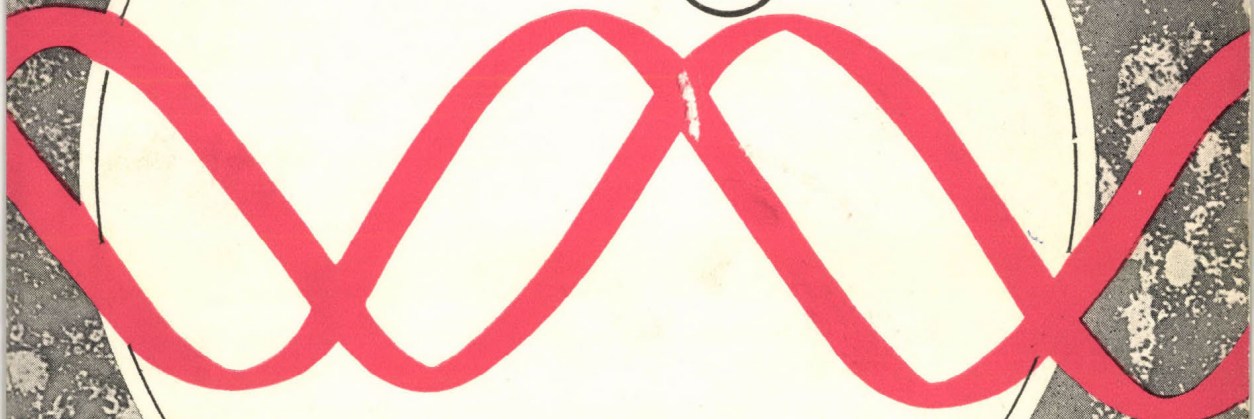


304.441

24
1976

111

biológica



24, 1976/1

AKADÉMIAI KIADÓ, BUDAPEST

2

SZERZŐINK SZÍVES FIGYELMÉBE:

1974-től a BIOLÓGIA (korábban: *Biológiai Közlemények*) tartalmilag és technikailag korszerűsített alakban jelenik meg. Kötetszámozása folyamatos (1974: 22. kötet), évente 2 füzetet tartalmaz. Elsősorban az *elméleti és molekuláris biológia, a sejttan, örökléstan, kísérletes onto- és filogenetika* tárgyköréből közöl cikkeket.

A dolgozatok következő típusait részesítjük előnyben:

1. *teoretikus* cikkek;
2. a molekuláris biológia valamely részterületének legújabb irodalmát összegező (*review*) munkák;
3. az adott formában másutt nem publikált eredeti *kísérleti* beszámolók.

A lap ezenkívül *vitákat* indító vagy azokhoz hozzászóló cikkeket, *könyvismertetéseket* és *kongresszusi beszámolókat* is közöl.

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.*

Szerzőinket az Akadémiai Kiadó által szabályozott ívhonorárium illeti meg a beküldött cikkekért, és — amennyiben előzetesen nem rendelkeznek másként — térítés ellenében 100—100 különlenyomatot bocsátunk rendelkezésükre.

Előfizethető és példányonként megvásárolható

az AKADÉMIAI KIADÓNÁL, 1363 Budapest V., Alkotmány utca 21. Telefon: 111—010.

Pénzforgalmi jelzőszám: 215—11488.,

az AKADÉMIAI KÖNYVESBOLTban: 1368 Budapest V., Váci utca 22. Telefon: 185—680

Előfizetési díj egy évre 30 — Ft

BIOLÓGIA

ELMÉLETI ÉS KÍSÉRLETI BIOLÓGIAI
FOLYÓIRAT

Főszerkesztő:

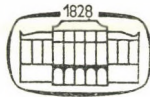
CSABA GYÖRGY

Szerkesztő bizottság:

CSÁNYI VILMOS
GUBA FERENC
KISZELY GYÖRGY
TÖRÖK LÁSZLÓ
VIDA GÁBOR

Szerkesztő:

BALÁZS ANDRÁS



AKADÉMIAI KIADÓ, BUDAPEST

RIEDEL

RIEDEL'S CHEMICAL WORKS
1875

MAGYAR
TUDOMÁNYOS AKADEMIÁ
KÖNYVTÁRA

A CHEMOTONOK EVOLÚCIÓKÉPESSÉGÉNEK ÉS STABILITÁSÁNAK SZÁMÍTÓGÉPES VIZSGÁLATA

GÁNTI TIBOR, BÉKÉS FERENC és NAGY ÁKOS

Agrártudományi Egyetem Fizika Tanszék, Gödöllő, Budapesti Műszaki Egyetem,
Biokémiai és Élelmiszertechnológiai Tanszék, Budapest.

Beérkezett: 1975. november 22-én

Kulcsszavak: evolúció, reakciókinetika, chemoton

Bár a chemoton elmélet eredetileg az élő rendszerek organizációs alapelveinek feltárása céljából született (4), hamarosan kiderült, hogy az élő rendszerek abiogén keletkezésének is magyarázatát tudja adni (6), beleértve a genetikai anyag szerkezetének kialakulását is (7). Az önreprodukáló, térben szaporodó, anyagcserét folytató és önfenntartó rendszerek pusztja megjelenése (8) önmagában még nem vezet el a biológiai rendszerek megjelenéséhez, ez csak hosszú evolúciós folyamat eredménye lehet, amelynek során az egyszerű önreprodukáló kémiai rendszerek egyre bonyolultabbak, összetettebbek lesznek, elérve végül is a biológiai komplexitás mértékét.

A chemoton modellből nem olvasható le közvetlenül az a képesség, hogy a chemotonok spontán evolúciós folyamatokon képesek átmenni, jóllehet rendelkeznek az öröklődő változás, a mutáció képességével (5, 9). Ezért a chemotonok evolúciós viselkedését külön vizsgálat tárgyává kellett tenni.

Ismeretes, hogy Prigogine irreverzibilis termodinamikai megfontolások alapján levezette a termodinamikai rendszerek változásának általános termodinamikai feltételeit, amelyet evolúciós kritériumnak nevezett el (10, 11). Kimutatható azonban, hogy az „evolúciós kritérium” legfeljebb mindenféle változásnak általános előfeltétele, de nem tartalmazza a szorosan vett evolúcióra vonatkozó specifikumokat (8), bár Prigogine és munkatársai ezt biológiai és életkeletkezési vonatkozásokban egyaránt próbálták alkalmazni (12).

Eigen, aki nagy matematikai apparátust igénylő modellt dolgozott ki az evolutív rendszerekre, ugyancsak arra a következtetésre jutott, hogy a szelekció elmélete túlnyúlik az irreverzibilis termodinamikán és az egyed információtartalma, valamint annak a szaporodáshoz viszonyított „értéke” a mértékadó az evolúció szempontjából, nem pedig az aspecifikus entrópiamérleg (3).

