells in the presence of some coumarin derivatives. 2nd Int. Symp. Radiosens.-protect. Drugs (Roma), Abstr. 69 (1969).
26. OGINSKY, E. L., B. S. GREEN, D. G. GRIFFITH, W. L. FOWLKS: Lethal photosensitization of bacteria with 8-methoxypsoralen to long wave length ultraviolet radiation. *J. Bacteriol.*, 78, 821—833 (1959).
27. ПАТНАК, М. А.: Mechanism of psoralen photosensitization and in vivo biological action spectrum of 8-methoxypsoralen. *J. Invest. Dermatol.*, 37, 397—406 (1961).
28. ПАТНАК, М. А., F. DANIELS, T. B. FITZPATRICK: The presently known distribution of furocoumarins (psoralens) in plants. *J. Invest. Dermatol.*, 39, 225—239 (1962).
29. ПАТНАК, М. А., K. D. KAUFMAN, L. R. WORDEN: Effect of structural alterations on the photosensitizing potency of furocoumarins (psoralens) and related compounds. *J. Invest. Dermatol.*, 58, 103—118 (1967).
30. WITKIN, E. M.: Radiation-induced mutations and their repair. *Science*, 152, 1345—1353 (1966).
31. YEARGERS, E., L. AUGENSTEIN: Absorption and emission spectra of psoralen and 8-methoxypsoralen in powders and in solutions. *J. Invest. Dermatol.*, 44, 181—187 (1965).

ДЕТАЛЬНОЕ И МУТАГЕННОЕ ДЕЙСТВИЕ 8-МЕТОКСИПСОРАЛЕНА И ФОТОЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ УЛЬТРАФИОЛЕТОВЫХ ЛУЧЕЙ

Ш. Игали

В наших исследованиях мы продемонстрировали фоточувствительное действие 8-метоксипсоралена (8-МОП) на различные штаммы *E. coli*. С увеличением дозы возрастает как летальное, так и мутагенное действие. Кривые выживания показывают ярко выраженный плато — за исключением штамма *Rec⁻* „Reckless”, что указывает на кумулятивное действие, 8-МОП-а и невидимого флуоресцентного луча.

В штамме *E. coli* W P2 возникли настоящие реверсии и супрессивные мутации, почти в одинаковом количестве. Оба типа мутаций по всей вероятности, являются следствием в результате переноса пары оснований (A—T ↔ a—c). Ни 8-МОП, ни луч «NUV-a» с длиной волны 365 мк сами по себе ни летальны, ни мутагенны. Большинство премутационных и потенциально летальных продуктов, образованных фоточувствительным действием 8-МОП может быть удалено из ДНК.

Это сказывается на основе сравнения чувствительности мутантов имеющих и не имеющих в своем составе систему энзимов. Повреждения не фотовосстанавливаемы. Штамм *Rec⁻* «Reckless» оказался более чувствительным и не подвергся мутации, подобно клеткам *Exr⁻*, которые сопротивляются мутагенным действиям. Фоточувствительный эффект 8-МОП «NUV», похож на механизм действия 260 мк-ного «NUV». Разница только в том, что отношение возникающих супрессивных мутаций меньше, кроме того очень маленький и «broth effect», что в высокой степени зависит от физиологического действия 8-МОП.

Возможно, что комбинация 8-МОП-«NUV» является антимутагенным агентом

нового типа, который препятствует возникновению супрессивных мутаций из потенциально удаляемых фотопродуктов.

Можно констатировать, что летальное и мутагенное действие 8-МОП «NUV» оказалось следствием образования кодимеров 8-МОП-пиримидин, возникающих при фоточувствительности. Вызванные таким образом повреждения в клетках удаляются из ДНК путем эксцизионного и репликационного восстановления.

LETHAL AND MUTAGENIC EFFECT OF 8-METHOXYPSORALEN AND PHOTOSENSITIZING ULTRAVIOLET LIGHT

by

S. Igali

We demonstrated in our experiments the photosensitizing effect of 8-methoxypsoralen in the different strains of *E. coli*. The lethal as well as the mutagenic effect are increasing with the dose. The survival curves show an expressed shoulder — except the “reckless” *Rec⁻* strain — which refers to a cumulative effect of the 8-MOP and of the “black” fluorescent light.

In the strain *E. coli* WP 2 the true reversions and suppressor mutations were formed almost in the same quantity. Both mutation types probably are consequences of transition of basic pairs. (A—T ↔ G—C). Neither 8-MOP, nor the NUV light of 365 nm wavelength are lethal or mutagenic by themselves. Most of premutative and potentially lethal products formed by the photosensitizing effect of 8-MOP, can be removed from DNA. This can be stated by comparing the mutants having excision repair enzyme system, and those, which miss the latter. Lesions cannot be photoreactivated. The “reckless” seemed to be sensitive and did not show any mutations as well, as the *Exr⁻* cells, resisted to mutagen effects. The 8-MOP NUV photosensitizing effect resembles the effect mechanism of 260 nm NUV. The difference consists of the smaller ratio of the suppressor mutants formed, and the small “broth effect”, which is mainly a consequence of the physiological effect of 8-MOP. It is possible, that the 8-MOP NUV combination is an antimutagen agent of new type, which prevents the formation of suppressor mutations from the potentially removable photoproducts.

We can put on record: the lethal and mutagenic effect of the 8-MOP NUV is a result of the 8-MOP-pyrimidin codimers forming in the course of photosensitization. The destruction in the cells can be eliminated from the DNA by excision and repair replication.

A NUCLEUS PREEPTICUS HISTOLOGIAI ÉS HISTOKÉMIAI VIZSGÁLATA PONTYBAN (CYPRINUS CARPIO)

WENGER TIBOR, KERTÉSZ GYÖRGYI és AUER LÁSZLÓ

(Semmelweis Orvostudományi Egyetem Szövet- és Fejlődéstan Intézete.
Igazgató: Dr. Törő Imre egyetemi tanár, Budapest)

Beérkezett: 1969 augusztus 12-én

Bevezetés

Halak neurosecretios tevékenységéről számos vizsgálat ismeretes. Először SCHARRER [25, 26] csontos halakban talált secretiós sejteket. Éppen ezen első megfigyelések miatt számos szerző foglalkozott a halak diencephalonjának neurosecretios tevékenységével.

Csontos halakban a diencephalon két jelentős területén találunk neurosecretios tevékenységet. A nucleus preopticusban és a nucleus tuberis lateralisban. Megfigyelhető ezenkívül secretiós aktivitás az ún. caudális neurosecretiós sejtekben is.

A caudális neurosecretum Gömöri-féle festéssel negatívan festődik [13, 10]. Elektronmikroszkópos vizsgálatok alapján [11, 2] azonban bizonyossá vált, hogy a Dahlgren által leírt sejtekben [9] neurosecretum van.

A diencephalon nucleus tuberis lateralisával (továbbiakban NTL) foglalkozva ugyancsak azt találták, hogy Gömöri negatív secretumot tartalmaz [7, 8, 12]. A vizsgálatok szerint az itt található secretum elsősorban a reproductív periodicitással függ össze, a gonádok működésére van hatással.

A nucleus preopticum (továbbiakban NPO) illetőleg csontos halakban számos vizsgálattal találkozunk: *Anguilla anguilla*: STUTINSKY [32]; *Morone*: STAHL [31]; *Salmo irideus*: LEGAIT [21]; *Carassius auratus*: PALAY [23]; *Gadus calaris*: BARGMANN és KNOPP [6]; *Gadus morrhua*: LEDERIS [20]; *Perca fluviatilis*, *Lebistes reticularis*, *Phoxinus laevis*: FOLLENIUS [12]; *Xyphophorus maculatus*: JASINSKY [17]; *Misgurnus fossilis*: JASINSKY [18].

Cyprinus carpio NPO-jával foglalkozó közleményekkel az irodalomban alig találkozunk. SCHARRER a diencephalikus vegetatív magvakat vizsgálva ezt a fajt is nézte [27], de a továbbiakban a fajjal nem foglalkozott. Az általunk ismert irodalomban egyedül KRSULOWIC [19] írt a faj neurosecretiós tevékenységéről, de a NPO-t nem részletezi. Magunk a NTL és a NPO histokémiai viselkedését hasonlítottuk össze [35], részletesen azonban csak a NTL-ra térünk ki.

Jelen munkánkban ponty, *Cyprinus carpio* nucleus preopticusának vizsgálatával foglalkozunk elsősorban histológiai és alapvető histokémiai módszerekkel, anélkül, hogy a NPO enzyimhistokémiájával részletesen foglalkoznánk.

Anyag és módszer

Vizsgálatainkat felnőtt, ivarilag érett, mindkét nemű, hazai édesvizeinkben megtalálható pontyokon végeztük el. Az állatokat a Halértékesítő Vállalattól és a Fővárosi Állat- és Növénykertből szereztük be. Az állatokat decapitáltuk, majd az agyakat Ca-formol, dextroses-formol, Bouin, Carnoy és Helly keverékekben rögzítettük. Részben kryostat metszeteket, részben paraffinos sorozat metszeteket készítettünk. Metszeteinket a következő festési eljárásokkal festettük meg:

Gömöri-féle chromhaematoxylin-phloxin [15],

Paraldehyd-fuchsin festés GABE szerint [14],

ribonuclease emésztés előtt és után,

BILLENSTEIN-féle savanyú fuchsinnal kombinált chromhaematoxylin [8].

Histokémiai vizsgálataink a következők voltak:

Szénhidrátok kimutatására:

PAS reakció diastaze és nyál emésztés után, valamint emésztés nélkül,

Hale reakció,

Toluidin kék festés,

Alcián- kék festés,

Lipidek kimutatására:

Sudan fekete festés,

Phosphin 3-R festés,

Luxol fast-blue MBS.

Fehérjék és aminosavak kimutatására:

Perhangyasav alcián-kék reakció ADAMS és SLOPER szerint [1] alacsony pH-nál,

DDD-reakció SH- és SS-csoportok kimutatására,

Tetrazonium reakció,

Ninhydrin-Schiff reakció.

Nuclein savak kimutatására:

Calocyanin-chromtimsó ribonuclease emésztés után és emésztés nélkül,

Feulgen reakció.

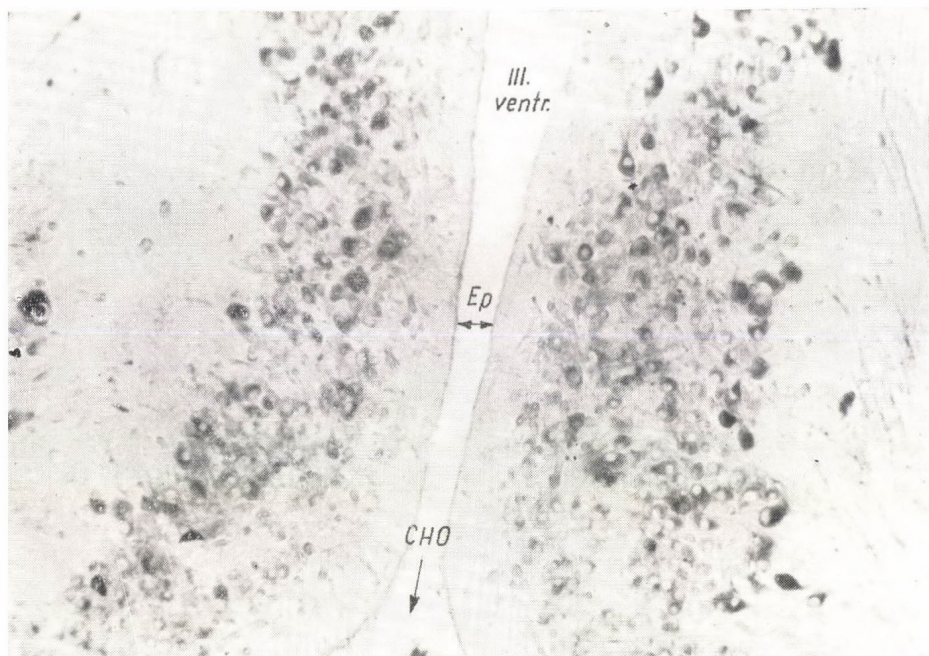
Egyéb vizsgálatok:

Monoaminok kimutatása FALCK és HILLARP szerint [11/a],

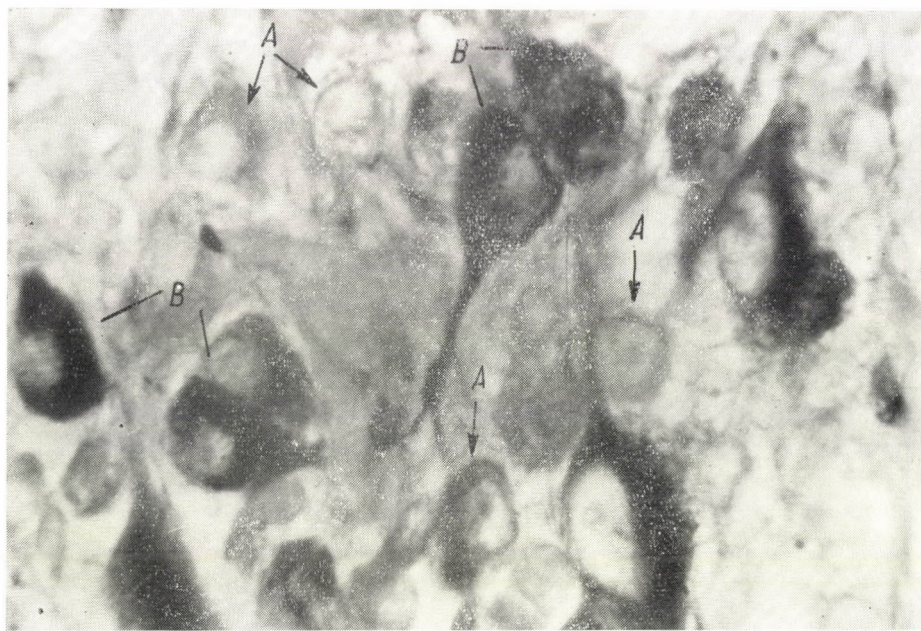
SCHMORL-féle lipofuchsin kimutatás.

Eredmények

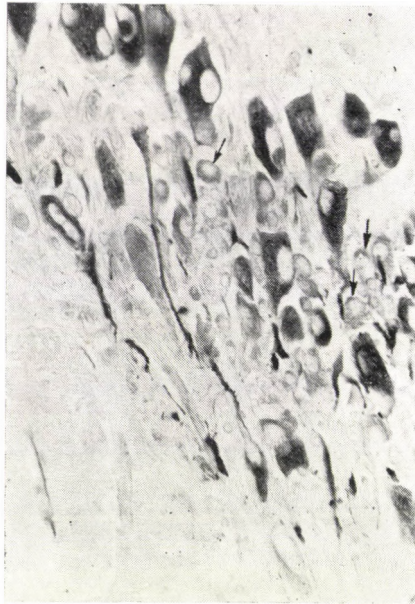
A nucleus preopticus az általunk vizsgált minden egyes állatnál jól elkülöníthető volt. A hím- és nőnemű egyedek között morfológiai különbséget alig találtunk, az sem volt jelentős. A NPO ebben a fajban is a harmadik agykamra két oldalán szimmetrikusan helyezkedik el a chiasma opticum magasságában (1. ábra). A NPO sejtjei két fő csoportra oszthatók: pars parvocellularisra és pars magnocellularisra. A pars parvocellularis sejtjei inkább basalisán és medialisan helyezkednek el, míg a pars magnocellularist dorsalisabban találhatjuk. A pars magnocellularis sejtjei igen nagyok, néha a 60–70 mikront is elérik. A sejtek cytoplasmájában igen nagy mennyiségben meggyűlt secretum található. A secretummal teli sejtek mellett, viszonylag nyugalomban levő sejteket is találhatunk. Ezen sejtekben kevés secretum van (2. ábra).



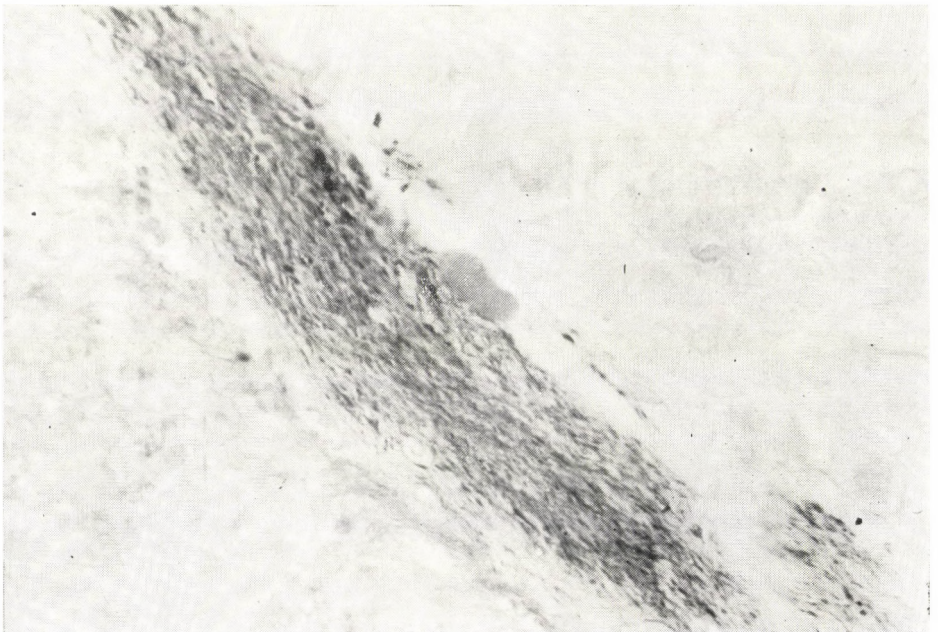
1. ábra. A NPO elhelyezkedése a hypothalamus frontalis metszetében. III. ventr.: III. agykamra; Ep: ependyma; CHO: chiasma opticum, a nyíl a chiasmára irányul. Paraldehydfuchsin festés, 32 × nagyítás



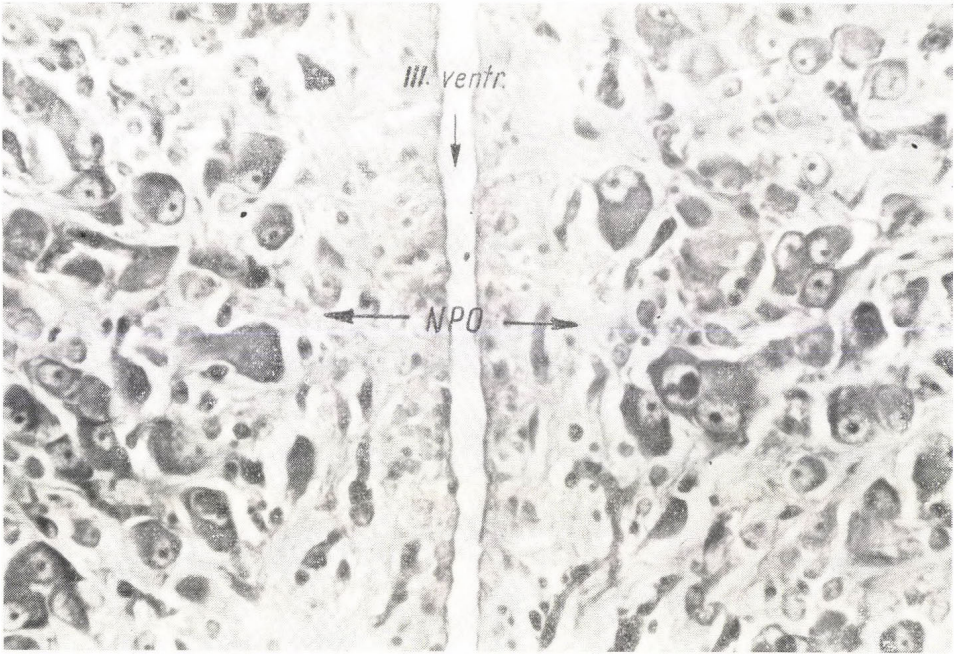
2. ábra. A pars magnocellularis részlete. Az A-val jelzett nyilaknál secretumban szegény sejtek, míg a B-vel jelletteknél secretum dús sejtek látszanak. Paraldehydfuchsin festés, 125 × nagyítás