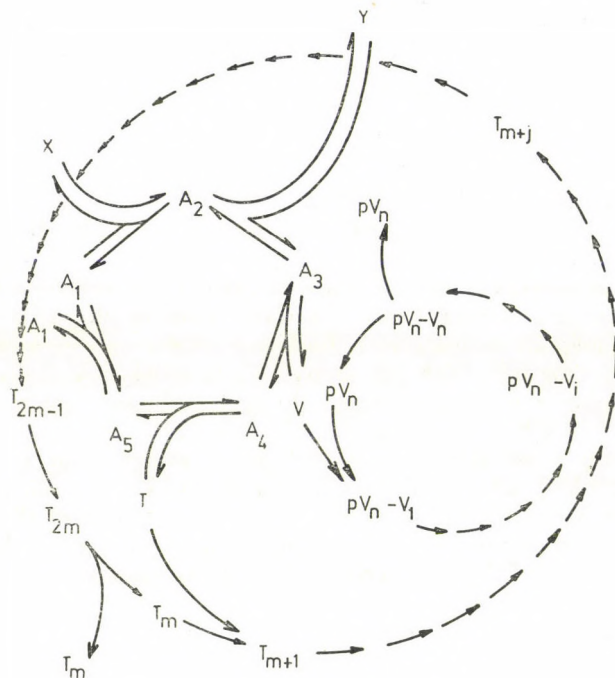
Vizsgálatainknál mi is ebből az alapelvből indultunk ki. Számítógépes szimulációval vizsgáltuk a különböző információtartalommal rendelkező, de egyébként azonos felépítésű chemotonok viselkedését különböző körülmények között. E célra a chemoton működésének kinetikai leírására korábban kidolgozott reakciókinetikai egyenletrendszereket használtuk fel (1, 2).

A számítógépes vizsgálatok módja

Az 1. ábrán a szimuláció tárgyát képező chemoton network-jét mutatjuk be. Az elemi lépésekből felírható koncentrációfluxusok differenciálegyenlet rendszere a chemotonnak, mint folytonosan működő kémiai szuperrendszernek

a matematikai modellje. A differenciálegyenletrendszer vizsgálatát SIKOS (Simulation Kontinuierlicher Systems) szimulációs rendszerrel SIEMENS számítógépen végeztük.

A SIKOS szimulációs rendszer olyan digitális analóg szimulátornak tekinthető, amelyben az úgynevezett blokkrendszerű nyelvekkel ellentétben a változók összefüggéseit nem blokkhoz rendelve, hanem a matematika nyelv-



1. ábra

vén leírt függvények alakjában adottak. A probléma megfogalmazása tehát differenciálegyenletek felírásából indulhat ki. A leírásban a változó és differenciálja közti kapcsolatot egy integrál-függvény fejezi ki, amelyet különböző numerikus integrálási programeljárások (Euler, Runge-Kutta, Bulirsch-Stoer) számítanak.

Vizsgálataink során a Runge-Kutta eljárást alkalmaztuk, amely viszonylag kis gépidő-felhasználása mellett megfelelő pontosságú módszernek bizonyult. Az eredményekben chemoton generációként három ezrelékes rendszeres eltérés mutatkozott, vizsgálataink szerint ez integrációs hibából ered.

Az eredményeket sornyomatón, táblázatosan írtuk ki. A táblázat tartalmazta a megfelelő időpontokhoz tartozó chemoton-összetételt, az autokatalitikus körfolyamat belső anyagainak (A_1, A_2, A_3, A_4, A_5), a genetikus információt tartalmazó pV_n homopolimer V-monomerjének, a T_m membrán T alapegységeinek mennyiségét, a membránba beépült membránegységek számát, illetve az ezáltal megnövekedett relatív felületet, valamint a templát-

polimerizáció lefolyására jellemző adatokat. A program a táblázatot megszakítva jelezte az osztódás bekövetkeztét, feltüntetve az osztódás sorszámát, a generációs időt, valamint az osztódási összetételt.

A nagy mennyiségű adat könnyebb áttekinthetősége céljából alkalmaztuk a SIKOS programrendszer PLOT eljárását is, amelynek segítségével sornyomatón előállított — kvalitatív összehasonlításra kiválóan alkalmas diagramokat kaptunk.

Eredmények

Három, egyébként azonos kezdeti összetételű, különböző lánchosszúságú pV_n -t ($n = 10, 15, 20$) tartalmazó chemoton összehasonlító vizsgálatát végeztük el. Az adaptációs összetétel kialakulását (5—7 osztódás) követőleg az X tápanyag mennyiségében egység-ugrás jellegű zavarást idéztünk elő: a korlátlanul rendelkezésre álló (időben nem fogyó) X koncentrációját $x = 100$ -ról $x = 10$ -re csökkentettük.

Mindhárom vizsgált rendszer azonosan viselkedett: a tranzien szakaszt követően a rendszer új adaptációs helyzetet vett fel.

Az első táblázatban a leghosszabb pV_n -t tartalmazó chemoton egyensúlyi összetételét tüntettük fel a két tápanyagkoncentráció esetén. A különböző lánchosszúságú pV_n -t tartalmazó (különböző mennyiségű genetikus információval rendelkező) chemotonok összehasonlítására a generációs időket (2. táblázat) és az egyensúlyi százalékos összetételeket (3. táblázat) adjuk meg. A 2. táblázat utolsó oszlopában feltüntettük a tápanyagkoncentráció zavarás hatására bekövetkező generációs időváltozások százalékos értékeit is.