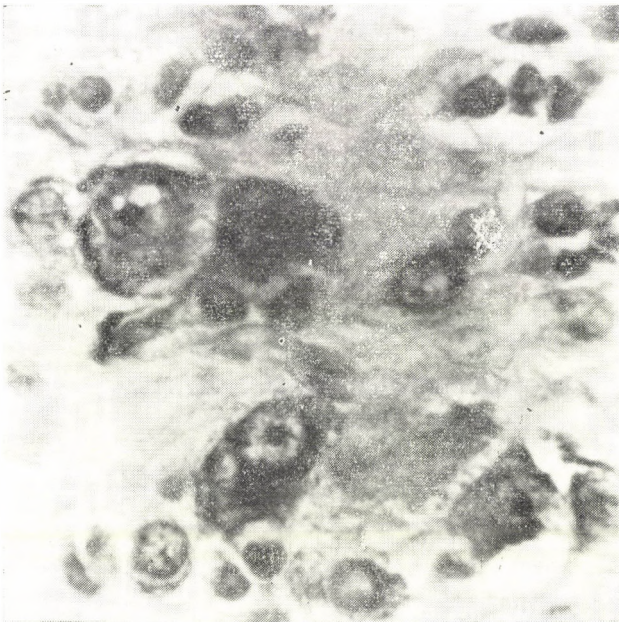
3. *ábra.* A NPO területén levő secretiós sejtekben jól megfigyelhető a perykaryonban elhelyezkedő secretum szemcsék jelenléte. Ugyancsak jól látszik az axon pozitív „festődése”. A nyilak a secretumban „szegény” sejtekre mutatnak. Paraldehyd-fuchsin festés, 80 × nagyítás



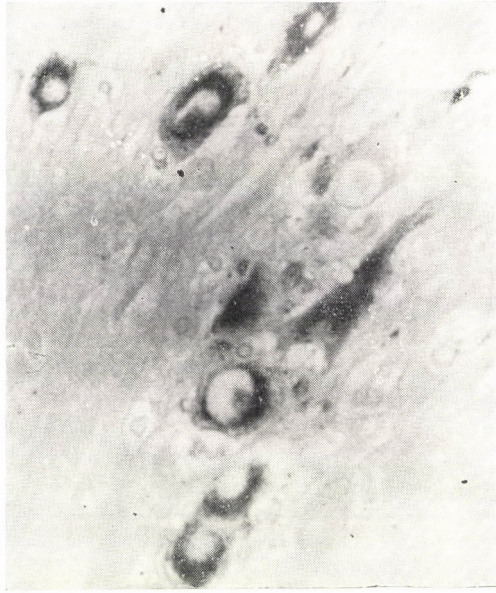
4. *ábra.* A tractus preoptico-hypophysealis részlete. Paraldehyd-fuchsin festés, 150 × nagyítás



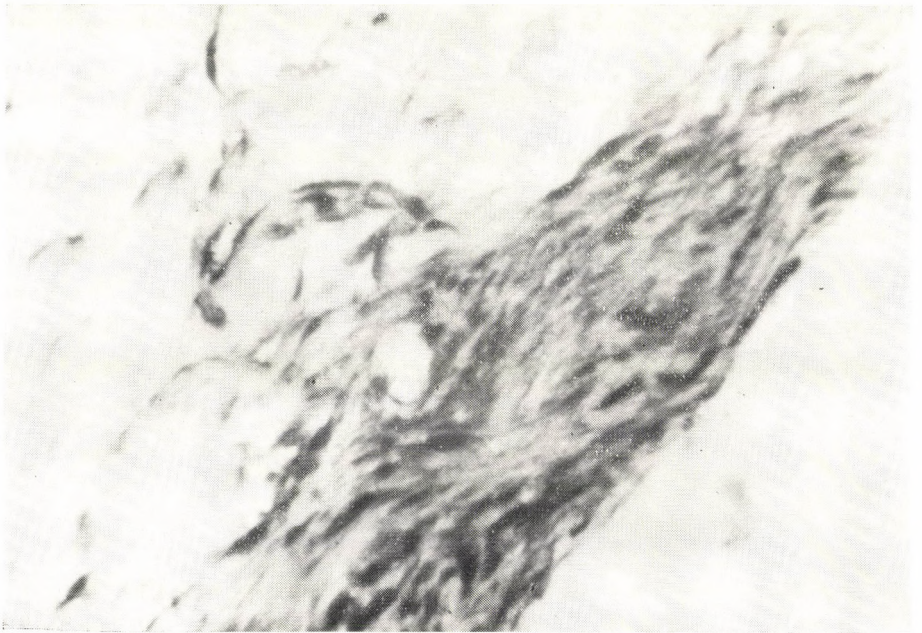
5. ábra. A NPO képe tetrazónium reakcióval. III. ventr.: III. agykamra; Tetrazónium reakció, 80 × nagyítás



6. ábra. Váladéktermelő idegsejtek a NPO területéről. DDD reakció SH és SS csoportok egyidejű feltüntetésére, 128 × nagyítás



7. *ábra.* Perhangyasav-alciankék pozitív sejtek a NPO területéről, 80 × nagyítás



8. *ábra.* A tractus preoptico-hypophysealis részlete, perhangyasav-alciankék reakcióval.
250 × nagyítás

Annak elkülönítése céljából, hogy a Gömöri-pozitivitásért nem a tygroid rögök felelősek-e ribonuclease emésztést végeztünk. Egy órás emésztés után a Nissl-szemcsék eltűntek. A Gömöri-pozitivásban csak alig észlelhető gyengülést találtunk. Az emésztés után jól eltűntek a mag körül elhelyezkedő szemcsék is, valamint ezeken a preparátumokon jobban látszott az axonban jelenlevő secretum (3. ábra). Emésztés után is megtudtuk figyelni a nyugalomban „inaktív állapotban” levő sejteket. A tractus preoptico-hypophysealis a vizsgált állatokban minden esetben jól megfigyelhető volt. A környezettől dús secretum tartalma miatt jól elkülönült (4. ábra). Meg kell azt is említenünk, hogy a Gömöri-pozitív szemcséket tartalmazó idegsejtek mellett számtalan glia sejt is látható volt. Ezekben a glia sejtekben Gömöri-pozitív szemcséket nem tudtunk megfigyelni.

Histokémiai vizsgálatainkkal azt próbáltuk eldönteni, hogy a pontyban található neurosecretum milyen kémiai tulajdonságú, és hogy található-e különbség más fajokhoz képest.

Lipideket, valamint szénhidrátokat nem találtunk az alkalmazott methodikával a mag területén. A fehérjék kimutatására szolgáló tetrazonium reakcióval erős pozitívítást kaptunk (5. ábra). Ez azt is bizonyítja, hogy a secretum fehérje természetű anyag. DDD reakciót, valamint perhangyasav-alcián kék reakciót végeztünk annak kimutatására, hogy található-e itt SH- és SS-csoportokat. Mindkét esetben erős pozitívítást kaptunk (6. és 7. ábra). A tractus preoptico-hypophysealis területén ugyancsak pozitív reakciót találtunk ezen histokémiai módszerrel is, ami tehát ugyancsak amellett szól, hogy a tractusban és a sejtekben levő secretum azonos (8. ábra). Histokémiai eredményeinket az I. sz. táblázatban foglaltuk össze, melyből kitűnik az, hogy olyan fehérje-természetű anyagot találtunk a NPO sejtjeiben, mely SH- és SS-csoportot tartalmazó aminosavakból áll. Nincs a secretumban lipid és szénhidrát sem.

I. táblázat

Hisztokémiai vizsgálatok eredményei

Gömöri-féle chromhaematoxylin	erősen pozitív
Gabe-féle aldehyd-fuchsin (oxidációval)	erősen pozitív
Gabe-féle aldehyd-fuchsin (oxidáció nélkül)	negatív
Gabe-féle aldehyd-fuchsin (ribonuclease emésztés után)	erősen pozitív
Azan festés	gyenge azocarmin pozitívítás
Billenstein-féle festés	erős pozitívítás chromhaematoxylinnal
PAS reakció emésztéssel	negatív
PAS reakció emésztés nélkül	negatív
Hale reakció	negatív
Toluidin-kék reakció	nincs metachromásia
Sudan-fekete festés	negatív
Phosphin 3R festés	negatív (nincs fluorescencia)
Luxol-Fast-Blue MBS	negatív
Perhangyasav-alcián-kék	erősen pozitív
DDD reakció SH és SS csoportokra	erősen pozitív
Tetrazonium reakció	erősen pozitív
Gallocyanin-chromtimsó RNase emésztés után	negatív
Feulgen reakció	negatív
Monoamin Falck és Hilarp szerint	gyenge fluorescencia
Schmorl-féle lipofuscin	negatív

Diszkusszió

Ponty nucleus preopticusának neurosecretioját vizsgáltuk speciális, a neurosecretumot feltüntetető eljárásokkal és histokémiai módszerekkel. A NPO elhelyezkedése megegyezik más csontos halakban találtakéval [12, 17, 18, 24, 26, 31]. Az irodalomban a *Cyprinus carpio*t Krsulovic vizsgálta [19]. Nála sem találjuk meg a pars parvocellularis és a pars magnocellularis éles különválasztását. Míg tehát ezek a sejtszövetek egyes halakban jól elkülöníthetők [5, 22, 27, 31], addig pontyban ez nem lehetséges. A pars parvocellularisban minden esetben kevesebb mennyiségű secretumot találtunk. Ez azt is jelentheti, hogy a magcsoport ezen részének a jelentősége a neurosecretiós folyamatok szempontjából kisebb.

A neurosecretiós granulomok megjelenési formája hasonló ahhoz amit magasabb szerveződésű gerincesekben leírtak [4, 28, 33].

Vizsgálataink azt mutatták, hogy ribonuklease emésztéssel a Gömöri-pozitív szemcsék jól elkülöníthetők a Nissl szemcséktől. Ezt a methodikát kevés szerző alkalmazza, pedig véleményünk szerint a neurosecretiós vizsgálatoknál szinte rutinszerűen kellene használni. Histokémiai vizsgálatainkban azt tapasztaltuk, hogy pontyban a NPO secretuma fehérje természetű anyag, s viszonylag sok kéntartalmú aminosavat tartalmaz, mivel az SH- és SS-csoportokat kimutató reakciók erősen pozitívak voltak.

PAS pozitivitást nem találtunk. Ugyancsak negatív eredményt kaptunk a lipideket illetőleg. SLOPER szerint is [30] erősen vitatható az, hogy a neurosecretum általában tartalmaz-e lipid természetű anyagokat. Vizsgálataink lényegében megegyeznek SLOPER, HOVE és PEARSE, valamint TEICHMANN, VICH és AROS által találtakéval [30, 16, 34], kik szerint a neurosecretum első-sorban fehérje-természetű anyag.

Jelentősnek tartjuk azt a megfigyelésünket, hogy egyazon magban különböző aktivitású sejtszövetek látszanak. A NPO-t illetőleg ezzel az eredménnyel eddig nem találkoztunk. Véleményünk szerint az, hogy egyszerre a secretiós fázis több stádiumát megtalálhatjuk ugyanazon állatban, arra utal, hogy a ponty NPO-jában igen intenzív secretiós tevékenység van.

Gerinctelen állatokra vonatkozólag megállapították azt, hogy neurosecretiós tevékenység igen jelentős szabályozási mechanizmusként szerepel az egyedi élet során, szinte ez az egyedüli jelentős neurohumorális apparatus [3]. Magasabb szerveződésű állatokban, pl. emlősökben kifejlett endokrin, illetve neuroendokrin rendszerrel találkozunk, melynek egy részét képezi a neurosecretiós működés [29]. Szerintünk az, hogy a pontyban ilyen jelentős neurosecretiós aktivitással találkozunk azt jelentheti, hogy ebben a fajban, illetve alacsonyabb rendű gerincesekben a neurosecretió jelentősebb feladattal rendelkezik mint magasabbrendűekben.

Összefoglalás

Felnőtt mindkét nemű ponty (*Cyprinus carpio*) nucleus preopticusát vizsgáltuk histológiai és histokémiai módszerekkel. Azt találtuk, hogy a NPO jelentős neurosecretiós tevékenységgel bír. A secretum első-sorban kéntartalmú aminosavakat tartalmazó fehérje természetű anyag.

Pontyban a NPO pars parvo- és pars magno-cellularisa nem különül el

élesen. A kis sejtek a mag medialis és basalis részén vannak, kevesebb számban és kevesebb secretumot tartalmaznak.

Egy állaton belül különböző aktivitású, secretummal teli, illetve secretumban szegény sejteket találtunk, ami azt jelentheti, hogy egy állat NPO-jában a neurosecretiós fázis több részjelensége megfigyelhető.

A pontyban talált jelentős neurosecretiós aktivitás azt jelentheti, hogy a neurosecretió szerepe alacsonyabb szerveződésű gerincesekben jelentősebb mint magasabbrendűekben.

IRODALOM

1. ADAMS, C. W., SLOPER, J. C. (1956) The hypothalamic elaboration of posterior pituitary principles in man, the rat and dog. Histochemical evidence derived from a performic acid alcian blue reaction for cystine. *J. Endocrinol.* 13, 221–228.
2. AFZELIUS, B. A., FRIEDBERG, G. (1963) The fine structure of the caudal neurosecretory system in *Raia batis*. *Z. Zellforsch.* 59, 289–308.
3. AROS, B. (1965) Kísérletes hisztológiai és elektronmikroszkópos vizsgálatok gerinctelenek idegrendszerének neurohumorális tevékenységére vonatkozólag. Kandidátusi értekezés. Budapest, Akadémiai könyvtár.
4. BARGMANN, W. (1949) Über die neurosekretorische Verknüpfung von Hypothalamus und Neurohypophyse. *Z. Zellforsch.* 34, 610–634.
5. BARGMANN, W. (1953) Das Zwischenhirn-Hypophysensystem. Springer Verlag, Berlin.
6. BARGMANN, W., KNOPP, A. (1960) Über die morphologischen Beziehungen des neurosekretorischen Zwischenhirn-systems zum Zwischenlappen der Hypophyse (licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen). *Z. Zellforsch.* 52, 256–277.
7. BILLENSTEIN, D. C. (1962) The seasonal secretory cycle of the nucleus lateralis tuberis of the hypothalamus and its relation to reproduction in eastern brook trout, *Salvelinus fontinalis*. *Gen. comp. Endocrinol.* 2, 110–112.
8. BILLENSTEIN, D. C. (1963) Neurosecretory material from the nucleus tuberis lateralis in the hypophysis of the eastern brook trout, *Salvelinus fontinalis*. *Z. Zellforsch.* 59, 507–512.
9. DAHLGREN, M. (1914) On the electric motor nerve centers in the skates (*Raidae*). *Science*, Paris, 40, 862–863.
10. ENAMI, M., IMAI, K. (1955) Caudal neurosecretory system in several freshwater Teleosts. *Endocrinol. Jap.* 2, 107–116.
11. ENAMI, M., IMAI, K. (1958) Electron microscopy of the secrete granules in the caudal neurosecretory system of the Eel. *Proc. Jap. Acad.* 34, 164–168.
- 11a. FALCK, B., HILLARP, N. A., THIEME, G., THORP, A. (1962) Fluorescence of catecholamines and related compounds condensed with formaldehyde. *J. Histochem. Cytochem.* 10, 348–354.
12. FOLLENIUS, E. (1965) Bases structurales et ultrastructurales des corrélations hypothalamo-hypophysaires chez quelques espèces de Poissons téléostéens. *Ann. Sci. Nat. Zool.* 12° Ser VII. 1–150.
13. FRIEDBERG, G. (1962) Studies on the caudal neurosecretory system in Teleosts. *Acta Zool.* Bd. 43. Suppl.
14. GABE, M. (1953) Sur quelques applications de la coloration par la fuchsine-paraldehyde. *Bull. Micr. appl.* 3, Ser. 2. 153–162.
15. GOMORI, G. (1941) Observations with different stains on human islets of Langerhans. *Amer. J. Path.* 17, 395–400.
16. HOWE, A., PEARSE, A. G. E. (1956) A histochemical investigation of neurosecretory substance in the rat. *J. Histochem. Cytochem.* 4, 561–569.
17. JASINSKY, A. (1966) The nucleus preopticus in the hypothalamus of the platyfish (*Xyphophorus maculatus*). *Gen. comp. Endocrinol.* 6, 386–387.
18. JASINSKY, A. (1968) Modifications in the neurosecretory system of the fish *Misgurnus fossilis* induced by lasting inanition. *Z. Zellforsch.* 88, 537–548.
19. KRŠULOVIC, J. D. (1961) Fenomenos de neurosecretion en los nucleos hipotalamicos de la Carpa (*Cyprinus carpio*). *Biologia (Chili)* 32, 7–15.
20. LEDERIS, K. (1962) Ultrastructure of the hypothalamo-neurohypophysial system in Teleost

- fishes and isolation of hormon-containing granules from neurohypophysis of the Cod (*Gadus morrhua*). Z. Zellforsch. 58, 192—213.
21. LEGAIT, E., LEGAIT, H. (1958) Recherches sur l'ultrastructure de l'hypophyse de quelques Téléostéens. C. R. Soc. Biol. 152, 130—133.
 22. PALAY, S. L. (1943) Neurosecretion V. The origin of neurosecretory granules from the nuclei of nerve cells in fishes. J. comp. Neur. 79, 247—275.
 23. PALAY, S. L. (1960) The fine structure of the secretory neurons in the preoptic nucleus of goldfish (*Carassius auratus*). Anat. Rec. 138, 417—425.
 24. PICARD, D., STAHL, A. (1966) La cellule neurosecrétice chez les Vertébrés. C. R. Ass. Anat. 51, 2—75.
 25. SCHARRER, E. (1928) Die Lichtempfindlichkeit blinder Elritzen I. Untersuchungen über das Zwischenhirn der Fische. Z. Verg. Physiol. 7, 1—38.
 26. SCHARRER, E. (1930) Über sekretorisch tätige Zellen im Thalamus von *Fundulus heteroclitus* L. II. Untersuchungen über das Zwischenhirn der Fische. Z. Vergl. Physiol. 11, 767—773.
 27. SCHARRER, E. (1937) Vergleichende Untersuchungen über die zentralen Anteile des vegetativen Systems. Z. Anat. 106, 169—192.
 28. SCHARRER, E., SCHARRER, B. (1954) Neurosekretion. In Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen. W. v. Möllendorff, VI/5 pp 953—1067, Springer Verlag, Berlin—Göttingen—Heidelberg.
 29. SCHARRER, E., SCHARRER, B. (1963) Neuroendocrinology. Columbia University Press, New York—London.
 30. SLOPER, J. C. (1966) The experimental and cytopathological investigation of neurosecretion in hypothalamus and pituitary. The Pituitary Gland. Ed.: Harris, G. W., Donovan, B. T. vol III. pp. 131—239. Butterworth and Co. Ltd. London.
 31. STAHL, A. (1957) Recherches sur les élaborations cellulaires et la neurosécrétion dans l'encéphale des poissons Téléostéens. Acta Anat. 28, Suppl. 31.
 32. STUTINSKY, F. (1953) La neurosécrétion chez l'Anguille normale et hypophysectomisée. Z. Zellforsch. 39, 276—297.
 33. STUTINSKY, F. (1962) Histophysiologie de la neurosécrétion. Biol. Méd. 51, 140—148.
 34. TEICHMANN, I., VIGH, B., AROS, B., (1966) Histochemical studies on Gomori-positive substances III. Examination of the earthworm's neurosecretory system (*Lumbricus hercules*, *Eisenia foetida*). Acta biol. Acad. Sci. Hung. 17, 329—358.
 35. WENGER, T. (1967) Comparative histochemistry of the nucleus tuberis lateralis and nucleus preopticus in a Teleost, *Cyprinus carpio*. Gen. comp. Endocrinol. 7, 407.