1. táblázat

Genetikai anyagként pV_{20} -at tartalmazó chemoton belső összetétele a pV_{20} replikációja előtt, adaptálódott állapotban $X = 100$ tápanyagkoncentrációnál, valamint tízszeres tápanyagkoncentráció csökkenés után.

tápanyag konc.	belső komponensek konc.					
		A_1	A_2	A_3	A_4	A_5
100		0,079	6,23	45,9	1,29	0,86
10		0,714	5,72	43,6	1,24	1,22

2. táblázat

Különböző lánchosszúságú pV_n -t tartalmazó chemotonok ($n = 10, 15, 20$) generációs ideje adaptálódott állapotban $x = 100$ és $x = 10$ tápanyagkoncentráció mellett.

n	Generációs idő		Generációs idő növekedés %
	$x = 10$	$x = 100$	
	tápanyagkoncentrációnál		
10	41,56	48,66	17,1
15	36,10	42,10	16,6
20	32,65	36,92	13,3

3. táblázat

Különböző lánc hosszúságú pV_n -t tartalmazó chemotonok ($n = 10, 15, 20$) belső összetételének százalékos eloszlása adaptálódott állapotban a pV_n replikálása előtt, különböző tápanyagkoncentrációk mellett.

n	x	A ₁	A ₂	A ₃	A ₄	A ₅	V
		%					
10	100	0,08	6,46	47,97	1,34	0,88	43,2
	10	0,74	6,63	45,78	1,28	1,19	44,86
15	100	0,09	6,76	50,00	1,39	0,92	40,82
	10	0,79	6,32	48,32	1,31	1,30	41,90
20	100	0,09	6,97	51,36	1,44	0,95	39,16
	10	0,84	6,54	49,77	1,41	1,39	40,04

A chemotonok összetétele két osztódás között természetesen igen nagy mértékben és folyamatosan változik, de azonos network-ű és azonos pV_n -t tartalmazó chemotonoknál azonos körülmények között mindig ugyanazon függvény szerint. Ez azt jelenti, hogy bármelyik generációból származó bármelyik egyed összetétele az osztódási ciklus azonos fázisában megegyezik. Ezért a táblázatokon a pV_n szintézis beindulása előtti utolsó értékek vannak feltüntetve.

Diszkusszió

Korábbi számítógépes vizsgálataink azt mutatták, hogy bármilyen kezdeti összetételű, de azonos network szerint működő chemotonok adott külső feltételek mellett mindig azonos állapotra igyekeznek beállni és ennek az állapotnak az értékeit a pV_n szabja meg (1, 2). Ez az állapot azonban, mint említettük, nem a komponensek koncentrációinak konstans értékében, hanem az egy generáción belüli változások azonos függvény szerinti lefutásában mutatkozik meg. A környezetével „egyensúlyba” került, a környezetéhez hozzászokott chemoton állapota tehát sem nem egyensúlyi, sem nem stacionárius állapot, ezért adaptálódott állapotnak nevezzük.

Az adaptálódott állapot bekövetkezési ideje függvénye a chemoton indulási összetételének és a környezetnek is, az esetek többségében csak a negyedik-ötödik generáció után következik be.

Hogy egy kevert populációból milyen fajok szaporodnak el nagyobb mértékben és geológiai időtartamban mérve melyek az életképesebbek, azt elsősorban az dönti el, hogy melyeknek nagyobb a szaporodási sebessége és melyek stabilabbak a környezeti változásokkal szemben. Mivel az ismert termodinamikai stabilitási kritériumok az élő rendszerekre — és így a chemotonokra sem alkalmazhatók (8, 9), először számítógépes szimulációval megvizsgáltuk a chemotonok stabilitási tulajdonságait a tápanyag koncentráció-változásával szemben, majd megnéztük a stabilitás mértékének változását a genetikai anyag változásának függvényében, végül megvizsgáltuk, hogy van-e generációs időbeli különbség az eltérő genetikai állománnyal rendelkező chemotonok között.

A stabilitási vizsgálatnál a pV_{20} -as homológ szeparatív chemoton szaporodását szimuláltuk. Először $x = 100$ tápanyagkoncentráció mellett megvártuk az adaptálódott állapot bekövetkezését, majd a tápanyagkoncentrációt hirtelen tizedrészére csökkentettük ($x = 10$) és megvártuk az új környezeti viszonyok mellett az új adaptációs állapotot, amely a 10. generációnál következett be. Kémiailag első megközelítésben a generációs idő egy nagyságrenddel való megnövekedése lett volna várható, az egy nagyságrenddel történt tápanyagkoncentráció csökkenés miatt. Ennek ellenére a generációs idő növekedése csak 13,3% volt, ami a chemoton rendkívüli kompenzálóképességét mutatja. Ezt a chemoton a belső komponensei relatív koncentrációinak átrendezésével érte el, igen nagy mértékben megemelve annak a komponensnek a relatív koncentrációját, amelyik a lecsökkent mennyiségű tápanyagkomponens közvetlen reakciópartnere.

Az egyszerű chemotonban az információtartalom arányos az információhordozó polimer molekula (pV_n) hosszával. Az információtartalom és a szelekciós képesség közötti összefüggések vizsgálatára három azonos összetételű, de eltérő polimerizációs fokú pV_n -t ($n = 10, 15, 20$) tartalmazó chemoton viselkedését vizsgáltuk. Mint a 2. táblázatból látható, egyértelmű összefüggés van a pV_n hossza és a chemoton generációs ideje között, a nagyobb információtartalom rövidebb generációs időt eredményez. Ezért azonos körülmények között az a chemoton van szelekciós előnyben, az szaporodik el a többi rovására, amelyekben nagyobb az öröklődő információk mennyisége. A spontán bekövetkező öröklődő változások közül tehát azok a változatok maradnak fenn, amelyekben a változás az összetettebb, a bonyolultabb rendszerek irányába történt. Ez a chemotonszerű rendszerek esetében evolúciós húzóerőt jelent az egyre komplexebb rendszerek kifejlődésének irányában.

Végül megvizsgáltuk, hogy a környezeti változásokat kompenzáló képesség és az információtartalom között van-e összefüggés. A 3. táblázatból látható, hogy a nagyobb információtartalmú (hosszabb pV_n -nel rendelkező) chemotonok nagyobb mértékben képesek kompenzálni a környezeti változásokat. Mindez azt jelenti, hogy a bonyolultabb, összetettebb genetikai anyaggal rendelkező chemotonok nemcsak nagyobb sebességgel szaporodnak, de stabilabbak is a környezeti változásokkal szemben. A chemotonok evolúcióját tehát szaporodási és stabilitási tulajdonságaik egyaránt a bonyolultabb rendszerek megjelenése irányába vezérlik.

Végül szeretnénk köszönetet mondani Gyarmati István és Lásztity Radomir egyetemi tanároknak érdeklődésükért, biztatásukért és segítségükért.

IRODALOM

1. BÉKÉS F. (1975) Simulation of Kinetics of Proliferating Chemical Systems. *Bio Systems*, **7**, 189–195.
2. BÉKÉS F., GÁNTI T., NAGY Á.: A chemotonok kinetikai vizsgálata és számítógépes szimulációja. (In: Gánti T.: A Theory of Biochemical Supersystems and its Applications for the Problem of Natural and Artificial Biogenesis. Akad. Kiadó, Budapest, Megjelenés alatt.)
3. EIGEN M. (1971) Selforganisation of Matter and the Evolution of Biological Macromolecules. *Die Naturwissenschaften*, **58**, 465–523
4. GÁNTI T. (1971) Az élet princípiuma. Gondolat, Budapest.
5. GÁNTI T. (1972) Az élő rendszerek szerveződésének vizsgálata. I. *MTA Biol. Oszt. Közl.*, **15**, 177–196.

6. GÁNTI T. (1974) Az élet eredete — újabb kutatások és eredmények. In: Csaba Gy. (szerk.): A biológia aktuális problémái I. Medicina, Budapest, pp. 45—90.
7. GÁNTI T. (1974) A genetikai anyag funkciójának és szerkezetének elméleti levezetése. *Biológia*, **22**, 17—35.
8. GÁNTI T.: Molekuláris szuperrendszerek önszabályozása és önszerveződése. In: Csaba Gy. (szerk.): Biológiai szabályozás. Medicina, Budapest, megjelenés alatt.)
9. GÁNTI T.: A Theory of Biochemical Supersystems and its Applications for the Problem of Natural and Artificial Biogenesis. Akad. Kiadó, Budapest. Megjelenés alatt.
10. GLANSDORFF P., PRIGOGINE I. (1964) On a General Evolution Criterion in Macroscopic Physics. *Physica's Grow*, **30**, 351.
11. GLANSDORFF, P., PRIGOGINE I. (1971) Thermodynamic Theory of Structure, Stability and Fluctuations, Wiley-Interscience, New York.
12. PRIGOGINE I., BABLOYANTZ A. (1971) Coherent Structures and Thermodynamic Stability. In: Buvet R. and Ponnampuruma C.: Chemical evolution and the Origin of Life. North Holland, Amsterdam.

A COMPUTER STUDY ON THE STABILITY AND EVOLUTION OF CHEMOTONS

T. Gánti,* F. Békés, A. Nagy

Institute of Physics, University of Gödöllő, and Department of Biochemistry and Food Technology, Technical University, Budapest, Hungary

Although chemotons have the ability for mutation, the capacity of passing through spontaneous evolutionary processes is not resulted directly from the models. Therefore the evolutionary behaviour and stability properties of chemotons were investigated by computer simulations.

The results indicated that the chemotons had a rather high stability against the changes of the environment: the decrease of the nutrient concentration resulted 50—100 times smaller changes in the generation time of the chemotons as it was thought on the basis of the dependence of reaction velocity on concentration. The stability and the generation time of the chemotons depend also on the length of their information-carrier molecule, the larger one resulted greater stability against the changes of nutrient concentration, and also resulted shorter generation time. These indicates, that chemotons have an inner capacity for the formation of the more and more complex systems.

* Permanent address: Department of Genetics, Eötvös Loránd University, H-1088 Budapest, Múzeum krt 4/A, Hungary.

AZ ACTH ELVÁLASZTÁS RADIOIMMUNOLÓGIAI ÉS IMMUNHISZTOKÉMIAI VIZSGÁLATA DEXAMETHASONNAL KEZELT PATKÁNY HYPOPHYSIS TENYÉSZETEKBE

STARK ERVIN, KÁRTESZI MIHÁLY, GYÉVAI ANGÉLA és BUKULYA BÉLA
Magyar Tudományos Akadémia, Kísérleti Orvostudományi Kutató Intézet, Budapest

Beérkezett: 1976. április 10-én

Kulcsszavak: hypophysis tenyészet, ACTH elválasztás, negatív visszajelentés, dexamethason

A hypothalamus-hypophysis-mellékvese (HHM) rendszer működésének szabályozásában a mellékvesében termelődő glucocorticoidok központi szerepet játszanak. Negatív visszajelentő hatásuk révén csökkentik vagy gátolják mind a nyugalmi, mind a stresszorok által fokozott ACTH elválasztást.

Általánosan elfogadott, hogy a glucocorticoidok negatív visszajelentő hatása a hypothalamus és más extrahypothalamikus agyi struktúrák szintjén érvényesül [3, 4, 8, 12, 15, 18, 25].

Emellett sok kísérleti adat utal arra, hogy dexamethason adására a HHM rendszer gátlásában az is szerepet játszik, hogy a szteroid közvetlenül hat a hypophysisre, gátolja annak ACTH szekrécióját.

Az *in vivo* [2, 9, 10] kísérletekből levont következtetést *in vitro* vizsgálatokkal is megkísérelték alátámasztani, amelyek szerint a szövetkultúrában tenyésztett hypophysis sejtek tápfolyadékához adott glucocorticoidok gátolják mind a nyugalmi, mind a hypothalamus kivonattal serkentett ACTH elválasztást, ill. hormonszintézist [13, 17, 28].

Mások kimutatták azonban, hogy a hypophysisbe implantált glucocorticoid kristály nem gátolja a hypophysis ACTH elválasztását (5, 6).

Intézetünkben végzett korábbi *in vivo* és *in vitro* kísérletek eredményeiből szintén arra lehetett következtetni, hogy a dexamethason nem a hypophysis szintjén fejti ki gátló hatását [26]. Az *in vitro* kísérletekben a hypophysis szövetdarabkákat az ugyanazon patkány mellékvese szövetdarabkáival tenyésztettük együtt, s a naponta cserélt tápfolyadékban mértük a mellékvese által elválasztott corticoidok mennyiségét. Ez szolgált az ACTH elválasztás indikátorául.

Miután lehetőségünk nyílt az ACTH közvetlen mérésére radioimmunoassay-vel, valamint a hypophysis ACTH termelő sejtjeinek immunhisztokémiai azonosítására *in vitro* modellrendszerben megismételtük vizsgálatainkat azzal a céllal, hogy a dexamethason közvetlenül gátolja-e a hypophysis nyugalmi (nem stimulált) ACTH elválasztását.*

* Vizsgálataink egy részéről előzetesen beszámoltunk a legutóbbi FEBS kongresszuson (M. Kárteszi, E. Stark, B. Bukulya and A. Gyévai: Effect of dexamethasone on the ACTH release in cultured hypophysis (1975) FEBS lecture No 1382, Paris).