HISTOLOGICAL AND HISTOCHEMICAL EXAMINATION OF NUCLEUS PREOPTICUS (NPO) IN THE CARP (CYPRINUS CARPIO)

by

T. Wenger, Gy. Kertész and L. Auer

We examined the nucleus preopticus of adult carp of either sex by histochemical and histological methods. We found, that NPO exhibit a significant neurosecretory activity. Considering the histochemical nature of the secrete we saw, it was a material of protein in nature involving amino acids of sulphur content.

In carps the pars parvo and pars magnocellular of NPO does not separate sharply from each other. The small cells can be found on the basal and medial areas of the nucleus, in a smaller quantity and they contain less secrete.

Inside an animal, cells of different activity, and full of secrete, respectively poor in can be found. This fact means that in the NPO of animal several partial phenomenons of neurosecretory phase can be considered.

The neurosecretory activity of carps allows us to follow: the role of neurosecretion in lower Vertebrates is of greater importance than in higher ones.

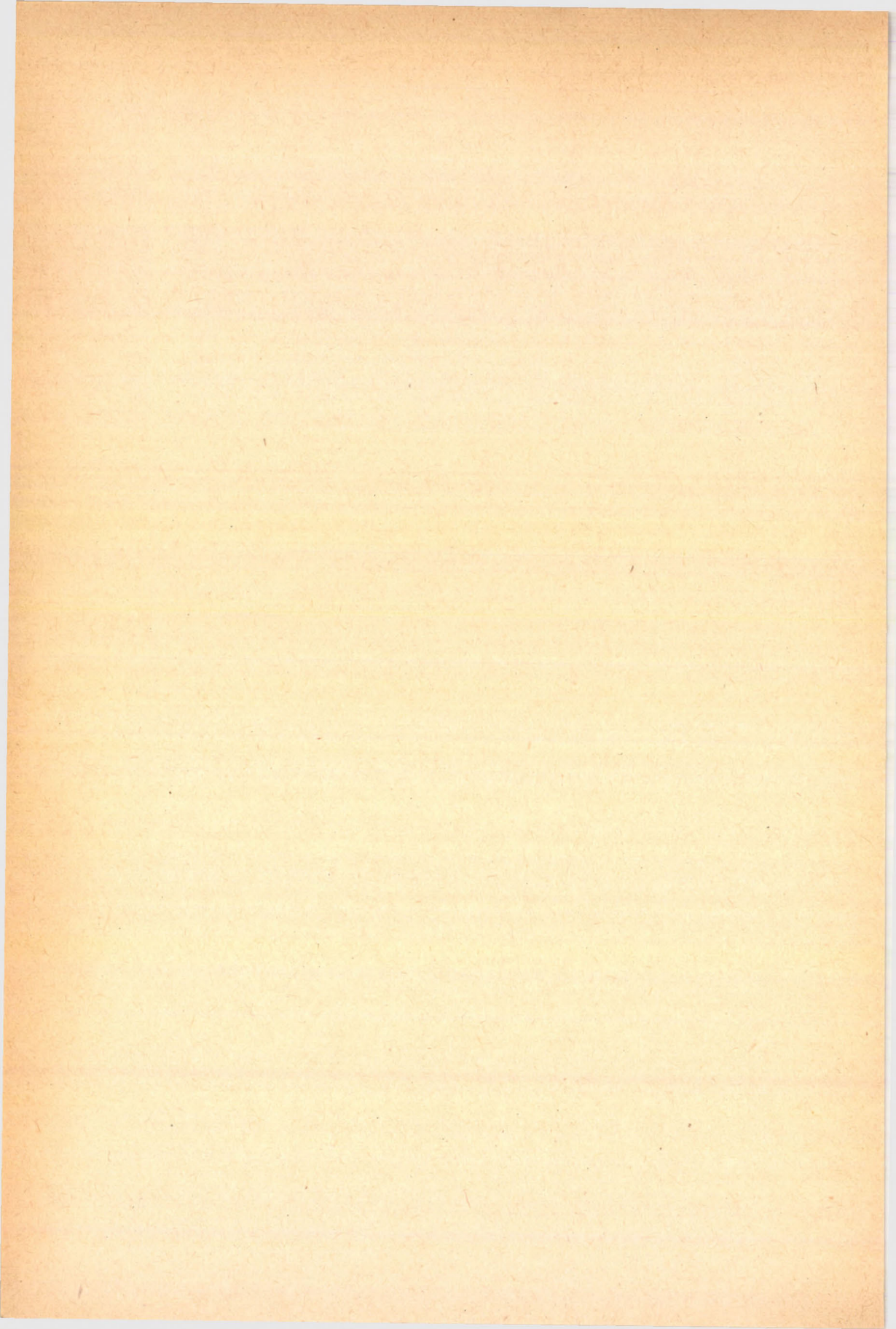
ГИСТОЛОГИЧЕСКОЕ И ГИСТОХИМИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ NUCLEUS PREOPTICUS
В КАРПЕ

Т. Венгер, Д. Кэртес и Л. Ауэр

Мы изучили *nucleus preopticus* взрослого карпа обоего пола гистохимическими и гистологическими методами. Мы нашли, что НПО имеет значительную невросекреторную деятельность. Нам выяснилось, что секрет по его гистохимическому характеру является белковым, содержащимся серные аминокислоты, веществом.

В карпе НПО не резко отделяются *pars parvo*—и *pars magnocellularis* составные части. Мелкие клетки находятся в базальной и медиальной части, в небольшом количестве, и они содержат меньше секрета. Внутри одного животного мы нашли клетки разной активности богатых или бедных секретом. Это может значить, что в НПО одного животного можно наблюдать больше частных явлений невросекреторной фазы.

Найденная в карпе значительная невросекреторная активность допускает, что роль невросекретции имеет больше значений у низкопробных позвоночных чем у высших.



A NEUROSEKRECIÓ HISZTOKÉMIAI VIZSGÁLATA A TAVIKAGYLÓ KÖZPONTI IDEGRENSZERÉBEN

B. BARANYI ILONA

Budapesti Orvostudományi Egyetem Szövet- és Fejlődéstani Intézet. Igazgató: Dr. Törő Imre

Béérkezett: (átdolgozva) 1970. február 10-én.

Bevezetés

A Molluskák neuroszekreciós sejtjeinek hisztokémiai vizsgálata csak néhány évre vezethető vissza. Kuhlmann (1963) a Helicidaeak neuroszekreciómát lipoproteinnek tartja. Simpson és mts. (1963) az *Aplysia californica* csigafaj szekreciómát glico-lipidnek, vagy foszfo-lipidnek véli. K. Röhnisch (1964) szerint a *Planorbarius* csigafaj neuroszekrecióuma protein természetűnek mondható, mivel sem Sudan fekete festéssel, sem PAS reakcióval nem reagál pozitíven. Boer (1963) részletes hisztokémiai vizsgálatok alapján a Pulmonaták neuroszekreciómát cystinben gazdag lipoproteinnek tartja.

Ha az irodalmi adatokat egybevetjük, megállapíthatjuk, hogy a neuroszekrecióm mind a gerincesekben, mind a gerinctelenekben igen különböző kémiai természetű anyag lehet. Miután a Molluskák neuroszekreciómát proteinnek, poliszaccharidának, lipidnek, vagy ezek komplexének tartják, saját vizsgálatainkban is elsősorban e kémiai komponensek kimutatásaira szorítottunk a tavikagyló neuroszekreciómával kapcsolatban.

Anyag és módszer

Vizsgálatainkat a puhatestűek törzsében a lemezkopoltyúsok (Lamelli-branchiata) osztályba tartozó tavikagyló (*Anodonta cygnea* L.) központi idegrendszerében végeztük [4, 5]. Az élő állatokból kioperáltuk a központi idegrendszerhez tartozó (cerebralis, pedalis, visceralis) ganglionpárokat. A kioperált ganglionokat azonnal Bouin, Carnoy, formol, Helly fixálókba helyeztük. A formollal fixált anyag egy részéből kriosztáttal mínusz 20 fokon 6 mikron vastagságú metszeteket készítettünk. A formollal fixált anyag másik részéből és a többi fixálókkal rögzített anyagból paraffin beágyazás után 5 mikron vastagságú sorozatmetszeteket készítettünk. A fehérjék kimutatását ninhidrin Schiff-, valamint a tetrazonium reakció [19] segítségével, tripszin és pepszin előkezelés előtt és után végeztük el. Mivel a szekrecióm-fehérjét cystinben és cysteinben gazdagnak tartják, [1, 2, 3] ezért az SH csoportok kimutatására elvégeztük a 2,2'-dihidroxi-6,6'-dinaftil-diszulfid (DDD) reakciót [7, 18], valamint a perhangyasav-alciánkék reakciót végeztük el (Adams és Sloper szerint, cit. 21).

A szénhidrátokat perjódsva Schiff (PAS) reakcióval, illetve a megfelelő differenciáló hisztokémiai eljárással mutattuk ki [22].

A lipideket Sudan-black B-vel és Oil Red O-val, 60 C°-on 48 órás piridines előkezelés előtt és után vizsgáltuk [14].

Kontrollként, valamennyi reakció és festési eljárás esetében paralel metszeten paraldehyd-fuchsin és krómhematoxilín-floxin festést alkalmaztunk [10, 11].

Eredmények

Az 1. képen (kontroll), Gömöri-pozitív anyagot tároló sejtek láthatók a cerebralis ganglionban. Ezen sejtek cytoplazmájában ninhidrin Schiff-reakcióval élénk rózsaszínű, finom szemcsés, szinte homogénnek tűnő anyagot tudtunk kimutatni (2. ábra). A ninhidrin Schiffhez hasonló pozitív eredményt kaptunk tetrazonium reakció után is.

A tripszin emésztéssel 30 perc után a festési reakciók meggyengültek, majd 1 órás emésztéssel a reakciók alig, vagy egyáltalán nem mutathatók ki. A tripszin emésztés után 1 óra elteltével a citoplazma paraldehyd-fuchsinnal alig, vagy egyáltalán nem festődött.

A pepszin emésztés után a ninhidrin Schiff-reakcióban színváltozást nem észleltünk.

A Gömöri-pozitív anyagot raktározó sejtekben az SS és SH csoportok kimutatására szolgáló DDD reagenssel a citoplazmában élénk rózsaszínű, finom granulált, pozitív reakciót kaptunk (3. ábra), úgyszintén a perhangyasavas alciankek festéssel is pozitív reakciót észleltünk.

Ha a Gömöri-pozitív anyagot tartalmazó sejteket perjódsva Schiff (PAS) reagenssel kezeltük, akkor a citoplazma élénk rózsaszínű szemcsés, helyenként összefolyó erős reakciót adott, különösen a Carnoy-fixáló után (4. ábra). Az erős PAS pozitívítás, nyál emésztés után valamivel csökkent. Ha ezeket a preparátumokat előzetesen ecetsav-anhidriddel kezeltük, 60 C°-on 2 órán keresztül a PAS pozitívítás megszűnt [18], (5. ábra), ezen kezelés után a párhuzamos metszeten a paraldehyd-fuchsin festéssel is igen gyenge, szinte negatívnak mondható reakciót kaptunk (6. ábra).

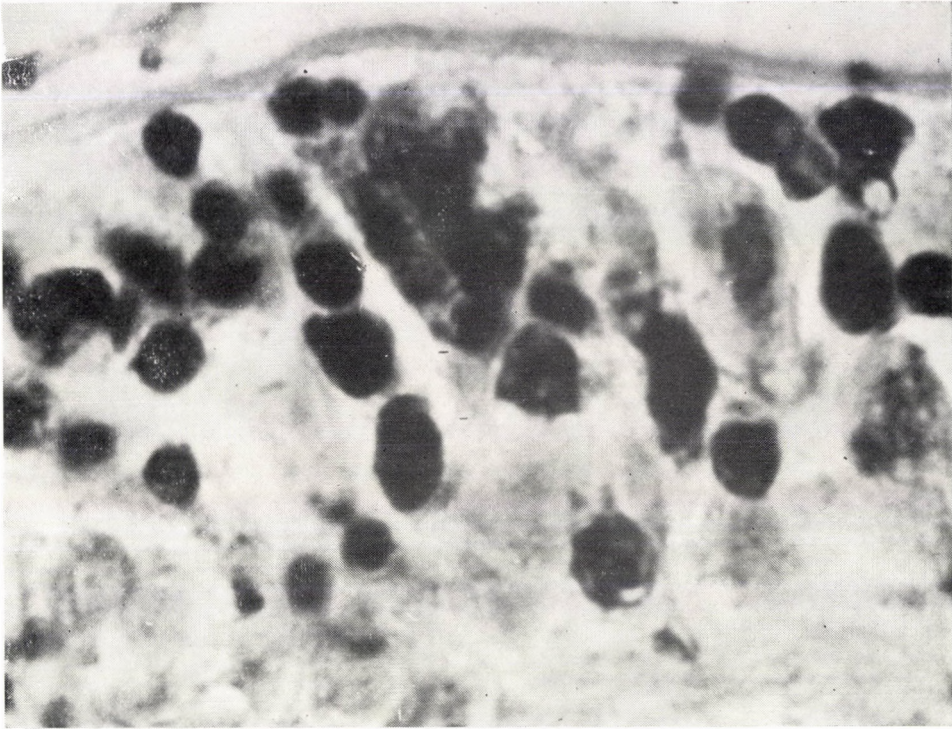
Ha a Gömöri-pozitív anyagot tároló sejteket Sudan black B-vel vagy Oil Red O-val festettük meg, akkor a citoplazmában található 1/2 μ -nál kisebb granulomok nem festődtek meg. Az 1 μ -nál, vagy annál is nagyobb granulomok Sudan black B-vel jól festődtek. Ha a metszeteket 48 órán keresztül 60 C°-on piridinnel előkezeltük, akkor a lipidekben gazdag 1 μ méretű granulomok vacuolizálódtak, Sudan black B-vel nem festődtek.

A piridines kezelés után a citoplazmában levő 1/2 μ -nál kisebb méretű granulomok paraldehyd-fuchsinnal (7. ábra), vagy krómhematoxilín floxinallal jól festődtek, viszont az 1 μ vagy annál nagyobb granulomok a piridines kezelés után paraldehyd-fuchsinnal vagy krómhematoxilinnel nem festődtek.

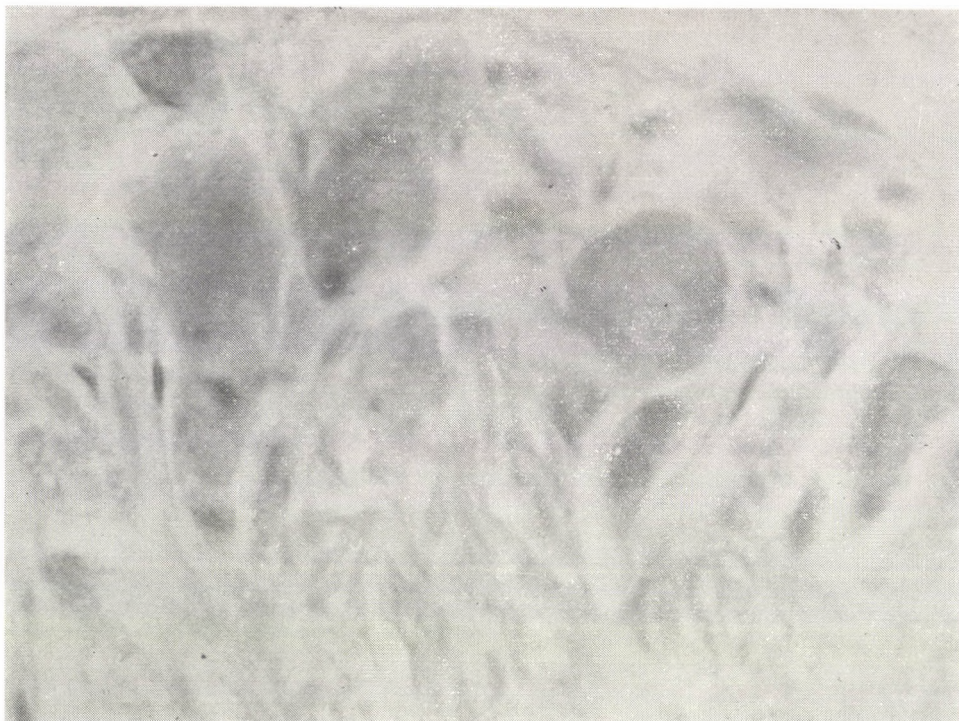
A Gömöri-pozitív sejtekben savanyú mukopolysaccharidák kimutatására szolgáló alciankek, astrablau, Hale-festések nem adtak pozitív reakciót, s a toluidinkek festés is az ún. béta metakromázia képét adta.