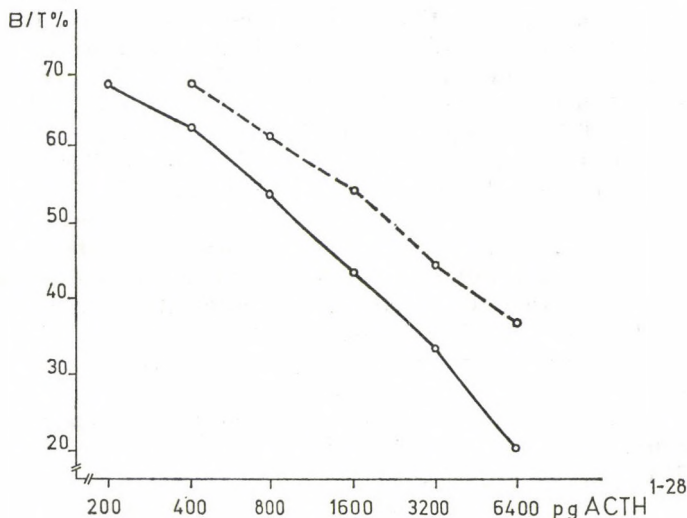
Anyag és módszer

Patkány hypophysis szerutenyészetek készítése: 180—200 g-os CFY hím patkányok hypophysiséről leválasztottuk a hátsó lebenyét. A középső lebenyenyl összefüggő adenohypophysisből (pars distalis et intermedia) készített szöveti explantátumot zsirtalanított lencsepapíron műanyag (polystyren, Falcon) Petri-csészébe öntött, kémiailag definiált, szérumentes Parker 199 tápfolyadék felszínére helyeztük. A tenyészeteket 95% levegő — 5% CO₂ atmoszférában 37 °C-on inkubáltuk. 24 óra múlva a tenyészetek egyik részéhez kontroll-, másik részéhez különböző koncentrációjú dexamethasont tartalmazó tápfolyadékot adtunk.

Patkány hypophysis monolayer tenyészetek készítése: 180—200 g-os CFY hím patkányok hypophysisét (pars distalis et intermedia) ollóval feldaraboltuk, s a szövetdarabkákat 0,1%-os Trypsinnel (Difco) disszociáltuk. Az ily módon nyert sejtszuszpenzióból a sejteket alacsony fordulatszámú (600—800 rpm) centrifugálással üleptítettük. Az összegyűjtött sejteket foetális borjuszavót tartalmazó tápfolyadékban szuszpendáltuk. A sejtszuszpenzióból, amely kb. 5×10^5 sejtet tartalmazott milliliterenként, 1,5 cm átmérőjű műanyag (polystyren, Falcon) Petri-csészékbe 1—1 ml-t mértünk szét. A monolayer tenyészeteket szintén 95% levegő — 5% CO₂ atmoszférában 37 °C-on inkubáltuk. A tenyészetekről a tápfolyadékot naponta lecseréltük, s a tenyésztés 4—5. napján a tenyészetek egyik részéhez kontroll-, másik részéhez 2 ug/ml dexamethasont tartalmazó tápfolyadékot adtunk.

Biokémiai meghatározások: Az *in vitro* elválasztott ACTH mennyiségére a tápfolyadék ACTH tartalmának meghatározásával következtettünk. Az ACTH radioimmunoassay-t REES és mtsai [22] módszere szerint állítottuk be: A tenyészetekről leöntött tápfolyadékot a mérésig —20 °C-on fagyasztva tároltuk. A tápfolyadékban levő ACTH-t QUSO adszorbens (QUSO 32, microfine precipitated silica, Ivan Sorvall Inc.) segítségével vontuk ki SAYERS és mtsai [24] módszere szerint a tápfolyadék előzetes savanyítása nélkül. A mintákhoz 5 mg QUSO-t adtunk, s az ACTH adszorbcíóját (> 75%) 1 perces intenzív keveréssel (vortex mixer) biztosítottuk. Centrifugálás után (2500 rpm, 10 perc, 4 °C) az üledéket 1 ml hideg 0,05 M-os Na-foszfát pufferrel (pH 7,2) mostuk, majd a mintákat centrifugáltuk (2500 rpm, 10 perc, 4 °C). A QUSO-hoz adszorbeált ACTH-t 0,2 ml hideg 0,1 N HCl-lel — az adszorbcíóval azonos körülmények között — eluáltuk, s az adszorbenst lecentrifugáltuk (2500 rpm, 10 perc, 4 °C). A leszívással nyert savas eluátumot 2,5 mg/ml emberi szérum albumint (Calbiochem) és 0,5%-os mercaptoethanolt (Reanal) tartalmazó 0,8 ml 0,15 M-os Na-foszfát pufferrel (pH 7,6) neutralizáltuk (pH 7,2). Az eluátumokhoz ezután intézetünkben előállított ACTH antiszérumot (1 : 10 000-es véghígításban) és ¹²⁵I-ACTH¹⁻²⁸-t (5000—10 000 cpm/cső) adtunk, s a mintákat egy éjszakán át 4 °C-on inkubáltuk. A minták összradioaktivitásának (T) lemérése után a szabad, antiszérumhoz nem kötött ¹²⁵I-ACTH¹⁻²⁸-t dextrán T 70-nel aktivált szénnel (charcoal activated, Sigma Chemical Co) kötöttük meg. A centrifugálással (2500 rpm, 10 perc, 4 °C) kapott üledék radioaktivitását levontuk az összradioaktivitásból, s a különbség az antiszérumhoz kötött ¹²⁵I-ACTH¹⁻²⁸ radioaktivitását (B) adta meg. A B/T hányadosok segítségével a minták ACTH tartalmát a fenti kivonással készített standard görbéről közvetlenül olvastuk le, amellyel egyidejűleg minden esetben kivonás nélküli standard görbét is készítettünk (1. ábra).

A bevezetett ACTH radioimmunoassay jól reprodukálható, specifikus (α -MSH-val és ACTH¹⁻¹⁴-val a mérésekhez felhasznált antiszérum keresztreakciót nem adott) és igen érzékeny hormonmeghatározás. Kísérleteinkben a hypophysis tenyészetek által elválasztott ACTH mennyiségét $pg\ ACTH/tenyészet/6\ óra$ vagy $pg\ ACTH/mg\ sejtfehérje/24\ óra$ adtuk meg. A monolayer



I. ábra Dózis-hatás görbe ACTH radioimmunoassay-hez. — Kivonás nélkül készített standard görbe; — — A módszernél leírt kivonással készült standard görbe; B = antiszérumhoz kötött radioaktivitás; T = összradioaktivitás.

Fig. 1. Dose-response curve for ACTH radioimmunoassay. — Non-extracted ACTH standard curve; — — ACTH standard curve obtained by QUSO extraction; B = antiserum bound radioactivity; T = total radioactivity of the samples.

tenyészetekben a sejtek fehérjetartalmát LOWRY és mtsai [17] módszere szerint határoztuk meg.

Hypophysis szervtenyészetek ACTH termelő sejteinek immunhisztokémiai kimutatása: A hypophysis szervtenyészetekben található ACTH immunopozitív sejteket a MASON és mtsai [19, 20] által leírt eljárással — ún. hídtechnikával — identifikáltuk.