Diszkusszió

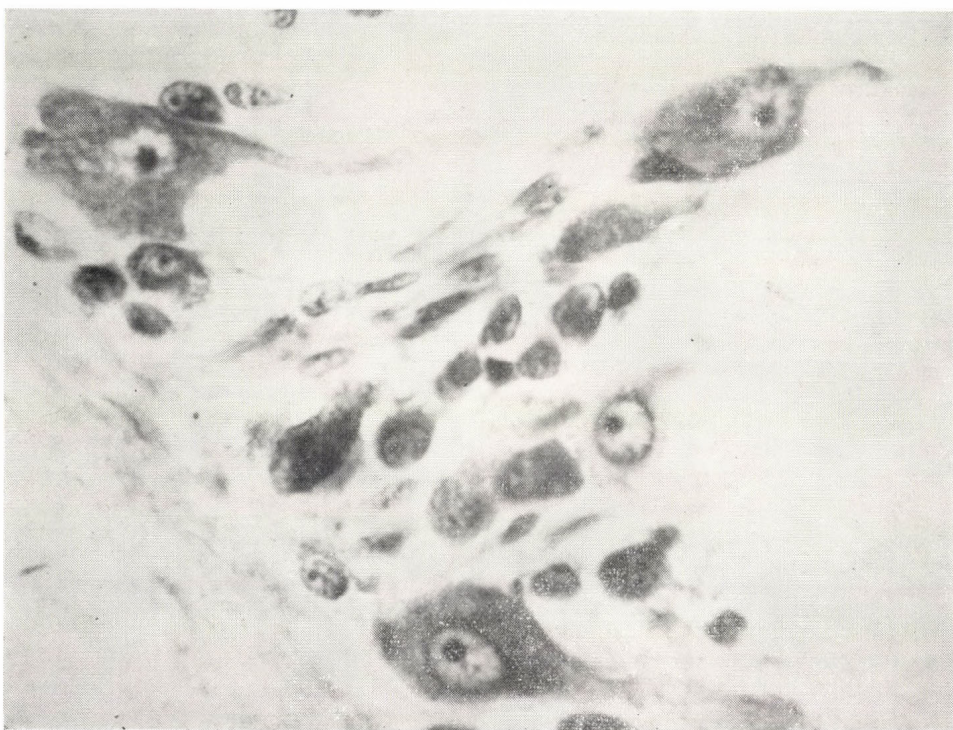
Ha a Gömöri-pozitív anyagot tároló sejteket ninhidrin Schiff-reagenssel kezeljük, a citoplazmában élénk rózsaszínű, finom szemcsés reakciót kapunk. Ez a reakció 30 perces tripszin emésztés után meggyengül, majd 1 órás emésztés után eltűnik. A párhuzamos kontroll preparátumokban 1 órás tripszin



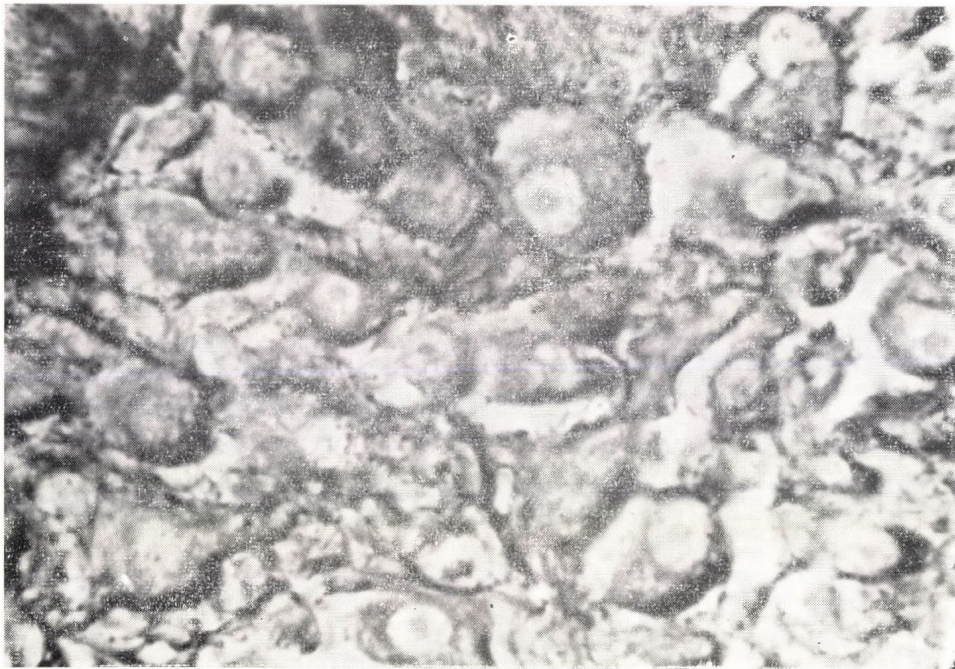
I. kép: Kontroll. Gömöri-pozitív anyagot tároló sejtek. Festés: Paraldehid-fuchsin.
Nagyítás: 800 ×



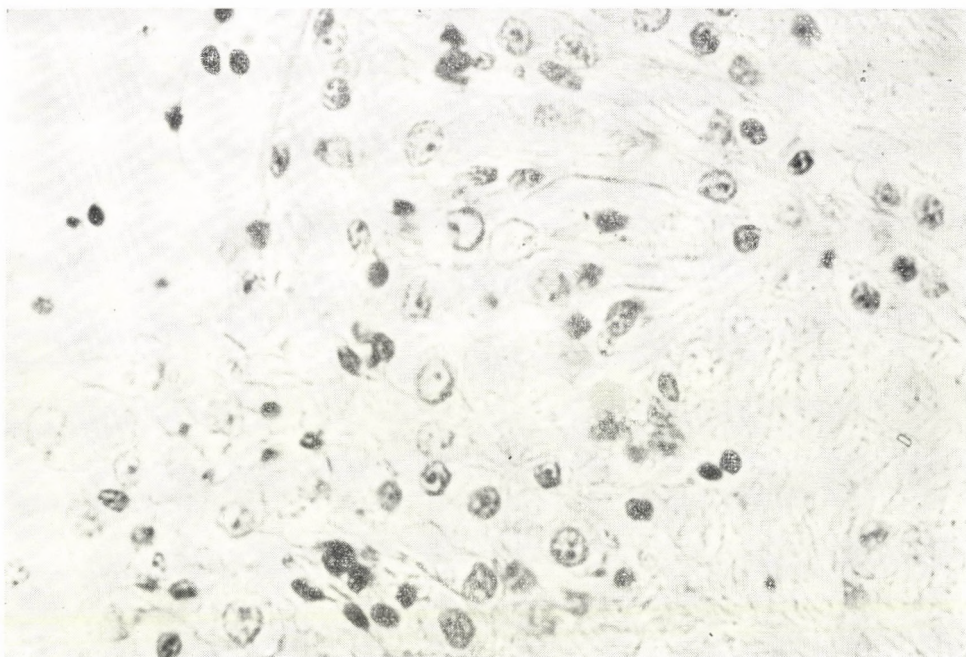
2. kép: Neuroszekretumot tároló sejtek. Ninhidrin Schiff-festéssel pozitív reakciót mutatnak. Nagyítás: 1000 ×



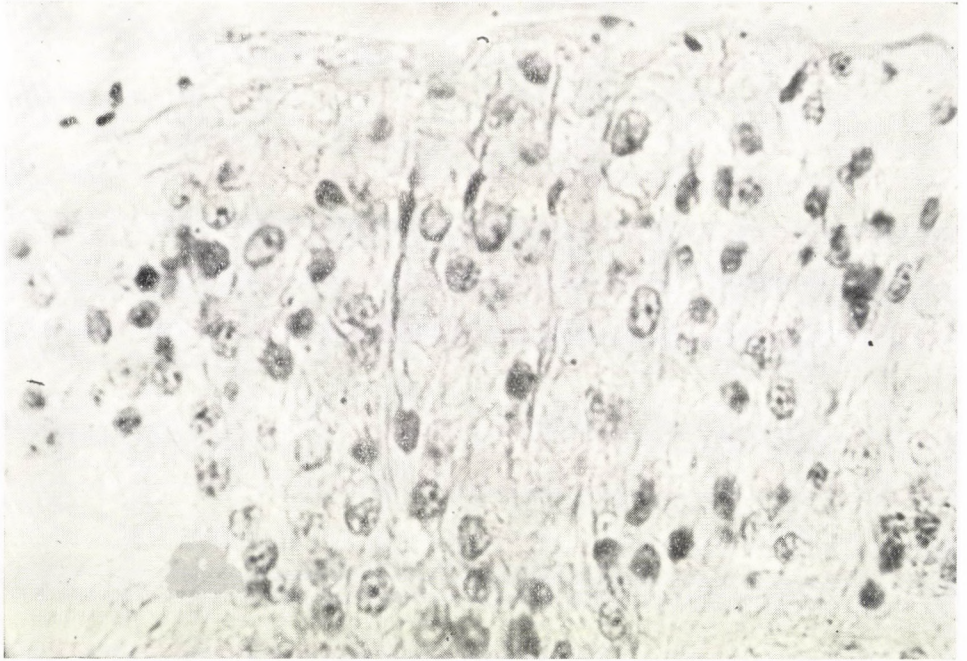
3. kép: SS, SH csoportok együttes kimutatása DDD reagenssel. Nagyítás: 800 ×



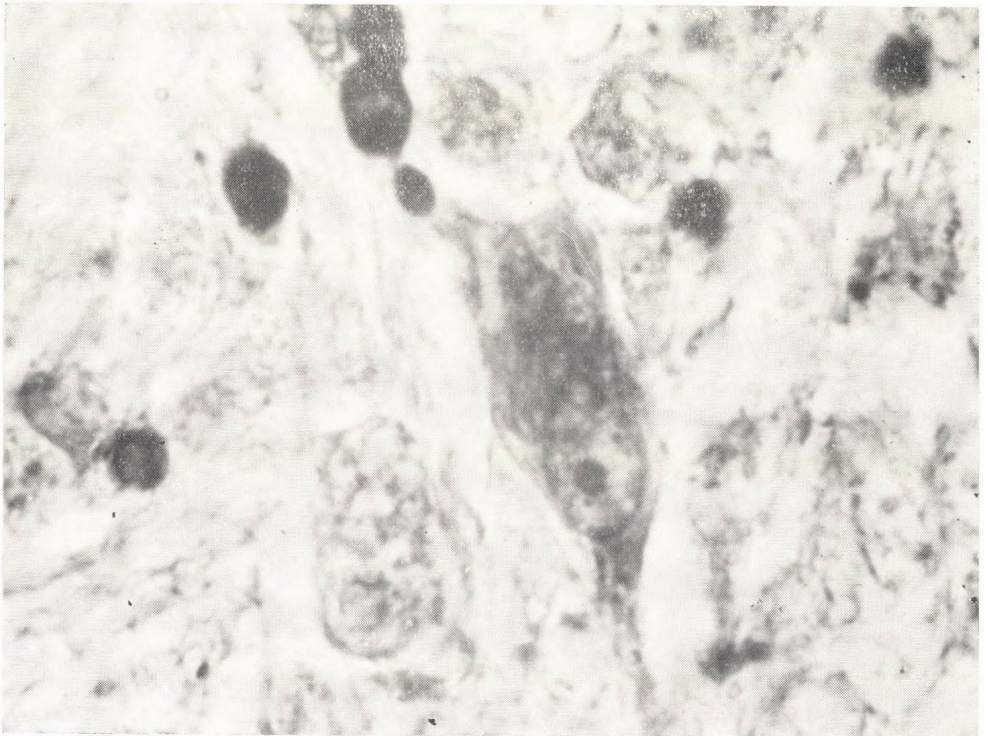
4. kép: Poliszaccharidák kimutatása PAS reakcióval. Nagyítás: 1000 ×



5. kép: 60 C°-on 2 órás ecetsavanhidrides kezelés után a PAS reakció negatív eredményt adott. Nagyítás: 800 ×



6. kép: 60 C°-on 2 órás ecetsavanhidrid kezelés után paraldehyd fuchsin festés. Nagyítás: 800 ×



7. kép: 60 C°-on 48 órás piridines extractio után paraldehyd fuchsin festés. Nagyítás: 1000 ×

emésztés után paraldehyd-fuchsin festéssel ugyancsak nagyon gyenge festődés észlelhető.

Ha a Gömöri-pozitív anyagot tároló sejteket DDD reagenssel kezeltük, erősen pozitív reakciót észleltünk. Ez az eredmény megegyezik Aros (1963, 1964, 1965) és Teichmann és mts. (1967) a földigilisztára, valamint Hagadornak (1964, 1966) a piócára vonatkozó adataival.

A neuroszekréciós sejtek citoplazmájában a perhangyasav-alciánkéék festés szintén pozitív eredményt mutatott, s ez megerősíti Boer (1965) csigákon kapott eredményeit.

Az elvégzett hisztokémiai vizsgálatok alapján megállapítható, hogy a tavikagyló idegsejtjeiben kimutatott Gömöri-pozitív anyag fehérjét tartalmaz. A kapott adatok alapján azt is kimondhatjuk, hogy a granulumban levő fehérje cystint és cysteint tartalmaz hasonlóan a gyűrűsférgek Gömöri-pozitív anyagához.

A Gömöri-pozitív anyagot tartalmazó sejtek erős PAS reakciót is mutattak. Ez megegyezik Nagabhushanam (1963) osztrigában, valamint Röhnsch (1964) tüdős csigákban kapott eredményeivel.

A kimutatott PAS pozitív anyag nyálamilázzal gyengén emészthető. Ecetsavanhidriddel 60 C°-on 2 órán át végzett előkezelés után a PAS pozitívitás megszűnik és ezzel egyidejűleg a Gömöri-pozitívitás is nagyon meggyengül. Az erős PAS pozitívitás arra utal, hogy a neuroszekrétaumban a fehérje természetű anyag mellett még egy poliszaccharida komponens is van. Az erős PAS pozitívítást azonban nem egyedül a Gömöri-pozitív anyag pliszaccharida komponense adja, hanem a citoplazmában jelenlevő glikogén is, amit az elektronmikroszkópos vizsgálataink megerősítettek. A glikogén eltávolítása után a megmaradó PAS pozitívítást viszont a Gömöri pozitív anyag pliszaccharida komponense adja, ami azzal bizonyítható, hogy az ecetsavanhidrid kezelés után mind a PAS reakció, mind a paraldehyd-fuchsin festés negatív.

A Gömöri-pozitív anyagot tároló sejtekben kimutatható 1/2 μ -nál kisebb méretű granulomok, amelyek az elemi neuroszekréta granulomoknak felel meg, sem sudan black-B-vel, sem Oil Red-O-val nem festődtek. Ez arra enged következtetni, hogy a tavikagyló neuroszekréta lipideket nem tartalmaz. Az idegsejtek citoplazmájában az elemi neuroszekréciós granulomokon kívül 1–2 μ vagy még ennél is nagyobb átméretű testek is találhatóak, melyek sudan black-B-vel és Oil Red-O-val festődnek. Ezen adatok megegyeznek Zs. Nagy (1967) adataival. Ezen testek nem tartoznak a neuroszekréta csoportjába. Valószínűsíthető, hogy ezek lisosomák, annál is inkább, mert tartalmaznak lizoszomális enzimeket, nevezetesen savanyú foszfatazt, melyet igen nagy mennyiségben tudunk kimutatni (1966).

A savanyú mukopoliszaccharidák kimutatására alkalmazott astrablau, alciánkéék, Hale festések negatív eredménye ugyanakkor azt igazolja, hogy ez a PAS pozitív anyag nem tartozik a savanyú mukopoliszaccharidák csoportjába.

Összefoglalás

Az elvégzett hisztokémiai reakciók eredményei és az ezzel kapcsolatos irodalmi adatok alapján feltehető, hogy a tavikagyló neuroszekréta protein-neutrális poliszaccharida komponensekből áll. E két komponens minden

valószínűség szerint egymással komplex vegyületet alkot. A szekrétrum granuláinak alkotásában résztvevő fehérje és polisaccharida komponensek identifikálása és pontosabb elemzése csak finomabb biokémiai analízis alapján lehetséges.

IRODALOM

1. AROS, B. (1963) Histochemische Untersuchungen des neurosekretorischen System des System des Regenwurmes *Eisenia foetida* in verschiedenen Lebensperioden. Gen. Comp. Endocrinol. 3, 681—
2. AROS, B. (1964) Données histologiugies et histochimigues sur le système neurosecretoire chez le ver de terre. Annol, Endocr. suppl. 25, 5—7.
3. AROS, B. (1965) Kísérleti histológiai, hisztokémiai és elektronmikroszkópos vizsgálatok gerinctelenek idegrendszerének neuroszekrécíós tevékenységére vonatkozólag. Kandidátusi disszertáció.
4. B. BARANYI, I., SALÁNKI, J. (1963) Studies on neurosecretion in the central nervous system of *Anodonta cygnea*. Acta Biol. 13, 371—378.
5. B. BARANYI, I. (1964) A folyami kagylók (*Anodonta cygneas*) neurosecretios tevékenységének évszakos változása. Biol. Közl. 11, 125—130.
6. B. BARANYI, I. (1966) Examination of alkaline and acid phosphatase activity in the central nervous system of *Anodonta cygnea* L. in connection with the periodical change of neurosecretory activity. Acta Biol. Hung. 16, 255—260.
7. BRANETT, K. J., A. M., SELIGMAN (1952) Histochemical demonstration of proteinbound sulphydril groups. Science. 116—323.
8. BOER, H. H. (1963) A perlinary note on the histochemistry of the neurosecretory material (NSM) of the snail *Lymnaea stagnalis* (Basommatophora). Acta Physiol. Pharmacol. Neerlandica. 12, 101—102.
9. BOER, H. H. (1965) A Cytological and cytochemical study of neurosecretory cells in Basommatophora, with particular reference to *Lymnaea stagnalis* L. Arch. Neerlandaises de Zool. 16, 316—386.
10. GABE, M. (1953) Sur quelques applications de la coloration par la fuchsine paraldehyde. Bull. Mier. Appl. 3, 152—162.
11. HADLER, W. A., COSTACURTA, L., BOLZAN, J. M., (1965) Histochemistry of the neurosecretory substance. The fraction accounted for the neurosecretory substance selective staining by chrome -alum hematoxylin and the aldehyde fuchsin. Acta Histochem. 22, 1—15.
12. HAGADORN, I. R. (1964) Histology and histochemistry of neurosecretion in the medicinal leech, *Hirudo medicinalis* Am. Zool. 4, 141.
13. HAGADORN, I. R. (1966) The histochemystry of the neurosecretory system in *Hirudo medicinalis*. Gen. Comp. Endocrinology. 6. 288—294.
14. KISZELY, GY., PÓSALAKY, Z. (1965) Histochemische und histologische Untersuchungs-methoden. Akadémiai Kiadó. Budapest.
15. KUHLMANN, D. (1963) Neurosecretion bei Heliciden (Gastropoda) Z. Zellf. 60, 909—932.
16. NAGABHUSHANAM, R. (1963) Preliminary report on the cytochemical study of the neurosecretory cells in the visceral ganglia of the Oyster *Crassostrea virginica*. Science Culture. 29, 506—507.
17. Zs. NAGY, I. (1967) Histological histochemical and electron microscopical on the cytosomes of the nerve cells in *Anodonta cygnea*. Ann. Inst. Biol. (Tihany.) Hung. Acad. Sci. 34, 25—29.
18. PEARSE, A. G. E. (1961) Histochemistry, Theoretical and applied, Churchill, London.
19. RAPPAY, GY., Z. PÓSALAKY (1958) Adatok a tetrazonium reakció specifitásának kérdéséhez. MTA Biol. Orvosi Tudományok Osztályának Közleményei. 10, 135—138.
20. RÖHNISCH, K. (1964) Untersuchungen zur Neurosecretion bei *Planorbarius corneus* L. (Basommatophora) Z. Zellforsch 63, 767—798.
21. STEEDMAN, H. F. (1950) Alcian blue 8 G S: a new stain for mucin. Quatr. J. micr. Sci. 91, 477—479.
22. TAKEUCHI, J. (1962) Staining sulfated mucopolysaccharides in section by beans of acriflavine. Stain Techn. 37, 105—107.
23. TEICHMANN, I., B. AROS, B. VIGH. (1966) Histochemical studies on Gomori pozitív substan-

ces. III. Examination of the earthworm's *Eisenia foetida*. *Acta Biol. Hung.* 17 (4) 329—357.

24. SIMPSON, L., H. A. BERN., R. S. NISHIOKA. (1963) Inclusions in the neurons of *Aplysia Californica*. *J. Comp. Neurol.* 121, 237—257.

HISTOCHEMICAL EXAMINATION OF NEUROSECRETION IN THE CENTRAL NERVOUS SYSTEM OF FRESHWATER MUSSEL

by

B. I. Baranyi

On the basis of the results of the histochemical reactions performed and of literary data, we suppose: the neurosecrete of freshwater mussel consist of protein-neutral polysaccharide components. In all probability the two components — participating in the formation of the secretory granules — can be identified and analyzed more exactly only by means of more precise biochemical analysis.

ГИСТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ НЕВРОСЕКРЕЦИИ В ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЕ ОЗЕРНЫХ МОЛЛЮСК

И. Б. Барани

Допустимо на основе результатов произведенных гистохимических реакций, и литературных данных в связи с ними, что невросекрет озерного моллюска состоит из протейн-нейтральных полисахаридных компонентов. Эти два компонента, по всей вероятности, формируют комплектное соединение друг с другом. Идентификация и более точный анализ белковых, и полисахаридных компонентов, участвующих в формировании гранулов секрета, может быть лишь через более тонкий биохемический анализ.

A BETANINURIA EGYÉNI INGADOZÁSÁNAK VIZSGÁLATA

FORRAI GYÖRGY, VÁGÚJFALVI DEZSŐ, LUTTER ANDRÁSÉ és BÖLCSKEY PÉTER

XIV. ker. Gyermekpoliklinika és Gyógynövénykutató Intézet

Béérkezett: 1969. október 28-án

Hess és Myers [7] már 50 évvel ezelőtt leírta azt az észlelését, hogy egyes gyermekek vizeletében cékla fogyasztása után lila pigment jelenik meg, míg a többieké hasonló körülmények között festenyezetlen marad. Mint később e minden életkorban gyakori jelenségről mások [8, 9, 14] megállapították, az ürített anyag egy *betanin* nevű alkaloid, amely a *Centrospermae* csoport más növényeiben is előfordul.

A *betaninvizelés* (*betaninuria*, röv. *BU*) eredetét magyarázó elméletekkel, azok pro és contra érveivel korábbi munkákban részletesen foglalkoztunk [3, 4], itt csak megemlítjük, hogy a genetikus hipotézis (*Allison* és *McWhirter*, 1, *Saldanha* és *mtsai*, 11) a céklaallergia elmélete (*Zindler* és *Colovos*, 15), s tisztán a környezeti tényezők szerepének hangsúlyozása (*Geldmacher*—v. *Mallinckrodt* és *mtsai*, 5, 6), ezen belül pedig a vashiányos állapotokkal való összefüggés keresése (*Watson* és *mtsai*, 13, *Tunnessen* és *mtsai*, 12) egyaránt fellelhető az irodalomban. Sajnos az egyes kísérletes munkák eredményei a metodikai különbségek miatt aligha vethetők össze. A legtöbb szerző még ma is egyszerű vizuális módszerrel, a vizeletre való pusztán ránézés alapján osztályozza az egyéneket *betanin* kiválasztás szempontjából: ez pontatlan és összehasonlításra, még egy kísérleten belül is, alkalmatlan eljárás. E körülmény vezetett bennünket pontosan standardizált módszer kidolgozására [3, 4]; ennek lényege, hogy részben a korábbi *cékla etetés* helyett *céklalé itatását* vezettük be, s ezáltal lehetőség nyílt a *betanin* pontosabb dozálására, részben pedig *Pulfrich-féle fotométer* alkalmazásával a méréseket objektívabb alapra helyeztük.

Korábbi vizsgálataink során *céklalé itatást* követően egy 244 tagú óvodáskorú populáció *BU* szempontjából a normálistól szignifikánsan eltérő bimodális eloszlást mutatott, emlékeztetve az egyetlen génpár által átörökített tulajdonságok átlag populációban való eloszlására. Indokoltnak látszott tehát annak vizsgálata, vajon a *BU* egyazon személyre nézve mennyire konstans tulajdonság. A *BU* konstanciájának fokát eddig igen kevesen tanulmányozták. *Ruh* és *Garvin* [10] 30 gyermek *BU*-járól számolt be, 15 közül 8 esetben észlelt ismételt pigmentürítést; *Cathala* és *mtsai* [2] igen kis számú gyermeket vizsgáltak, ezek között ők is regisztráltak néhány konzekvens *betanin*-ürítőt. *Geldmacher*—v. *Mallinckrodt* és *mtsai* [6] nem találták a *BU*-t ugyanazon egyénen következetesen megismétlődő jelenségnek. Bár metodikájuk korszerűbb a korábbiaknál (oszlopkromatográfián alapszik), eredményeiket kétségessé teszi, hogy pácienseik esténként, otthonukban fogyasztották el a céklát, s a

reggeli, behozott vizelet értékelése történt meg, így tehát a betanin ténylegesen bevitt adagját a kísérletet végzők nem ellenőrizték.

Fentiek alapján szükségesnek tartottuk a BU ingadozásának vizsgálatát szigorúbb kísérleti feltételek között.

Vizsgálati anyag és módszer

Egy XIV. kerületi óvodában 28, középső korcsoportba tartozó, egymással rokoni viszonyban nem álló 4–5 éves gyermek, 1–2 hetes időközökben, összesen 3–10 ízben, közvetlenül reggeli (egységesen 200 g tejeskávé) után 100–100 ml ugyanazon konyhában készült céklalevet ivott. Bár a céklalevek minden esetben úgy készültek, hogy az apróra vágott cékla 24 órán át ecetes-cukros lében ázott, a kísérlet során a levek pigmenttartalmának állandósága nem volt teljesen biztosítható. A gyermekek reggeli előtt ürített vizeletét elöntöttük. Vizsgálatra mintát 2–2 1/2 óra múlva vettünk, mert előzetes tapasztalataink alapján ekkor van a pigmentkiválasztás csúspontja. A betanin szelektív fényelnyelő tulajdonságát használtuk fel. Pulfrich-fotométerrel a fényelnyelési maximum 530 nm körül mutatkozott. A vizelet saját színének jellemzésére, amely esetenként igen variabilis, extinkciót mértünk 660 nm-nél is, ahol a betaninnak gyakorlatilag nincs elnyelése. A két érték különbsége alapján egy ΔE értéket kaptunk ($\Delta E = E_{530} - E_{660}$), amely a vizelet betanin koncentrációjára jellemzőnek bizonyult. Az itatott lé mintáját minden kísérlet alkalmával fotometriás vizsgálattal ellenőriztük.

Eredmények

Számításaink szerint a céklalé pigmenttartalma és az ürített pigmentmennyiség között $P = 2\%$ -os valószínűségi szintet meghaladóan szignifikáns pozitív összefüggés áll fenn ($r = 0,72$; $P = 2\%$ -ra a kritikus $r = 0,7155$; $P = 1\%$ -ra $r = 0,7646$). Mivel a céklalé pigmenttartalma különböző időpontokban nem volt teljesen azonos, az ürített betanin mennyiségek átlaga is időpontonként változott. Hogy a céklalé pigmenttartalmának ingadozása okozta hatást az értékelés során figyelmen kívül hagyhassuk, az alapadatok bizonyos transzformációjára volt szükség. E transzformáció során kiszámítottuk az egyes időpontokban ürített pigmentmennyiségek átlagát és a megfelelő időpontok adatait a megfelelő átlagok százalékaként fejeztük ki. (Ily módon nemcsak a céklalé betanin tartalmának ingadozása okozta hatást, hanem az egyes időpontokban esetleg fellépett egyéb környezeti hatásokat is kiküszöböltük.) A célból, hogy matematikai statisztikai értékelést végezhessünk, csak azokat az egyedeket vettük figyelembe, kiknél legalább 8 adat állt rendelkezésünkre. Ahol 8 adat volt, ott 1-et az egyed különböző időpontokban ürített pigmentmennyiségeinek átlagával pótolunk, ahol 10 adat volt, ott az átlaghoz legközelebb eső értéket hagytuk el. Az így nyert adatokkal egytényezős varianciaanalízist végeztünk 16 egyedre, 9 ismétlésben (1. táblázat).

A matematikai statisztikai értékelés szerint tehát a kísérlet során a 7., 12., 14., 25. és 28. sorszámú személyek az átlagosnál (100,0-nál) szignifikánsan több, a 2., 5., 10., 11. és 20. sorszámú személyek pedig szignifikánsan kevesebb betanint ürítettek. Mindkét csoportban 3 fiú és 2 leány volt.

1. táblázat

A vizsgált egyedek mért $\Delta E \times 100$ értékei (arab számok) az I.—X. kísérlet folyamán és a transzformált átlagok (a szövegben leírt módon számítva)

Sorszám	I.	II.	III.	IV.	V.	VI.	VII.	VIII.	IX.	X.	transzformált átlag
<i>Értékelt adatok</i>											
1	4,4	4,1	14,7	6,2	6,5	4,5	—	3,2	1,0	2,1	109,44
2	4,4	2,1	2,9	1,4	2,2	1,5	5,1	5,3	—	1,2	64,55—
4	7,7	3,4	5,5	—	5,0	5,9	2,8	5,2	2,1	3,2	109,33
5	3,0	—	4,6	3,0	2,8	2,1	2,7	2,6	1,5	1,8	62,78—
7	6,8	3,7	14,1	—	3,4	2,6	11,2	3,5	2,7	—	126,89+
8	3,1	3,6	9,9	3,9	9,9	2,2	4,0	—	—	1,3	99,33
10	2,3	1,9	—	3,6	2,6	2,3	3,0	3,6	1,3	1,9	63,89—
11	2,6	4,8	5,4	2,6	2,1	1,8	3,4	4,1	1,3	2,0	70,55—
12	12,2	3,9	6,2	6,4	6,3	—	3,4	5,1	2,9	3,4	130,04+
13	3,2	4,9	3,8	5,2	4,5	4,4	9,8	4,5	2,3	2,4	108,56
14	4,2	3,5	8,3	6,9	8,0	9,6	3,3	4,4	—	—	129,11+
19	4,7	5,0	10,3	—	4,6	4,1	1,0	2,3	1,9	2,6	92,78
20	3,3	2,6	2,8	4,2	2,8	2,3	3,2	4,0	—	1,7	68,44—
21	3,8	4,0	7,8	—	5,6	3,0	4,2	4,4	1,3	1,7	89,22
25	10,6	6,4	14,7	5,9	7,6	5,6	8,4	6,1	3,0	1,9	155,44+
28	—	4,5	13,5	5,6	4,9	6,2	6,6	4,8	2,4	2,8	129,33+
											100,60*
<i>Hiányos adatok</i>											
3	5,6	3,7	6,9	3,6	4,9	5,9	—	—	—	—	
6	2,3	2,5	4,3	—	—	—	—	—	—	—	
9	4,9	3,0	—	—	2,8	—	—	3,5	2,2	2,7	
15	5,8	4,4	6,3	—	5,6	5,1	3,8	—	—	1,3	
16	—	6,4	—	5,4	—	5,0	4,1	8,9	2,9	—	
17	4,4	—	5,5	—	3,7	1,8	1,8	—	1,5	1,3	
18	1,5	3,6	6,6	1,9	2,5	—	—	—	—	1,1	
22	4,0	5,5	9,2	—	3,5	—	2,4	3,5	—	5,8	
23	3,9	2,7	4,6	—	3,8	2,5	3,3	—	6,7	2,8	
24	—	—	—	—	—	5,5	4,3	7,3	1,3	2,6	
26	—	2,2	—	5,6	—	1,9	4,8	—	2,7	4,3	
27	—	—	—	—	—	4,9	5,1	8,0	2,7	2,9	
Átlag	4,7	3,8	7,6	4,5	4,7	3,9	4,4	4,7	2,3	2,4	100,00**
										SzD	15,19
										1%	

Jelmagyarázat:

— vizsgálat elmaradt

+ az átlagosnál szignifikánsan több pigmentet ürítő egyedek

— az átlagosnál szignifikánsan kevesebb pigmentet ürítő egyedek

* az értékelt egyedek ürítési átlaga

** az összes vizsgált egyedek ürítési átlaga (= 100%)

Eredményeink tehát azt mutatják, hogy a betanin kiválasztásában bizonyos törvényszerűségek megállapíthatók. Vannak egyének, akik a többiekhez képest konzekvensen több és vannak, akik konzekvensen kevesebb pigmentet ürítenek (illetve mintájuk olyan alacsony ΔE értéket mutat, hogy ez az ürítés hiányát jelenti, l. korábbi munkáinkat [3, 4]). *Geldmacher—v. Malinckrodt* és *mtsai* ellenkező jellegű következtetése [6] szerintünk csak azt je-

lenti, hogy módszerükkel, vizsgálati feltételeik között, nem sikerült *kimutatni* ezt a konzekvenciát. Arra a kérdésre, hogy ez a többé-kevésbé következetesen megnyilvánuló BU elsősorban örökletes, vagy elsősorban környezeti faktorok befolyása alatt áll-e, az eddigi vizsgálatok alapján még nem lehet választ adni; az irodalomban található szélsőséges állásfoglalások helyett további kísérletes adatokra és azok megfelelő értékelésére van szükség.

Összefoglalás

1. Szerzők a betaninuria (BU) mértékének meghatározására korábban kidolgozott fotometriás módszerükkel 28 4–5 éves egészséges gyermek vizeletét vizsgálták egyedenként 3–10 alkalommal megitatott céklalé elfogyasztása után.

2. A különböző időpontokban készített céklalevek pigmenttartalmának ingadozása okozta hatást a nyert adatok megfelelő transzformálása segítségével kiküszöbölték.

3. A BU konstanciájának mértékét vizsgálva a 28 gyermek adatai közül csak azon 16 egyed adatait vették figyelembe, akik a 10 itatási kísérletből legalább 8 esetben értékelhetően részt vettek.

4. A kiválasztott 16 egyénre nézve 9 ismétléses egytényezős varianciaanalízist végeztek, mely szerint $P = 1\%$ -os valószínűségi szinten 5 gyermek az átlagosnál szignifikánsan több, 5 az átlagosnál szignifikánsan kevesebb betanint ürített. A betanin kiválasztásában tehát bizonyos következetesség megállapítható.

Szerzők köszönetüket nyilvánítják *Bors Jenő dr.* igazgató főorvos úrnak kísérleteik patronálásáért, *Martinovich Ferencné* vezető óvónőnek és munkatársainak a gyermekek vizsgálatának biztosításáért és *Csornai Károlyné* élelmezésvezetőnek a céklalevek konyhai elkészítéséért.

IRODALOM

1. ALLISON, A. C.—MCWHIRTER, K. G.: Two unifactorial characters for which man is polymorphic. *Nature*, Lond., 178: 748–749, 1956.
2. CATHALA, J.—MARTROU, P.—GRAS, L.: Sur le passage du pigment de la betterave rouge dans les urines. *Bull. Soc. pédiat.*, Paris, 37: 88, 1939.
3. FORRAI GY.—VÁGÚJFALVI D.—BÖLCSKEY P.: Betaninuria in childhood. *Acta Paed. Acad. Sci. Hung.*, 9: 43–51, 1968.
4. FORRAI GY.—VÁGÚJFALVI D.—BÖLCSKEY P.: Betaninuria vizsgálata budapesti gyermekpopulációban. *Orvosi Hetilap*, 109: 1821–1824, 1968.
5. GELDMACHER—V. MALLINCKRODT, M.—MENDNER, K.: Die Betaninurie. *Nachweis und gerichtsmedizinische Bedeutung*. *Dtsch. Z. gerichtl. Med.*, 56: 287–298, 1965.
6. GELDMACHER—V. MALLINCKRODT, M.—AIELLO, M. TH.—AIELLO, M. V.: Quantitative Erfassung und klinische Bedeutung der Betaninurie. *Z. klin. Chem. u. klin. Biochem.*, 5: 264–270, 1967.
7. HESS, A. F.—MYERS, W. C.: Carotinemias: a new clinical picture. *JAMA*, 73: 1743, 1919.
8. MABRY, T. J.—WYLER, H.—SASSU, G.—MERCIER, M.—PARIKH, I.—DREIDING, A. S.: Die Struktur des Neobetamidins. *Helv. chim. Acta*, 45: 640, 1962.
9. MABRY, T. J.—TAYLOR, A.—TURNER, B. L.: The betacyanins and their distribution. *Phytochemistry*, 2: 61, 1963.
10. RUH, H. O.—GARVIN, J. A.: Anthocyaninemia and anthocyaninuria. *Ohio St. Med. J.*, 20: 763, 1924.
11. SALDANHA, P. H.—FROTTA-PESSOA, O.—PEIXOTO, L. I. S.: On the genetics of betanin excretion. *J. Hered.*, Wash., 53: 296–298, 1962.

12. TUNNESSEN, W. W.—SMITH, CH.—OSKI, F. A.: Beeturia. Amer. J. Dis. Child., 117: 424—426, 1969.
13. WATSON, W. C.—LUKE, R. G.—INALL, J. A.: Beeturia, its incidence and a clue to its mechanism. Brit. Med. J., 2: 970, 1963.
14. WILCOX, M. E.—WYLER, H.—DREIDING, A. S.: Zur Konstitution des Randenfarbstoffes Betanin. Helv. chim. Acta, 48: 1134, 1965.
15. ZINDLER, G. A.—COLOVOS, G. C.: Anthocyaninuria and beet allergy. Ann. Allergy, 8: 603, 1950.

THE EXAMINATION OF INDIVIDUAL VARIABILITY OF BETANINURIA

by

Gy. Forrai, D. Vágújfalvi, A. Lutter and P. Bölcskey

(a) Authors by means of their earlier photometrical methods, examined the urine of 28,4—5 years old healthy children, after consumption of beetroot juice 3—10 times individually — in order to decide the extent of the betaninuria (BU).

(b) The effect caused by the variation of pigment content of beetroot juice samples, made in different terms, was eliminated by the help of adequate transformation of the data obtained.

(c) Examining the size of BU constancy — there were considered the data only of those 16 of 28 individuals, participated as evaluable at least 8 times of the 10 lo watering experiments.

(d) As far as the 16 individuals considered, an analysis of variance in 9 repetitions was performed. According to this on a probability level of $P = 1$ per cent 5 children excreted significantly more betanin than the average, and 5 significantly less of it. Consequently in the excretion of betanin a definite order can be stated. ↓

ИЗУЧЕНИЕ ИНДИВИДУАЛЬНЫХ КОЛЕБАНИЙ БЕТАНИНУРИИ

Г. Форраи, Д. Вагуйфальви, А. Луттер и П. Белчкеи

(а) С целью определить масштаб бетанинурии (БУ), авторы рассматривали заранее разработанной ими фотометрической методой урину 28 четырех-пятилетних здоровых детей таким образом, что дети еще перед рассмотрением пили по одному с три раза до десяти раза свекольного сока.

(б) Действие причиненное колебанием содержания пигмента в стекольном соку, изготовленном в разные сроки, выключили при помощи подходящей трансформации полученных данных.

(в) Рассматривая масштаб констанции БУ, имели в виду данные только 16 индивидуумов среди данных 28 ребят, которые минимум восемь раз участвовали в оцениваемом исследовании из десяти случаях, когда им дали пить.

(г) По 16 выделенным индивидуумам произвели 9 повторенных анализов вариации одного фактора; исходя на уровне вероятности $P = 1$ проценту, установили что 5 ребят испустили значительно больше бетанина среднего, а 5 ребят значительно меньше, значит, можно установить некоторую последовательность в выделении бетанина.

A STRUKTÚRA ÉS FUNKCIÓ SZEREPE AZ ÉLET KELETKEZÉSÉBEN

HORVÁTH SÁNDOR

ELTE Mikrobiológiai Intézete, Budapest

Béérkezett: 1969. május 12-én

Az egyes szakágak művelői a biológián belül előbb utóbb eljutnak azoknak a végső kérdéseknek a felvetéséhez, amelyek még nem tartoznak a filozófia illetékességi körébe, jelentőségük azonban rendszerint túlnő a szakág keretein. Ilyen kérdés, amelyet kiindulópontunknak választottuk, a baktérium fogalmának meghatározása.