A szervtenyészeteket 4°C-on jégszekrényben 6 óráig perjódsv-lizin-paraformaldehid fixálóban (NAKANE, P. K., szóbeli közlés) rögzítettük, majd foszfát pufferben [21] 24 óráig mostuk és utána a paraffinba ágyazott anyagból 5 μ -os metszeteket készítettünk. A metszeteket zselatinnal ragasztottuk tárgylemezre és deparaffináltuk. A háttérfestődésben szerepet játszó aspecifikus antitesteket hígítatlan normál nyúlserummal, az endogén peroxidáz aktivitását 3%-os H₂O₂-vel történt kezeléssel csökkentettük vagy elimináltuk. Az előbbi kezelés 10 percig, az utóbbi 2 percig tartott. A normális nyúlserum és a H₂O₂ eltávolítását a metszetekből többször váltott desztillált vizes mosással 10 percig szobahőmérsékleten végeztük. Ezután a metszetekre foszfát pufferrel hígított ACTH antiszérumot (1 : 20) cseppentettünk. (Az antiszérumot nyúlban állítottuk elő; ugyanaz, mint amit a radioimmunológiai mód-

szerben használtunk.) A metszeteket nedves kamrában 30 percig szobahőmérsékleten inkubáltuk, majd 5 percenként váltott foszfát pufferrel 15 percig jégfürdőn mostuk. Ezt követően a metszeteket hígított (1 : 20) nyúlserum ellenes kecske IgG-vel (Cappel, Laboratories) kezeltük. Foszfát pufferes mosás után a metszetekre peroxidáz ellenes nyúlserumot (1 : 20-as hígításban; Cappel, Laboratories) cseppentettünk, 30 percig inkubáltuk, majd ismét foszfát pufferrel mostuk. A metszetekre ezután desztillált vízben oldott peroxidázt (1 mg/100 ml; Sigma, Chemical Co.) cseppentettünk. Inkubálás (30 perc), foszfát pufferes mosás (15 perc) után elvégeztük a peroxidáz reakciót, amely 10 percig szobahőmérsékleten a következő reakcióelegyben játszódott le: 3,3'-Diamino-benzidin-tetrachlorid (Fluka AG) 2—3 mg; H₂O₂ (Reanal) 0,005%; 0,05 M-os TRIS-HCl puffer (pH 7,6) 0,85%-os NaCl oldatban, 10 ml. Az elegyet mindig frissen kell készíteni és a pH-t felhasználás előtt pontosan be kell állítani (pH 7,6). Többször váltott desztillált vizes mosás után (10 perc) a metszeteket 1%-os ozmiumtetroxiddal (OsO₄) 1—3 másodpercig utánfixáltuk, ezáltal a DAB-reakció barna színű végterméke szinte feketévé változott. Az OsO₄-et többször váltott desztillált vízzel szobahőmérsékleten kimos-tuk. Felszálló alkoholsorozatban történt víztelenítés után a metszeteket kanadabalzammal lefedtük. Az immunopozitív ACTH-termelő sejtek a barnás fekete szín különböző árnyalatában tűntek elő. Az ACTH termelő sejtek számát csoportonként 3—6 metszetben 3000 sejt leszámolásával állapítottuk meg, s az átlagszámot a hypophysis sejtek százalékában fejeztük ki.

Radioaktivitás mérése: A minták radioaktivitását Packard gamma counter (Model: 53-19) segítségével mértük.

Statisztikai kiértékelés: A kísérleti eredmények biometriai értékelése Student „t” próbával és variancia-analízissel történt. A különbséget akkor vettük szignifikánsnak, ha $p < 0,05$ volt.

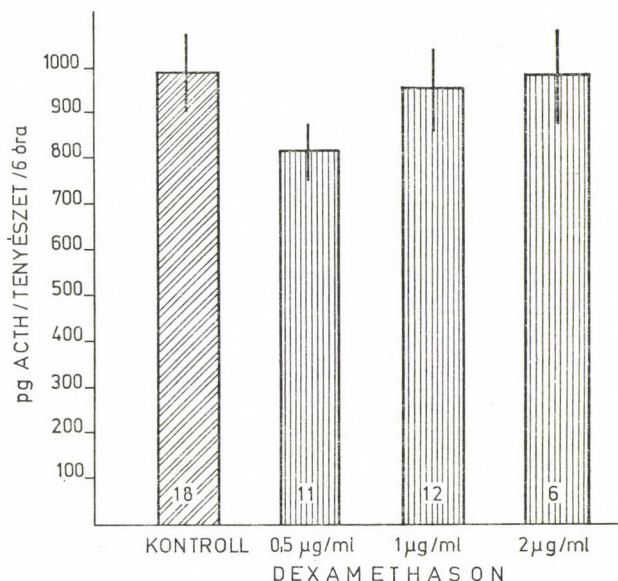
Eredmények

Mint az a 2. ábrán látható, a dexamethasonnal kezelt patkány hypophysis szervtenyészetek tápfolyadékában az ACTH mennyisége nem különbözött a kontroll tenyészetekétől.

A monolayer tenyészetek esetében csak 2 $\mu\text{g/ml}$ /24 óra dexamethason hatását vizsgáltuk a nyugalmi ACTH elválasztására. Irodalmi adatok szerint [14] ugyanis ez a koncentráció nemcsak a hormon elválasztását, hanem annak *in vitro* szintézisét is blokkolja. Mérési eredményeink szerint (3. ábra) a patkány hypophysis monolayer tenyészetek nyugalmi ACTH elválasztása dexamethason hatására nem csökkent.

Nagyszámú fénymikroszkópos immunhisztokémiai preparátum átnézése után megállapítható volt, hogy nincs jelentős különbség a kontroll (1. kép) és azon tenyészetek ACTH-sejtjeinek száma között, amelyeket 2 $\mu\text{g/ml}$ dexamethasont tartalmazó tápfolyadékban inkubáltunk (2. kép).

Impresszióinkat a számszerű kiértékelés alátámasztotta (4. ábra). Hangsúlyozva az immunhisztokémiai vizsgálatok kvantitatív kiértékelésével kapcsolatos fenntartásainkat, az a benyomásunk, hogy a kontroll tenyészetekhez képest inkább több, de semmiképpen sem kevesebb ACTH termelő sejt található azokban a tenyészetekben, amelyeket dexamethasont tartalmazó (2 $\mu\text{g/ml}$) tápfolyadékban inkubáltunk.



2. ábra 6 órás dexamethason-kezelés hatása patkány hypophysis szervtenyészetek ACTH elválasztására.

Az ábrán a tenyészetek elemszámát, valamint a standard errort tüntettük fel.