A baktériumok viszonylag egyértelmű definíciója csupán az ultrastruktúrákutatók eredményei alapján vált lehetővé. Az elektronmikroszkópos vizsgálatok olyan állandó bélyegeket állapítottak meg, amelyek Staniernek és van Nielnek (1962) lehetővé tették egy általánosan elfogadható meghatározás kidolgozását. Mindketten a baktérium ultrastruktúrájából indultak ki és alapvető meghatározó bélyegnek többek között a baktérium-sejtmaghártya hiányát tartják. A baktérium egyéb sejtalkotói is, habár funkcionálisan léteznek (mitochondrium, kloroplastisz, stb.), alacsonyabb szerveződési és szervezetségi stádiumot mutatnak. Ez a szerveződés ugyanakkor nagyobb hajlékonyságot biztosít a baktérium számára általában a funkcionális alkalmazkodás mellett a strukturális alkalmazkodásra is. Ha ezt a szemléletet, a struktúra alapján történő meghatározást és csoportosítást kiterjesztjük az élővilágra, érdekes eredményekre jutunk, amelyek nem csupán az élet keletkezésére bolygónkon, hanem annak evolúciójára vonatkozóan is megfontolásra érdemes következtetéseket tesznek lehetővé. Szervezetségi szintjük alapján a következő felosztást tehetjük az élőlények között:

- | | | |
|--------------------------|----------------------|----------------------------|
| 1. Acellularia | 2. Cellularia | |
| 1.1. Virionta | 2.1. Prokaryonta | 2.2. Karyonta |
| 1.1.1. Virales | 2.1.1. Unicellularia | 2.2.1. Unicellularia |
| | 2.1.1.1. Bacteria | 2.2.2. Pluricellularia |
| ad. 2.2.1. Unicellularia | 2.1.1.2. Schizo- | ad. 2.2.2. Pluricellularia |
| 2.2.1.1. Algae | phyceae | 2.2.2.1. Plantae |
| 2.2.1.2. Protozoa | | 2.2.2.2. Animalia |
| 2.2.1.3. Mixomycetes ? | | 2.2.2.3. Fungi |

Vizsgáljuk meg sorban az egyes csoportok jellemzőit és a felosztás alapját. Az Acellularia a sejtszerkezet nélküli lényeket csoportosítja, ezekből pillanatnyilag a különböző vírusokat ismerjük. Jelenlegi felfogásunk alapján másodlagosan egyszerűsödött lények, amelyek az élet kialakulása után jöttek létre. Erre nem csupán metabolikus enzimrendszerük hiánya utal, hanem a

virion stabilizált, önreprodukcióra képes struktúrája is. A kérdés az, hogy fokozatos, parazitikus degenerációval, vagy spontán lysogeniával, ill. ehhez hasonló ugrásszerű folyamat eredményeként jöttek-e létre. A kérdést viszonylag nyitotta tette a nagyvírusok (Psittacosis-Trachoma-Lymphogranuloma csoport) átmenetinek tűnő jellege a paratrof, obligát sejtparazita baktériumok és a valódi vírusok között. Az újabb vizsgálatok azonban kimutatták szaporodásuk ciklikus, osztódásos jellegét, és fényt derítettek a paratrofizmus alapvető okára. A nagyvírusok csökevényes metabolikus enzimrendszerrel rendelkeznek, ellenben energiaparaziták. Ezek a felismerések lehetővé tették származtatásukat Gram (-) coccusokból, amelyek recens képviselője a Neisseria-csoport (Moulder 1966). A Virales és a Bacteria között a szakadék fennáll, amely felfogásunk szerint törvényszerűséget tükröz. A másik kérdés, amelyet a Virales-el kapcsolatban fel szoktak vetni, a vírusok élőlény-jellege. Míg Stanley (Kaplan, 1966) szerint ez ízlés dolga, sokan élettelennek, mások élőlénynek tekintik, a megoldást a két álláspont egyesítésében kell keresnünk. A vírusok élettelenek a sejten kívül és élővé válnak a sejtbe történő behatolásuk után, amely a sejt pusztulásával jár. Nem csupán metabolikus, hanem struktúrparaziták is.

A Cellularia-csoport két nagy alcsoportot tartalmaz. Az egyik, a Prokaryonta, nem rendelkezik valódi nucleussal, csupán maghártya nélküli nukleooiddal. Kloroplasztiszai sincsenek, az esetleges fotoszintetizáló pigmentjei kromatofórákban, kisebb strukturális egységekbe lokalizálva diffúzan helyezkednek el a sejtekben. Organellumok helyett organoidokat, illetőleg equivalentis funkcionális struktúrákat találunk (pl. a baktériumok sejtthártyája respirációs funkciót is ellát). Strukturális szerveződési szintjüket tekintve, az alacsony, ill. a legalacsonyabb minőségi szintet képviselik. Ez tette és teszi lehetővé, hogy az evolúció során strukturális átalakulást ne kelljen végrehajtaniuk, evolúciójuk néhány formális alaki tényezőtől eltekintve, amely egyébként is rendszerint a környezet függvénye (alak), csupán biokémiai jellegű. A két csoport, amelyet egymástól nehéz a prokaryontán belül megkülönböztetni, hiszen egyesekről vita folyik, hogy szintelen algák-e, vagy baktériumok (Pringsheim, 1963), élesen elhatárolható a karyontáktól.

Az Unicellularia Karyonta csoportja tartalmazza az algákat és a protozoákat. Egysejtűek, a sejtenbelüli szerveződés alapformái (pl. a sejtmag), fejlettebb szintet képviselnek. Maghárttyával, mitokondriummal, stb. rendelkeznek. Evolúciójuk intracellularis strukturo-funkcionális evolúció, az evolúció sejten belüli morfológiai jellemzőkben, amelyek meghatározott funkciókat hordoznak, jelentkeznek (sejt organellumok).

Az Unicellularia-ra jellemző, hogy bár két különböző szervezetségi szintet képvisel, megjelennek rendszerint az evolúciós sor *végén* tendenciák, amelyek a Pluricellularia szerveződési formái felé mutatnak. Az elért, ill. eredetileg kialakult szerveződés azonban elvi akadályt jelent a minőségileg magasabb szerveződési formát elválasztó határ átlépéséhez. Megjegyzendő, hogy nem teljesen tisztázott a Myxomycetes helye, ill. kategóriája. Habár általában a Fungi-hoz, vagy a Protozoa-hoz sorolják, nem kizárt itt harmadik csoportként való felfogása sem. A Pluricellularia képviseli a legmagasabb szerveződési szintet. Intercellularis morfológiai differenciáció zajlik le, amely organumok képződéséhez vezet az evolúció során. A soksejtű organizmus sejtjeit tartós és mélyreható kölesönhatás köti egymáshoz, amely feltételezi az organizmus-kénti összetartozást. A sejtek maguk morfológiai evolúciót nem végeznek,

csupán alkalmazkodnak morfológiailag és funkcionálisan is az organizmus, illetőleg az organumok evolúciójához.

Az evolúció kezdetén több típusa alakult ki a Pluricellularianak: a növények, az állatok és nyugodt lelkiismerettel ide sorolhatjuk azonos szinten a gombákat is. Nyitva lehet egyúttal hagyni a lehetőséget, hogy részletesebb analízis eredményeként több csoport kerülhet ebbe a kategóriába ezen a szinten.

Áttekintettük strukturálisan a jelenlegi ismeretek alapján az élőlények csoportjait. Struktúrájuk élesen elválasztja őket egymástól és kialakult formájukban valószínűtlenné teszik az egymásból való származtatást. Itt megkockáztathatjuk azt az állítást, hogy egymás mellett, többé-kevésbé egymástól függetlenül jöttek létre a bioszféra egymással harmonizáló részeként. Az általános összekötő kapocs a funkció. Az általános értelemben véve két alapvető folyamat zajlik le minden élőlényben. 1. Az energianyerő folyamatok. 2. A bioszintézis. A két folyamat térben és időben nem elkülönülve, hanem összefonódva jelentkeznek, az egyes folyamatokban résztvevő anyagok eseteként bármelyik folyamat részeseivé válhatnak, funkcionálisan azonban egyértelműen elkülöníthetők. A bioszintézis általában endergon folyamat, az energiát szolgáltató, lebomlott saját struktúrák és az új struktúrák felépítését jelezzük vele. Az energianyerő folyamatok: redox folyamatok és az energiát szolgáltatják az előbbiekhöz. Az összekötő kapocs a kettő között a nagyenergiájú foszfátkötések. Amennyire különböznek strukturálisan az egyes csoportok, annyira közösek a funkcionális alapfolyamatok. Példaként az energianyerő folyamatokat hozzuk fel. Az alapmechanizmus: a hidrogéndonor lépésként oxidálódik, az elektronok vagy a [H] gyök pedig a transzportrendszereken keresztül a hidrogénacceptorhoz jut. Elvileg mindegy, hogy a H-donor szerves-e vagy szervetlen, organotróf vagy kemotróf-e a folyamat. Elvileg mindegy a H-acceptor jellege is. Gyakorlati szempontból meg kell különböztetnünk szerves (erjedés) és szervetlen (légzés) H-acceptorokat. Az utóbbit kénytelenek vagyunk még két részre, az aerob légzésre (H-acceptor: O_2) és anaerob légzésre (H-acceptor: NO_3^- , SO_4^{--} stb.), vagyis a nitrát- és egyéb redukálóakra felosztani. Ez a felosztás (Sistrom, 1962) feleslegessé teszi az asszimiláció és disszimiláció bizonytalan megfogalmazását és elmossa a látszólag merev különbséget az autotróf és heterotróf organizmusok között. Fotoszintézist végzők (fototrófok) csak annyiban különböznek a redukált állapotú vegyületeket oxidálóktól (kemotrófok), hogy az élőlény egy előzetes lépésben előbb redukálja az energianyerő folyamatba H-donorként belépő molekulát.

Az alapvető életfolyamatok képe így általános érvénnyel, leegyszerűsítve jelentkezik és a struktúrák, valamint a funkcionális folyamatok jelenlegi képe alapján következtetéseket vonhatunk le a múltra, vagyis az élet keletkezésére és evolúciójára vonatkozóan.

Ehhez két tényezőt kell még figyelembe vennünk. Az egyik az élet lényegének meghatározása, a másik a Bauer Ervin által felállított energetikai elv (Bauer, 1967). A kettő kitűnően kiegészíti egymást és összekapcsolásuk mindkettő mélyebb megértéséhez vezet.

Az élet lényegének a meghatározásához a természettudományok és a filozófia határterületére kell figyelmünket fordítanunk. Ha az életjelenségek alapján (ingerlékenység, szaporodás stb.) kívánnánk az élet lényegét meghatározni, úgy csupán annyit mondanánk más szavakkal, hogy az élőlény él.

Az élet lényegét az anyag lényegében, annak állandóan mozgó változó jelle-
gében kell keresnünk. Itt két fogalmat előjáróban meg kell különböztet-
nünk: Az anyag mozgásformáit és anyagi rendszerek fejlődését. Az előbbieket
az anyagi részek és energiataralmuk függvényében jelennek meg és alakul-
nak át egymásba, az anyagi rendszerek fejlődése ezeknek a mozgásformáknak
változásai következtében jön létre. A mozgásformákat két fő csoportba oszt-
hatjuk, az élettelen és az élő anyag mozgásformáira. Az előbbi csoportba tar-
toznak a fizikai és kémiai, az utóbbiba a biológiai és társadalmi mozgásfor-
mák. Az ún. mechanikai mozgásforma tulajdonképpen nem mozgásforma,
hanem az anyagi rendszerek kölcsönhatásainak eredménye, amelyek alapjául
az anyagi rendszerekben az anyag mozgásforma-állapota szolgál. Mechanikai
mozgást végezhetnek és végeznek is az állandóan ható kölcsönhatások követ-
kezményeképpen élettelen és élő rendszerek egyaránt.

Az élettelen anyag mozgásformái bennünk pillanatnyilag csupán az
élő anyag-mozgásforma első típusa, a biológiai mozgásforma kialakulása és
jellege szempontjából érdekelnek, ezért csupán a feltétlenül szükséges mérték-
ig foglalkozunk vele. A mozgásforma az anyag önmozgásának kifejeződése.
Ez alól a biológiai mozgásforma sem kivétel. A biológiai mozgásforma felté-
telezi megfelelően komplex, nagy szervezetségű struktúrával rendelkező
anyag létezését, amely ezeknek a feltételeknek a teljesülése esetén *élni fog*,
minden külső ok nélkül. Az anyag önmozgása megfelelő szintű szerveződés
esetén biológiai mozgásformába esap át, élővé válik. Itt szeretném hangsú-
lyozni a struktúra szerepét három okból. A struktúrákba szerveződés előfel-
tétele az élő anyag munkavégzésének, pl. rövidrezárt galvánelemekkel mun-
kát nem lehet végezni. A munkavégzéshez mindig térben elkülönített energia-
szintkülönbségre van szükség. Az élő szervezet munkavégzését más részről
a lebomló struktúrákat addig fenntartó energiákból fedezi. Harmadszor pe-
dig térbeli elkülönítésre van szükség az élőlényben lezajló folyamatok térbeli
és időbeli meghatározására.

Fentiekből önként következik, hogy a funkciók, amelyeket a kialakult
struktúrák végeznek, nem feltétlenül egyetlen struktúra-rendszerben végez-
hetők el. A különböző struktúrák különbözhetnek egymástól, azonban lehe-
tővé kell tenniük ugyanazon funkciók gyakorlását, amelyek a fehérjealapú
életet hordozó anyag magas szervezetségi fokát biztosítják. Ez az oka annak,
hogy míg ultrastruktúrában olyan könnyen észlelhető különbségeket találunk
a baktériumok és pl. az élesztők vagy az állati sejt között, funkcionális alap-
folyamataikban az előbb idézett közös nevezőre hozhatók. Az élet bolygón-
kon két ultrastrukturális szinten és több szerveződési formában stabilizáló-
dott, amelyről már vázlatos áttekintést adtunk.

A struktúra szerepének boncolgatásakor még egy dolgot kell figyelembe
venni. Az élő rendszer struktúrái nincsenek egysúlyi állapotban, fenntartá-
sukhoz energia szükséges, állandó munkavégzés (Bauer, 1967). Anyagszerét,
itt az energianyerő folyamatokra gondolunk elsősorban, azonban már *élő*,
energiák árán fenntartott struktúrák segítségével lehet végezni. Ebből auto-
matikusan következik egy primer energiaforrás feltétlen szükségessége.

Mielőtt továbbmennénk, vegyük szemügyre a kérdést kozmikus olda-
láról. A biológiai mozgásforma definíciójából nem feltétlenül következik a
fehérjének, mint az élet hordozójának monopóliuma. Elvileg lehetséges más,
a bolygónkon létrejöttől eltérő alapú élet, ha az anyag szervezetsége, struk-
túrája, energiataralma kiváltja a biológiai mozgásformának megfelelő moz-

gást. Engels ismert tételének, hogy az élet a fehérje létezési módja, ez nem mond ellent. Bolygónk viszonyai között a fehérjékből álló komplex rendszerek váltak az élet hordozóivá. Míg egyik oldalról megengedjük nem fehérje-alapú életformák létezését, másik oldalról le kell szögezni, hogy elvileg a fehérjealapú élet sem bolygónk privilégiuma. Ezt a bolygó természeti adottságain kívül meghatározza a naprendszerben elfoglalt helyzete is. A fehérjealapú élet számára csak olyan bolygó jöhet számításba, amelyek a biológiai zónán belül fekszik, vagyis ahol a naptól való távolság a víz forrás és fagyáspont közötti hőmérsékletét lehetővé teszi.

Térjünk vissza a földre és vegyük szemügyre az élet keletkezésének földi feltételeit. Az első eldöntendő kérdés az volt, hogy lehetséges-e egyáltalán aminosavaknak, ill. fehérjéknek létrejötte szervesetlen anyagokból. Miller közismert kísérlete formailag is válaszolt erre a kérdésre. A második kérdés az, hogyan jöttek létre ezekből a szerves alapvegyületekből az első, valóban élő lények. Oparin az érdem, hogy részletes hipotézist dolgozott ki a szerves vegyületek evolúciójáról, a koacervátumok képződéséről és az ezekből kialakuló első élőlények megjelenéséről. Elméletében fontos szerepet játszik a természetes kiválogatódás (Oparin, 1960). Sajnos, elméletét statikusnak kell tekintenünk, és nézetünk szerint bizonyos mértékig visszavetítése az evolúció napjainkban széles körben elterjedt felfogásának. Ez a felfogás nélkülözi az evolúció mozgatórugóinak magyarázatát és elhanyagolja olyan tényezők szerepét, mint az élő szervezetek létének energetikai feltételei. Oparin elméletének néhány gyenge pontját az alábbiakban lehetne összefoglalni. 1. Nincs szükség annak feltételezésére, hogy az élet fontosságú szerves vegyületek a szerves kémiai tankönyvekben általában tárgyalt sorrendben alakuljanak ki. Valamennyi vegyület létrejöhet egyidőben, egymás mellett is. Ez csupán kiindulóanyagok, megfelelő katalizátorok és energia kérdése. 2. A koacervátum Oparin szerint dinamikus egyensúlyban van a környezetével. Az élőlény nem lehet sem dinamikus, sem statikus, sem egyéb egyensúlyban környezetével. Abban a pillanathban, amikor egyensúlyba kerül, megszűnik élni. Az élet állandóan munkát végez az egyensúly ellen. 3. Oparin szerint az élet kialakulása szervesetlenből a szerves vegyületeken keresztül az élő anyagig a természetes kiválogatódás segítségével megy végbe. Meg kell azonban állapítanunk, anélkül, hogy a kérdést itt most részletesebben elemeznünk tudnánk, hogy a darwini természetes kiválogatódás elmélete még a már létrejött élet evolúcióját sem írja le kielégítően, hanem annak törvényei csak az evolúció különböző lépcsőfokain hatnak és érvényesek. Ez érthetővé teszi, hogy a fejlődést fokozatos átmenetekben belüli minőségi ugrásokkal ábrázolja. Mivel jelen dolgozatunkban csupán az élet keletkezési körülményeit elemezzük bizonyos szempontból és az evolúcióra abból szükségszerűen fakadó következtetésekre nem térhetünk ki, csupán arra szorítkozunk, hogy felhívjuk a figyelmet a közvetlen minőségi ugrások lehetőségére és szükségességére.

Az élet keletkezését lehetővé tevő primer energiaforrások száma korlátozott. A radioaktív bomlás energiája az egyik lehetőség. A recens élőlények közül egyik sem tudja a radioaktív bomlás energiáját hasznosítani, sőt, határozottan károsítja az élőlény struktúráit. Nincs okunk feltételezni, hogy a múltban másképp lett volna, ezért ezt a lehetőséget számításán kívül hagyhatjuk. Másik lehetőség a bolygó geokémiai fejlődése során létrejött vegyületekben rejlő energia felszabadítása, ill. felszabadulása. Esetlegességé és meggyőző példák hiánya miatt ez sem jöhet szóba. A harmadik lehetőség a Nap

sugárzó energiája. A fotokémiai reakcióknak az egész bolygóra kiterjedő egyetemes és állandó jellege, valamint az a tény, hogy a bioszféra számára a napenergia biztosítja jelenleg is az energiatartalmú, redukált állapotú vegyületek létrejöttéhez az energetikai feltételeket, önként kínálja a megoldást.

Mielőtt továbbmennénk, meg kell állapítanunk néhány elvet az életről, mint jelenségről, amelyek segítségünkre lehetnek a továbbiak során. 1. Az élet nem véletlen jelenség. A bolygón, ha a feltételek adva vannak, annak meghatározott fejlődési szakaszában szükségszerűen megjelenik. 2. Az élet keletkezése nem véletlen jelenség. Nem elszigetelten, különlegesen kedvező körülmények véletlen összetalálkozása esetén egy, vagy két helyen jön létre, hanem gyakorlatilag planetáris méretekben. 3. Az élet vizes fázisban (az ósóceánban) jön létre. Annak a kérdésnek a boncolgatása, hogy az élet első megjelenési formái autotróf, vagy heterotróf jellegűek voltak, nem járulhat hozzá érdemben problémánk megoldásához, mert a) az élet létrejöttéhez energiaforrásra volt szükség és az első formák nem sorolhatók egyik kategóriába sem, b) a kettő között elvi különbség nincs, a fotoredukció (fototrófok) a bioszférán belüli specializáció eredménye. 4. Az élet keletkezése során nem élőlények, hanem a bolygó bioszférája jön létre. Természetesen nem misztikus értelemben, a világorganizmus értelmében, hanem a kialakuló térbeli és időbeli összhangot jelezve a kifejezéssel. Az élet keletkezésének fő fizikai és kémiai feltételeit az alábbiakban foglalhatjuk össze:

1. Megfelelő klimatikus viszonyok.

2. Különböző nagymolekulájú szerves vegyületek nagy koncentrációja.

3. Megfelelő energiaforrás (a nap sugárzó energiája).

Ezeknek a feltételeknek együttes megléte esetén az élő anyag kialakulása lehetséges és ezek a feltételek a földtörténet meghatározott szakaszán létrejönnek. Az élet keletkezése, habár pillanatszerű és ugrásszerű, összességében mégis hosszú folyamat, mert az élet számtalanszor és számtalan helyen létre jött ugyan, de nyomban, vagy rövid idő alatt el is pusztult. Ezért újra a bioszféra fogalmához kell nyúlnunk, amely már stabil életformákat tartalmaz. Az első életjelenségtől a bioszféra kialakulásáig eltelt időt négy szakaszra oszthatjuk.

1. szakasz. Az ósóceánban azok a nagymolekulájú szerves építőkövek, amelyekből olyan instabil, komplex struktúrák jöhetnek és jönnek létre a napsugárzás energiája segítségével, amelyek energiák feláldozása árán szerkezetüket ideig-óráig megőrzik, bonyolult komplexeket képeznek, és az elhasznált energiát a napsugárzás közvetlenül pótolja. Ezek a struktúrák a napenergiát egyúttal akkumulálják is, de azonnal munkavégzésre használják fel. Az élet, hasonlattal élve, fel-fellobban, hogy azon nyomban, vagy rövid idő után kialakuljon. Csak a napsugárzás időtartama alatt és annak közvetlen hatására zajlanak le ezek a folyamatok.

2. szakasz. Azok a komplexumok, amelyeknek szerkezete ezt lehetővé teszi, összekapcsolódnak, energetikai rendszerük egyesül, és lehetővé válik, hogy a közvetlen napsugárzás megszűnte után is struktúrelemeik lebomlása árán nyert energiájuk segítségével egy ideig éljenek, fenntartsanak instabil struktúrájukból annyit, amennyi elég élő anyagként való létezésükhöz. Ez egyúttal annyit jelent, hogy élőlények végtelen változata jön létre, hogy elpusztuljon, és többé soha meg ne jelenjen. Nem csupán a struktúra, hanem a forma is instabil.

3. szakasz. Az élő a nyag szervezetsége különböző strukturális variá-

ciókban a megfelelőek összekapcsolódása során olyan nagyságrendet ér el, hogy az életfolyamatokat a napsugárzási szünet (éjszaka) alatt is fenn tudja tartani. Egyrészt a napsugárzás megindulása után képes egyszer vagy többször regenerálódni, másrészt szétesik. Ezek közül egyes egyedileg stabilizálódott lények képesek a szétesett, de részeikben energiát tartalmazó komplexumokat bekebelezni és lebomlásuk során felszabaduló energiájukat felhasználni. Kialakul az energetikai rendszer optimális nagysága a sejt nagyságrendjében, magánosan, vagy aggregátumokban. A rendszerek növekedésre képesek, mert a második napon nem a nullszintről indulnak. Megfelelő nagyság elérése esetén szétesnek két külön rendszerre, amely egymástól teljesen eltérő felépítésű is lehet. Az egyes egyedek végtelen variációja jön létre, amelyek nem tudják reprodukálni önmagukat, és egyéni életük pusztulásával a szervezeti forma is elpusztul.

4. szakasz. Megjelennek a nukleinsavak, mint az osztódás szimmetriáját biztosító tényezők. A nukleinsavak biztosítják a kialakult forma, az azt felépítő struktúrformák stabilizálását és reprodukálását. Kialakul a szexuális reprodukció egyes formáknál, amely járulékos biztonsági faktor a forma stabilizálásához. A stabil, egynemű formák szaporodásával az instabil (nem reprodukálható) formák eltűnnek, a szervesanyagtartalom a vizes fázisból eltűnik (a stabil formák már nem esnek szét) ezért a közvetlen napsugárzás jelentősége, mint energiaforrás megszűnik. A stabil fototróf formák veszik át az energiagyűjtő és átalakító szerepét, a nem fototrófok a fototrófok rovására jutnak energiához. Megjegyzem, a stabil forma elnevezés az élőlény szerveződési formájára vonatkozik, nem érinti struktúraelemeik alapvetően instabil voltát, melyek fenntartásához állandóan energiára van szükség. A stabil formákkal létrejön a bioszféra, és megindul az evolúció. A stabilizálódott szervezeti formák közül a Prokaryonta alacsonyabb szintet képvisel, evolúciója biokémiai, szexuális szaporodása nincs, és nem is lehet. A forma a többihez képest kevésbé stabil, de ez a fennmaradását nem befolyásolja. A kialakult formákat a bevezetésben már tárgyaltuk. Itt csak arra szeretnénk rámutatni, hogy ezek léte közvetlen összefüggésben van az élet keletkezésével. Szerveződési formájuk különbözősége ellenére a bioszférán belül kialakult összhangban vannak egymással, funkcionális alapfolyamataik megegyeznek, és evolúciójuk azonos törvények szerint zajlott le. Fejtegetéseinket abban a meggyőződésben tettük, hogy a modern biológia olyan eredményeket tud már felmutatni, hogy lehetővé vált megkísérelni bizonyos alapvető problémák elméleti megközelítését.

Összefoglalás

Az ultrastruktúrákutatók eddig elért eredményei lehetővé teszik az élőlények rokonsági kapcsolatainak mélyebb vizsgálatát. A megszerzett ismeretek arra mutatnak, hogy habár funkcionálisan azonos folyamatokat találunk a különböző csoportoknál, több csoportot különböztethetünk meg az ultrastrukturális szerveződési szintek alapján. A baktériumok és kék algák alkotják azt a csoportot, ahol az élő anyag alacsonyabb szerveződési szinten stabilizálódott, egysejtűek, és evolúciójuk biokémiai. A valódi sejtmaggal rendelkezők közül az egysejtűek evolúciója már morfológiai is, de ez az evolúció intracelluláris morfológiai evolúció. A többsejtűek evolúciója intercelluláris

differenciáción alapul. A teljesség kedvéért megemlített vírusok, amelyek szekunder lények, szerző véleménye szerint sejten kívül élettelenek, sejten belül minőségileg új élő rendszert alkotnak a gazdaszervezettel. Rokonsági kapcsolatuk a baktériumokkal nincs, a nagyvírusok (Chlamydiae csoport) bakteriális eredetű energiaparaziták, melyek nem hozhatók összefüggésbe a metabolikus- és struktúrparazita vírusokkal. A szerző az egyes csoportok áttekintése után annak a véleményének ad kifejezést, hogy a különböző szerveződési szinteket az élő anyag keletkezésének idejére kell visszavezetni, azok egymásból nem vezethetők le. A Bauer-elv alkalmazásával ezeknek a formáknak létrejötte elméletileg megindokolható. Ez egyúttal az élet keletkezésének magyarázatához megköveteli nem csupán megfelelő körülmények, elegendő szerves anyag jelenlétét, hanem megfelelő, egyetemesen ható energiaforrás létét is. A napsugárzás szerepét, mint energiaforrását figyelembevéve, a kapott kép némileg eltér a statikus koacervátum-elmélettől. Az élet megjelenése szükségszerűvé válik planetáris méretekben, és a bioszféra kialakulása több fázisban megy végbe, ahol fontos szerep jut a különböző struktúrák létrejöttét lehetővé tevő sugárzó energiának. Azonos funkciót több struktúra is elláthat, és ezek stabilizálódásuk után fennmaradnak. Az élet keletkezésének a Bauer elv alkalmazásával kialakított szemlélete az evolúció eddigi képének módosítását is meg fogja kívánni.

IRODALOM

1. BAUER, E. (1967): Elméleti biológia. Akadémiai Kiadó, Budapest.
2. KAPLAN, R. W. (1965): Die heutige Erforschung der Grundmerkmale des Lebens durch die Biologie. In: Naturwissenschaft von Heute. Bertelsmann Verlag, Gütersloh.
3. MOULDER, C. (1966): The Chlamydiae-group. Advances (in) Applied Microbiology. Academic Press, London.
4. OPARIN, A. (1963): Das Leben, seine Natur, Herkunft und Entwicklung. Fischer Verlag, Jena.
5. PRINGSHEIM, E. G. (1963): Farblose Algen. Fischer Verlag, Jena.
6. SISTROM, W. R.: (1963): Microbiol Life. Modern Biology Series. Holt, Rinehart and Winston, New York.
7. STANIER, R. Y. VAN NIEL, C. B. (1962): The Concept of a Bacterium. Arch. Mikrobiol. 42: 17-35.

THE ROLE OF THE STRUCTURE AND FUNCTION IN THE ORIGIN OF LIFE

by

S. Horváth

The results in ultrastructure research achieved up-to-now, make the examination of the relationship of living organisms possible on a higher level. Though functionally there are the same processes in the different groups, the knowledge, we have got, indicates, that we can differentiate several groups on the basis of ultrastructural organizatory levels. Bacteria and blue algae form the group, where living material was stabilized on a lower organizatory level. These are unicellulars and their evolution is a biochemical one. The evolution of the protists having a real nucleus seems to be already morphological, but this is an intracellular, morphological development. The development of multicellulars is based on an intercellular differentiation. In author's opinion: the viruses which are secundar beings, are inanimate out of the cell; inside the cell they form a qualitatively new living system with the host organism. They are not in relationship with bacteria. Large viruses (group of Chlamydiae) are energy parasites of bacterial origin, which are not correlated to metabolic and structure-parasite viruses. After

surveying all the groups author states the following: the different organizatory levels must be originated from the period of the formation of living material; they cannot be originated from each other. The coming into being of these formations can be motivated theoretically by applying the Bauer-principle. For the explanation of the origin of life it requires at the same time not only the presence of adequate circumstances, and enough organic material, but the existence of an adequate and generally effecting energy-source, too. Considering the role of solar radiation as an energy-source, the picture somewhat differs from the static coacervate-theory. The appearance of life becomes necessary in planetaric measures. The formation of biosphere takes part in several phases, where the radiating energy, which makes the coming into being of different structures possible, plays a great role. The same functions can be performed by several structures, and they will survive after their stabilization. The view of the origin of life, applying the Bauer-theory, will demand the modification of the present comprehension of evolution.

ЗНАЧЕНИЕ СТРУКТУРЫ И ФУНКЦИИ ПРИ ВОЗНИКНОВЕНИИ ЖИЗНИ

III. Хорват

Достигнутые до сих пор достижения в исследовании ультраструктуры позволяют более глубокое изучение родственности живых существ. Полученные знания указывают несмотря на то, что находятся тождественные процессы у разных групп, все-таки мы можем дифференцировать больше групп на основе ультраструктурных организующихся уровней.

Бактерии и синие водоросли формируют ту группу, в которой стабилизирован живой материал на более низком организующемся уровне; они являются одноклеточными и имеют биохимическую эволюцию. Среди клеток, владеющих действительными ядрами, развитие одноклеточных морфологическое. Но это развитие является внутроклеточным, морфологическим. Эволюция многоклеточных основывается на межклеточной дифференциации.

Вирусы, как вторичные существа, по-мнению автора, вне клеток оказались неживыми, а внутри клеток они формируют по качеству новую живую систему с организмом хозяина. У них нет родства с бактериями, крупные вирусы (группа Chlamidial) являются энергическими паразитами бактериального происхождения, не имеющие корреляцию с метаболическими и структурнопаразитными вирусами.

Рассматривая все группы автор судит, что различные организующийся уровни необходимо сводить к времени возникновения живых веществ, они не выводины друг из друга. Возникновение этих форм теоретически объясняется применением принципа Бауэра.

Это требует совместно к объяснению возникновения жизни не только наличия адекватных условий, достаточного органического материала, но и существования соответствующего универсально действующего источника энергии.

Учитывая роль инсоляции, как источник энергии полученный образ немного различается от теории статичного коацервата. Появление жизни необходимо в планетарных масштабах, и возникновение биосферы происходит в больших фазах, в чем важную роль играет радиационная энергия, позволяющая развитие разных структур.

Одну и ту же функцию могут выполнить разнovidные структуры, и они останутся по их стабилизации.

Оформленный взгляд с применением принципа-Бауэра, возникновение жизни требует модификации образа эволюции.

BESZÁMOLÓ

A MAGYAR BIOLÓGIAI TÁRSASÁG 1969. ÉVI KÖZGYŰLÉSÉRŐL

A Magyar Biológiai Társaság 1969. május 28-án tartotta meg évi közgyűlését. A közgyűlésnek az adott különös jelentőséget, hogy mivel a tisztségviselők négy évre szóló megbízása lejárt, új választásokat kellett kiírni.

A közgyűlés Dr. Törő Imre akadémikusnak, a MBT elnökének alábbi elnöki megnyitójával kezdődött.

Tisztelt Közgyűlés!

A mai közgyűléssel Társaságunk életében négy éves ciklus zárul, indokolt, hogy visszatekintsünk erre a négy évre, és részletesen elemezzük munkánkat.

Gondolatainkat egy kérdés köré csoportosíthatnánk: betölti-e Társaságunk azt a funkciót a magyar biológiában, amelyet az Alapszabályok értelmében elvárhatunk és elvárhatnak tőle?

Tekintsük át működő egységeinket:

Általános Biológiai Szakosztály
Állattani Szakosztály
Botanikai Szakosztály
Embertani Szakosztály
Gerontológiai Szakosztály
Biometriai Szekció
Didaktikai Szekció
Humánbiológiai Szekció
Protozoológiai Szekció
Szövettenyésztési Szekció
Debreceni Osztály
Szegedi Osztály

valamint a folyóiratok:

Anthropológiai Közlemények
Állattani Közlemények
Biológiai Közlemények
Botanikai Közlemények

Az elmúlt négyéves ciklus alatt Társaságuk szervezeti egységeinek életében említésre méltó változások álltak be. Bizonyos integrálódás figyelhető meg az Általános Biológiai Szakosztálynál, míg a Botanikai Szakosztályban éppen ellenkezőleg, két szekcióra való differenciálódás alakult ki, ill. vált véglegessé. Az elmúlt 4 éves ciklus időszakában alakult meg hivatalosan is a Biometriai Szekció. Erre az időszakra esik a Humángenetikai Szekció kibontakozása és a Didaktikai Szekció komoly fellendülése. Az elmúlt évben szüntettük meg Hisztokémiai Szekciónk működését, és indítottuk el helyette a Szövettenyésztési Szekciót. Ugyancsak az elmúlt ciklus során sikerült rendeznünk a Debreceni Osztály problémáit, amely Osztály az elmúlt évben már aktívan dolgozott.

A Társaság szakosztályainak, szekcióinak, vidéki osztályainak rendezésében megtartott szaküléseken számos előadás hangzott el. Az utolsó 10 évről áll rendelkezésünkre összehasonlító adat:

Év	70 ülésen	250 előadás
1959	70	277
1960	66	302
1961	70	280
1962	64	185
1963	45	277
1964	69	245
1965	67	257
1966	65	212
1967	65	230
1968	70	

A felsorolt 10 év alatt tehát 651 szakülésen összesen 2515 előadás hangzott el, évenként átlagosan 65 ülésen 251 előadás. Az előadások mennyisége a most lezárult négy éves ciklusban nem változott jelentősen, úgy tűnik, hogy a szervezeti egységek munkája kialakult, megállapodott, az előadások száma évenként mintegy 210—250 között stabilizálódott.

Az utolsó négy éves időszakban két Vándorgyűlést rendeztünk: 1966-ban Pécsen, dr. Lissák Kálmán akadémikus elnökletével, sejtbiológia főtémával, és 1968-ban Gödöllőn dr. Fábíán Gyula professzor elnökletével, produkcióbiológiai főtémával. Mindkét Vándorgyűlést sikeresnek könyveltük el a mintegy 100—100 előadással. A vándorgyűlések anyaga angol nyelvű kivonatok formájában megjelent az Acta Biologica-ban. Vándorgyűléseink, ha sikerültek is, akad még sok javítani valónk.

Az itt értékelt négy éves időszakra esik a Didaktikai Szekció évenként megrendezett két napos konferenciájának, az ún. Tantárgypedagógiai Napok országos jellegű konferenciává való kifejlesztése. 1966-ban Budapesten az Eötvös Loránd Tudományegyetemen, 1967-ben a Pécsi Tanárképző Főiskolán, 1968-ban az Egri Tanárképző Főiskolán rendezték meg e konferenciát, 1969-ben pedig Budapesten, az MTA Pszichológiai Intézetével közösen. Az elmúlt két alkalommal előre kiadtuk már az előadáskivonatokot is.

A Társaság tagságának létszáma 1968. december 31-én 651 fő volt. Érdemes visszatekinteni a taglétszám alakulására, amelyre vonatkozóan hét évre visszamenőleg van pontos adatunk (mindig a december 31-i állapot):

1962	693 fő	1966	711 fő
1963	719 fő	1967	581 fő
1964	729 fő	1968	651 fő
1965	751 fő		

A tagsági létszám ilyen alakulása összefügg azzal a ténnyel, hogy a többéves tagságdíj-elmaradásban levő tagjainkat többször felkértük, majd felszólítottuk tagdíjelmaradásuk rendezésére, majd amikor erre sem reagáltak, megkérdeztük őket, hogy kívánna-e kilépni a Társaságból, és ha erre sem jött válasz, töröltük őket a tagnyilvántartásból. Néhány esetben ebből sértődés keletkezett, ami sajnálatos a Társaság élete szempontjából. Ugyanakkor tudomásul kell vennünk, hogy a Társaság zavartalan működése csak úgy lehetséges, ha az évi tagdíjainkat rendszeresen befizetjük. Ezt szorgalmazza minden alkalommal a felügyeleti szerveinktől érkező revízió is. — Úgy tűnik, a mostani 650 körüli taglétszám reális.

Az elmúlt négy év folyamán két kiváló tagtársunkat tüntette ki a Társaság közgyűlése „tiszteleti tagsággal”: Dr. Dudich Endre professzort, az MTA rendes tagját, az Állattani Szakosztályban, ill. néhai Dr. Bartucz Lajos professzort az Embertani Szakosztályban végzett kiemelkedő munkássága elismeréséül.