Fig. 2. ACTH release of rat hypophysis organ cultures treated by different doses of dexamethasone for 6 hours

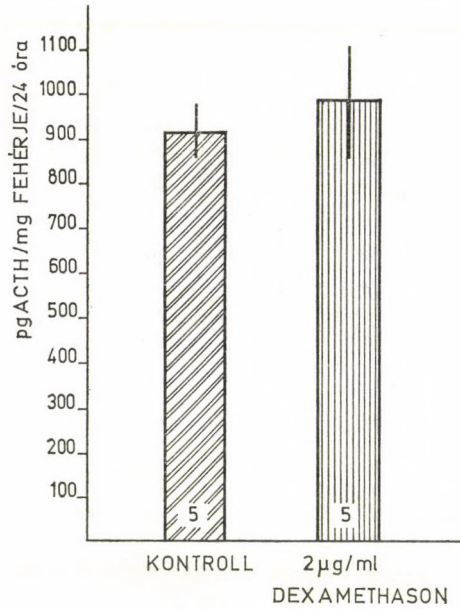
The number of the cultures as well as the standard error are indicated in the figure.

Megbeszélés

Ismeretes, hogy a mellékvese glucocorticoid hormonjainak a környezet-hez való alkalmazkodásban fontos szerepük van. Elválasztásukat az ACTH szabályozza. Az ACTH elválasztás mai tudásunk szerint, a hypothalamus specifikus faktorának (corticotrop releasing factor, CRF) ellenőrzése alatt áll. A CRF-ACTH elválasztásban viszont a glucocorticoidok negatív visszajelentő hatásának meghatározó szerepe van.

YATES és MARAN [29] legutóbbi tanulmánya rávilágít a HHM rendszer működését szabályozó mechanizmusok mindmáig megoldatlan problémáira. Az a tény, hogy a glucocorticoidok a hypothalamus szintjén gátolják a CRF felszabadulását, általánosan elfogadott [11, 15, 18]. Vitatott azonban az a kérdés, hogy a glucocorticoidok negatív visszajelentő hatása érvényesül-e a hypophysis szintjén. Ezirányú *in vivo* [2, 7, 10, 23] és *in vitro* [2, 14] kísérletek kapcsán több szerző jutott arra a következtetésre, hogy a dexamethason képes a hypophysis stresszorok, ill. hypothalamuskivonat által stimulált ACTH elválasztását gátolni.

Kétségtelen, hogy a glucocorticoidok negatív visszajelentő hatásának hypophyseális támadáspontjáról kialakított elképzelés többségükben olyan kísérleteken alapul, amelyekben az ACTH elválasztásra közvetett mérésekből (pl. corticosteron meghatározás) következtettek. FLEISCHER és mtsai [14] azonban, az ACTH radioimmunoassay mérésével, patkány hypophysis mono-



3. ábra 24 órás dexamethason-kezelés hatása patkány hypophysis monolayer tenyészetek ACTH elválasztására.

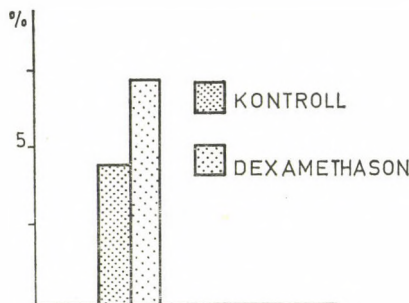
Az ábrán a tenyészetek elemszámát, valamint a standard error-t tüntettük fel.

Fig. 3. Effect of 24 hours dexamethasone treatment on the ACTH release of rat hypophysis monolayer cultures.

The number of the cultures as well as the standard error are indicated in the figure.

layer tenyészetek nyugalmi és stimulált ACTH elválasztásának csökkenéséről számoltak be dexamethason hatására. Azt találták, hogy ha a tápfolyadékhoz $0,5 \mu\text{g/ml}$ koncentráció felett adtak dexamethasont, az nemcsak az ACTH elválasztást, hanem az újonnan képződő hormon szintézisét is gátolta.

Ezzel szemben, korábbi vizsgálatainkkal [26] összhangban, ismertetett *in vitro* kísérleteink eredményeiből az a következtetés adódik, hogy a dexa



4. ábra Az ACTH immunopozitív sejtek számának százalékos alakulása patkány hypophysis szervtenyészetekben 24 órás dexamethason kezelés hatására.

Fig. 4. Percentage of ACTH immunopositive cells in rat hypophysis organ cultures treated with dexamethasone for 24 hours.

methason nem a hypophysis szintjén gátolja a nyugalmi ACTH elválasztást. Kimutattuk, hogy a patkány hypophysis monolayer és szervtenyészetek tápfolyadékának radioimmunoassay-vel mért ACTH tartalma dexamethason kezelés hatására (2 $\mu\text{g/ml}$ /6, ill./24 óra) nem különbözött a kontroll tenyészetekétől. Feltételezzük, hogy a kísérleti elrendezésben meglévő (vagy más, eddig nem tisztázott) különbség az oka annak, hogy a dexamethason a mi kísérleti körülményeink között nem befolyásolta a hypophysis tenyészetek nyugalmi ACTH szekrécióját. Az ellentmondó adatokat magyarázhatja az az eltérés, hogy míg FLEISCHER és mtsai a tenyészetekről több napon keresztül nem cserélték le a kontroll, ill. dexamethason tartalmú tápfolyadékot, mi 6, ill. 24 órás dexamethason kezelés hatását vizsgáltuk. *In vitro* kísérleteinkben olyan időviszonyt választottunk, amelynél már rövidebb idő alatt képes a dexamethason *in vivo* az ACTH elválasztást nyugalmi körülmények között gátolni [1].

Immunhisztokémiai vizsgálataink azt látszanak bizonyítani, hogy a hypophysis szervtenyészetekhez adott dexamethason nem csökkenti az ACTH immunopozitív sejtek számát.*

Az elmúlt néhány évben kialakult általános felfogás szerint a hormonhatásnak, s így a glucocorticoidok negatív visszajelentő hatásának is, előfeltétele a hormon kötődése a specifikus sejtreceptorhoz. Egyes szerzők [9, 16] corticoid-kötő receptort mutattak ki a hypophysisben. E vizsgálatok szerint a patkány hypophysis sejt plazmában egymástól eltérő kötési sajátságokkal rendelkező corticosteron-, ill. dexamethason-kötő receptorok találhatók. Másrészt, patkány hypophysis szövetszeleten corticosteronnal végzett vizsgálataink [27] nem igazolták specifikus corticoid-kötő receptor jelenlétét a hypophysisben.