Örömmel emelhetjük ki azt a tényt, hogy az idősebb és a középkorú, szakmájukban vezető szakembernek számító tagtársak mellett igen sok fiatal kolléga vesz részt aktívan a Társaság szaküléseinek programjában. A legtöbbszörüknek a Társaság szakosztályai, szekciói jelentik az első nyilvános szereplést. A szaküléseken megnyilvánuló kritikai szellem a szóbeli kritikái fórum funkcióját tölti be, és nagyban hozzájárul a fiatal kollégák szakmai fejlődéséhez, kibontakozásához. Örömmel nyugtázhattuk a két legutóbbi Vándorgyűlésen a fiatal kollégák nagy létszámú és eredményes szereplését. Az elhangzott előadások nagyobb részét folyóirataink közlik, tehát az írásos publikációt is elősegítjük.

Folyóirataink küzdenek mindazokkal a nehézségekkel, amelyekkel manapság valamennyi hazai folyóiratunk küzd: a terjedelem kicsi volta, a hosszú nyomdai átfutási idő stb. Az évi 12 ivnyi terjedelem valóban kevés, és ez különösen az Anthropologiai Közleményeket sújtja, hiszen a többi szakmának van Actája és további publikációs lehetősége. Pillanatnyilag azonban aligha várható terjedelem-növelés. — A folyóiratokban megjelenő tanulmányok szak-

mai színvonal, a tanulmányokban közölt eredmények dokumentálása az esetek túlnyomó többségében megfelelő, ill. kifejezetten jó.

Külön kell szólnunk külföldi kapcsolatainkról. A fennálló akadémiai rendelkezések értelmében önálló külföldi kapcsolatok teremtésére nincs lehetőségünk. Ilyent csak az MTA Külügyi Osztályán keresztül kezdeményezhetünk. Erre esetenként volt ill. van is példa, a pécsi Vándorgyűlésen az MTA vendégként vett részt és tartott előadást egy szovjet és egy angol professzor, legutóbb Gödöllőn pedig Baer professzort, a Nemzetközi Biológiai Program elnökét üdvözölhetjük. — Külföldi, elsősorban népi demokratikus országok Biológiai Társaságai részéről azonban sokkal nagyobb igény mutatkozik a szorosabb együttműködésre, tehát ezt a kérdést ismételten napirendre kell tűznünk.

Ez utóbb említett problémák ellenére úgy érezzük, a Társaság az elmúlt négy éves időszakban jól dolgozott, és a bevezetőben felvetett kérdésre *igennel* válaszolhatunk. Társaságunk valóban betölti azt a funkciót, amelyet a hazai biológiában Társaságunktól elvárhatunk. Ez a tömören megfogalmazott kijelentés egyben pozitív értékelése is az elmúlt négy évben végzett munkának, amelyért köszönet illeti a szakosztályok, szekciók, osztályok elnökeit, titkárait, intézőbizottságait, tagságait, valamint a folyóiratok szerkesztőit és szerkesztőbizottsági tagjait, — Társaságunk valamennyi tagját.

Az elnöki megnyitó után dr. Eiben Ottó a MBT titkára beszámolt a Társaság 1968. évi munkájáról, majd ismertette az 1968. évre vonatkozó pénzügyi jelentést, és az 1969. évi költségvetést.

Ezután dr. Kontra György, a MBT ellenőre tette meg jelentését.

Indítványok nem érkeztek a Közgyűlésre, csupán néhány szervezési természetű bejelentés hangzott el a Titkárság részéről.

Dr. Törő Imre a MBT elnöke az egész Elnökség nevében bejelentette a lemondást. A Közgyűlés elnöki tisztét a választás idejére dr. Dudich Endre akadémikus, a MBT tiszteleti tagja vette át. A Jelölő Bizottság javaslatát dr. Szalai István professzor, a MBT Szegedi Osztályának elnöke ismertette. A titkos szavazás után dr. Frenyó Vilmos professzor, a MBT Botanikai Szakosztályának elnöke, a szavazatszedő bizottság vezetője hirdette ki az eredményt. E szerint a Közgyűlés újabb négy éves időszakra dr. Törő Imre akadémikust választotta a MBT elnökévé, dr. Eiben Ottót a MBT titkárává és dr. Kontra Györgyöt a MBT ellenőrévé.

Az elnökség többi tagját, a szakosztályok, a szekciók és a vidéki osztályok elnökeit későbbi időpontban választjuk meg.

Dr. Törő Imre akadémikus az újonnan megválasztottak nevében megköszönte a Közgyűlés bizalmát, és megtartotta elnöki székfoglalóját.

A Közgyűlés után dr. Nemeskéri János kandidátus tartott előadást „A humánbiológiai kutatások irányai, feladatai” címmel, az 1970. évi Biológiai Vándorgyűlés előkészítésének jegyében.

(E. O.)

KÖNYVISMERTETÉSEK

Nász István—Bélládi Ilona—Lengyel Anna: *Az adenovírusok és kórokozó szerepük.* Akadémiai Kiadó, Budapest 1967

A könyv 159 oldal terjedelmű, mely 7 nagy fejezetre tagolódik.

Az 1. fejezet az adenovírusok felfedezésével és rövid definíciójával foglalkozik. 1953-ban Rowe és mtsai az adenoidokból és tonsillákból előállított szövettényészet spontán degenerációját észlelték, aztán He-La-sejttenyészetben citopatogén elváltozást vettek észre, mely vírus jelenlétét igazolta. Innét kapta a vírus az adenovírus elnevezést. Megállapították, hogy akkor sorolható az adenovírusok közé, ha: (a) DNS-t tartalmaz; (b) a nukleokapszid szimmetria típusa kubikulás (ikozaeder); (c) külső burokkal nem rendelkezik; (d) a virion ún. háromszögelési száma 25, és a kapszid 252 kapszomeronból áll.

A 2. fejezet foglalkozik a vírusok elnevezésével, a vírusok osztályozásával, a virion szerkezetével. Megállapítja, hogy a vírusok osztályozása még nagyon bizonytalan.

A 3. fejezetben az adenovírusok fizikai és biológiai tulajdonságait taglalják. Részletesen leírják az adenovírusok morfológiai tulajdonságait és antigén szerkezetét. Reményt keltő, hogy már tisztított szolubilis antigén-komponensek alkalmazására is gondolnak immunizálás céljából. Itt tárgyalják a szaporodás biokémiai vonatkozásait, a citopatogén hatást, továbbá a fizikai és kémiai tényezőknek az adenovírusokra gyakorolt hatását, aztán az állatpatogenitást és az onkogén tulajdonságot. Itt taglalják a haemagglutinációs jellegeket (majom, patkány vörösvérsejteket agglutináló típusokat). Részleteket adnak a szerológiai típusokról.

A 4. fejezet az adenovírusok okozta emberi fertőzésekről szól. Ide tartoznak a légúti betegségek, mely lehet akut, felső légúti és alsó légúti egyaránt. A légutak betegsége azonban tüneteiben nemcsak a légútakat érintik, pl. szembetegségek lehetnek (conjunctivitis follicularis, keratoconjunctivitis epidemica). Ritkán egyéb kórformákban is mutatkozik megbetegedés. Végül lehetőségek látnak fertőzések.

Az 5. fejezetben az adenovírusok okozta fertőzések néhány járványtani jellegzetességét ismertetik; így a fertőzések elterjedése, a szezonális ingadozások, életkor szerinti különbségek, végül különböző típusok előfordulása.

A 6. fejezet egészen röviden adja az adenovírus fertőzések laboratóriumi diagnózisát. Ennek keretében szó van a vírus izolálásáról és identifikálásáról, továbbá a szerológiai diagnosztikáról.

A 7. fejezet az adenovírus okozta betegségek elleni vakcinálásról szól. Megállapítják a szerzők, hogy vannak sikerre vezető kísérletek, azonban „egy-egy adenovírus típusok . . . felismerése kérdésessé teszi, hogy helyes-e adenovírus vakcinát addig alkalmazni, amíg több ismerettel nem rendelkezünk ezen a téren.”

A könyv nagyon jól mutatja be egy vírusféleség feltárásának útjait, ami annál is inkább érdekes, mivel ez a vírus még nem rég óta ismert.

Dr. Horváth János

Fraser, F. A.: *Reproductive Behaviour in Ungulates*. 202 oldal, 77 ábra, illetve fénykép, 13 táblázat. *Academic Press IUC (London) LTD*. 1968.

A szerző — az Edinburgi (Skócia) Királyi Állatorvostudományi Egyetem sebészeti és szülészeti osztályának vezetője — könyvének témáját a patás állatok magatartását a szaporodási, illetve az ezzel kapcsolatos folyamatokban 167 oldalon, 9 fejezetben tárgyalja.

A könyv bevezetőjében megismerkedünk a témakör alapproblémájával, tehát azzal, hogy az állatok reprodukciós fiziológiájának milyen fontos része a szaporodási folyamatokban tanúsított magatartás. E témakörben az utóbbi időben számos publikáció jelent meg, s ezért Fraser, F. A. könyvének külön értéke, hogy az addigi adatokat összefoglalja, módot nyújt összehasonlításokra, és számos kutató számára hozzáférhetetlen megfigyeléséről számol be, különösen vadállatok vonatkozásában (66 vadon élő patásról közöl adatokat reprodukciós magatartásukról.)

A könyv első fejezetében a téma tanulmányozásának alapelveivel ismerkedik meg az olvasó, továbbá a reprodukív magatartás általános folyamataival. A második fejezet a szaporodási folyamatokban való magatartásra ható egyes tényezőket tárgyalja, így pl. a környezet-változás okozta hatásokat, a stimuláló faktorokat. Részletesen kitér a szaporodási magatartást jelentős mértékben determináló endokrin rendszerre és külön az egyes hormonokra. E fejezet tárgyalja a reprodukív folyamatokban tanúsított magatartás öröklött, fajhoz kötött, egyedi, tanult stb. formáit is.

A harmadik fejezet témakörét a szaporodási folyamatok szezonális jellege, a klimatikus tényezők befolyásoló hatása, illetve az ezekkel kapcsolatos magatartásváltozások képezik. E fejezetben belül a szerző mélyrehatóan elemzi a szezonális jellegű kiváltó egyes tényezők hatását (megvilágítás hossza, éghajlatváltozás, hőmérsékleti tényezők, takarmányellátottság a szaporodás, illetve a párzás időszakában stb.).

A negyedik fejezet az oestrus magatartástani problémáit tárgyalja általánosságban, s részletesen a háziasított és vad patás fajoknál. A szerző könyvének ez a része tartalmazza a legérdekesebb példákat, és e fejezetben találjuk a legtöbb, a gyakorlat számára is hasznosítható megfigyelést. (Itt tárgyalja a párvalasztás kérdéseit az egyes fajoknál, a párzási hajlam kiváltásával kapcsolatos stimuláló hatásokat: a látási, a hallási és a szagigereket.) Számos kísérletet ismertet, melyek a gyakorlati hasznosításra irányultak és több esetben pozitív eredményeket szolgáltattak.

Az ötödik fejezet a hímek reprodukciós potenciáljával foglalkozik. E fejezetben belül, kísérleti példákon keresztül ismerteti a szerző a sexerő mérését, a hímek párzás előtti jellegzetes magatartását, a csordaállatok vezérhímjeinek kiválasztását, az öreg bikák távozását stb. Külön részt szentel a szarvasok, illetve szarvasbikák jellegzetes bőségkori magatartásának.

A hatodik fejezet magával a párzással foglalkozik, ugyancsak fajnként, s itt is összehasonlításokat tesz a vadon élő és a háziasított patás fajoknál megfigyelt magatartások között. Érdekes és a gyakorlat számára hasznos útmutatással szolgál a fejezetnek az impotencia kérdéseivel foglalkozó része.

Ugyanezt mondhatjuk el a hetedik fejezetről, mely az elléssel és magával az ellés utáni periódussal — az anyának az újszülöttel való ismerkedésével — foglalkozik. A szerző számos faj és fajta vonatkozásában írja le az ellésre való felkészülést, az újszülött védelme stb. jellegzetes magatartásbeli aspektusait. Magyarázatot kapunk a vemhességi időkből mutató toleranciákra és a patás állatok éjjeli ellésére vonatkozóan. A gyakorlat számára hasznos segítséget nyújt azon jellegzetes anyai magatartások leírása, melyek rendellenes ellésre utalnak. Ezen kívül kitér a szerző az abnormális anyai magatartásokra is, így pl. a magzatfalásra, a kannibalizmusra — ennek okára vonatkozóan azonban ő sem talál megfelelő magyarázatot.

A nyolcadik fejezet az utódfelnevelés kérdéseivel foglalkozik, mellyel kapcsolatosan a szerző megállapítja, hogy elsősorban egyéni és nem fajhoz kötött az e téren tapasztalható specifikusság. Számos példát találunk az újszülöttek védelmével kapcsolatosan, a szoptatási helyzetekre vonatkozóan stb. Különösen érdekesek a más ivadékok elfogadására utaló megfigyelések. A gyakorlat számára is hasznosíthatók a kritikus periódusokkal és szagokkal kapcsolatos megállapítások.

Mint az utódfelnevelés egyik lényeges kérdését, a tejleadást és az ezzel kapcsolatos stresszhatásokat is ismerteti a szerző. Kitér ezenkívül a kondíció és utódfelnevelés kapcsolatára is.

A könyv utolsó fejezete az utódok növendékori magatartásával foglalkozik. Ebben az életszakaszban alakulnak ki a nemiséggel kapcsolatos magatartásbeli különbségek. E fejezetben belül kerülnek ismertetésre az ivarérettiséggel, a párzási próbálkozásokkal, az elválasztással, a vadonélő fajoknál a következő újszülött, illetve a korábbi ellésből származó utód elválasztásával kapcsolatos magatartásbeli megfigyelések.

Összefoglalóan megállapíthatjuk, hogy a mű hézagpótló és összefoglaló jellegű. A táblázatok kitűnő összehasonlítási alapot nyújtanak. Nagy értéke Fraser, F. A. könyvének, hogy

nem csupán megfigyeléseket és kísérleteket ismertet, hanem a gyakorlat számára hasznosítható részletekre is rámutat.

A könyv mellékleteként rendszerbefoglalva találjuk az ismertetett vad patás fajokat és a nagyon gazdag bibliográfiai részt, melyben a szerző több, mint 500 dolgozatot és könyvet sorol fel.

A könyv azok számára készült, akik patások tenyésztésével foglalkoznak és szükségük van összehasonlítási alapra a tenyésztés egyes fázisaiban tapasztalt magatartások vonatkozásában.

← HAZTAR
KÖNYVTÁRSZABÁLYTÁR
KÖNYVTÁRA →

A kiadásért felel az Akadémiai Kiadó igazgatója

Műszaki szerkesztő: Merkly László

A kézirat nyomdába érkezett: 1969. XII. 28. — Terjedelem: 4,55 (A/5) ív) + 0,7 (A/5) ív műmelléklet

69.68876 Akadémiai Nyomda, Budapest — Felelős vezető: Bernát György

Világviszonylatban is egyedülálló vállalkozás!

ORVOSI LEXIKON

4 kötetben

Főszerkesztő: Dr. HOLLÁN ZSUZSA

1. A—D kötet

2. E—J kötet

1967. 925 l. Kve 200,—Ft

1969. 1200 l. Kve 240,— F

„... páratlanul kiemelkedő újszerű vállalkozás tartalomgazdagságával messze felülmúlja az eddig közkézen forgó külföldi orvosi értelmező szótárakat.”

Orvosi Hetilap

„A lexikon szerkesztői kitűnően oldották meg a nehéz feladatot.”

Természettudományi Közlöny

„... nemzetközileg is úttörő jellegű munka a szakembereknek íródott, emellett a művelt laikusok széles tábora is haszonnal forgathatja majd köteteit.”

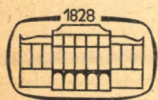
Magyar Hírlap

„... nemzetközi viszonylatban is nagy jelentősége van a kiadványnak.”

Népszava

„... 60 000 címszavával gyakorlatilag felöleli a mind nagyobb mélységegekig specializálódó orvosi szakágak minden aprólékos részletét a kiadó rendkívüli munkát tett a magyar orvostudomány asztalára, és az sem kétséges, hogy ez a lexikon rövidesen nélkülözhetetlen mindennapos segédeszközként az orvosok könyvespolcain is szolgálni fogja a jobb betegelátást.”

Népszabadság



Akadémiai Kiadó

ORVOSOK
MÉRNÖKÖK
UTAZÓK
MŰVÉSZEK
ÍRÓK
ÚJSÁGÍRÓK
BETYÁROK
KALANDOROK
KIRÁLYOK
HADVEZÉREK
POLITIKUSOK
FORRADALMÁROK
TUDÓSOK
PAPOK
ÜZLETEMBEREK

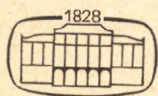
mindenki, aki a honfoglalástól napjaink-
ig szerepet játszott hazánk életében

MEGTALÁLHATÓ a

MAGYAR ÉLETRAJZI LEXIKON-ban

1. kötet (A—K) 190,-Ft
2. kötet (L—Z) 205,-Ft

A Magyar Életrajzi Lexikonban csak azok
a híres személyek szerepelnek, akik a
lexikon anyagának lezárásakor, 1967. jú-
nius 15-én már nem éltek !



AKADÉMIAI KIADÓ, BUDAPEST

MAGYAR
TUDOMÁNYOS AKADÉMIA
KÖNYVTÁRA

Ára: 12,— Ft

Előfizetés egy évre: 20,— Ft

INDEX: 26073

TARTALOMJEGYZÉK — INDEX

IGALI S.: 8-Metoxipsoralen és fotoszenzitivizáló ultraibolya fény letális és mutagén hatása — Lethal and mutagenic effect of 8-methoxypsoralen and photosensitizing ultraviolet light — Летальное и мутагенное действие 8-метокзипсоралена и фотосенситивных ультрафиолетовых лучей	63
WENGER T., KERTÉSZ Gy. és AUER L.: A nucleus preopticus histológiai és histokémiai vizsgálata pontyban (<i>Cyprinus carpio</i>) — Histological and histochemical examination of nucleus preopticus (NPO) in the carp (<i>Cyprinus carpio</i>) — Гистологическое и гистохимическое изучение в карпе	77
B. BARANYI I.: A neuroszekréció hisztokémiai vizsgálata a tavikagyló központi idegrendszerében — Histochemical examination of neurosecretion in the central nervous system of freshwater mussel — Гистохимическое исследование невросекреции в центральной нервной системе озерных моллюск	85
FORRAI Gy., VÁGÚJFALVI D., LUTTER A.-né és BÖLCSKEÛ P.: A betaninuria egyéni ingadozásának vizsgálata — The examination of individual variability of betaninuria — Изучение индивидуальных колебаний бетанинурии	91
HORVÁTH S.: A struktúra és funkció szerepe az élet keletkezésében — The role of the structure and function in the origin of life — Значение структуры и функции при возникновении жизни	97

Szakosztályi hírek

Beszámoló a MBT 1969 évi közgyűléséről (<i>Dr. Eiben Ottó</i>)	107
--	-----

Könyvismertetés

Nász I., Béli I., Lengyel Á.: Az adenovírusok és kórokozó szerepük (<i>Dr. Horváth János</i>)	110
Fraser, F. A.: Reproductive behaviour in <i>Ungulates</i> (<i>Dr. Orbányi Iván</i>)	111

A kiadvány előfizethető és példányonként megvásárolható:
az AKADÉMIAI KIADÓ-nál, Budapest V., Alkotmány utca 21.
Telefon: 111—010, Pénzforgalmi jelzőszámunk: 210—11488
az AKADÉMIAI KÖNYVESBOLT-ban, Budapest V., Váci utca 22.
Telefon: 185—612.

Előfizetési díj egy évre: 20,— Ft.