Eddigi eredményeinket egybevetve jogosnak tűnik arra gondolni, hogy a hypophysis nem támadáspontja a dexamethason negatív visszajelentő hatásának. Vizsgálataink alapján azonban nem zárhatjuk ki, hogy a dexamethason *in vivo* gátolja a CRF hypophyseális hatását (1), hogy hypophyseális hatásának nem előfeltétele-e a szervezetben bekövetkező eddig ismeretlen átalakulása (2), vagy az *in vitro* rendszerből hiányzó, de gátló hatásához szükséges faktor (3).

Összefoglalás

Dexamethason hatását vizsgáltuk patkány hypophysis szervtenyészetek és monolayer kultúrák ACTH elválasztására. A tápfolyadék ACTH tartalmát radioimmunoassay-vel mértük, s megállapítottuk, hogy a dexamethason különböző mennyiségei nem gátolják a hypophysis tenyészetek nyugalmi (nem stimulált) ACTH elválasztását az alkalmazott kísérleti feltételek között.

A patkány hypophysis szervtenyészetek ACTH-t tartalmazó sejtjeit immunhisztokémiai módszerrel identifikáltuk. Kimutattuk, hogy dexamethason hatására nem csökken az ACTH immunopozitív sejtek száma a kontrollhoz képest.

* Úgy gondoljuk, hogy az immunhisztokémiai vizsgálatok jelenlegi kvantitatív kiértékelésével kapcsolatban hangsúlyozott fenntartásaink miatt, a 4. ábrán látható sejtszám emelkedés nem jogosít fel definitív következtetésre. További vizsgálatok szükségesek annak eldöntésére, hogy dexamethason kezelés hatására szignifikánsan emelkedik-e az ACTH immunopozitív sejtek száma, s ha igen, mi lehet ennek a magyarázata.

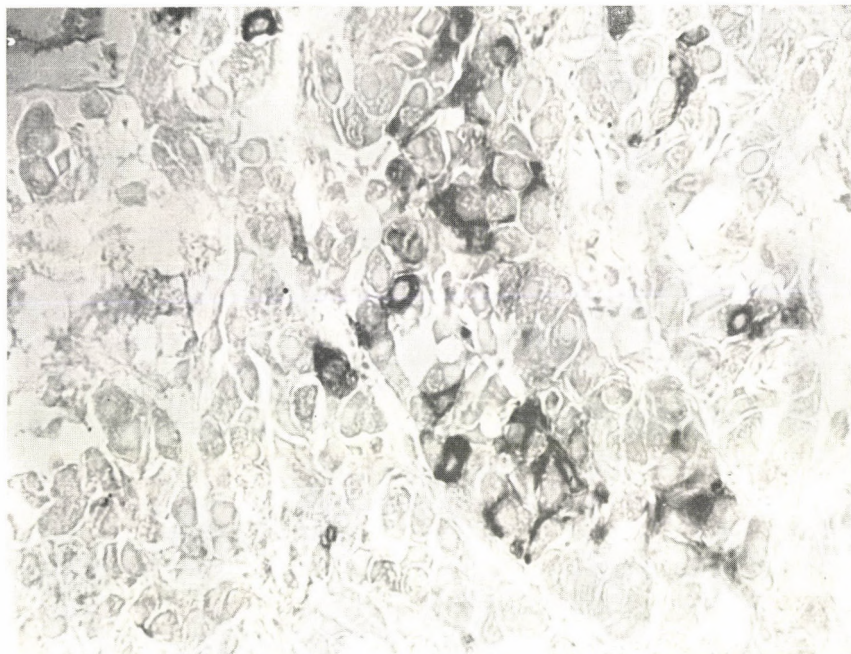
Köszönetnyilvánítás: A jelölt hormon előállításában nyújtott segítségért Csáki Lászlónak, az ACTH antiszérum előállításáért Marton Jenőnek és Meréty Katalinnak, az eredmények statisztikai kiértékeléséért Folly Gábornak, az értékes technikai segítségért Hegyi Jánosnének, Römmer Erzsébetnek és Somlyai Gábornak mondunk köszönetet.

Addendum.

A cikk beküldése óta monolayer sejtkultúrákkal végzett vizsgálatok alapján fontos tényezőnek bizonyult a tenyésztési idő megválasztása, mely alatt az ACTH elválasztás vizsgálata történik.

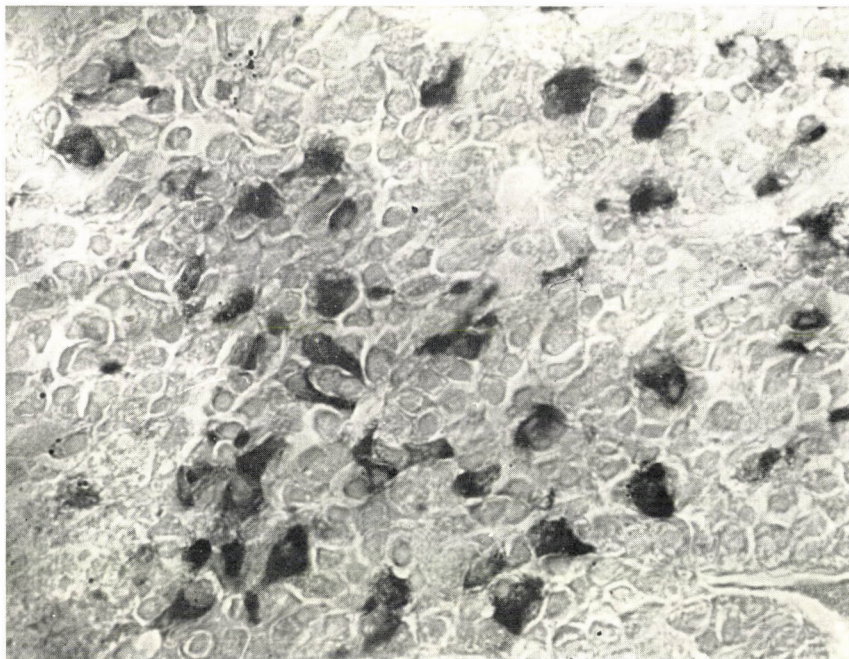
IRODALOM

1. ÁCS, Zs. and STARK, E. (1975) Effect of cortexolone on the feedback action of dexamethasone. *Experientia*, **31**, 1365.
2. ARIMURA, A., BOWERS, C. Y., SCHALLY, A. V., SAITO, M. and MILLER, M. C. (1969). Effect of corticotropin-releasing factor, dexamethasone and actinomycin D on the release of ACTH from rat pituitaries in vivo and in vitro. *Endocrinology*, **85**, 300–311.
3. BOHUS, B. and ENDRŐCZI, E. (1964). Effect of intracerebral implantation of hydrocortisone on adrenocortical secretion and adrenal weight after unilateral adrenalectomy. *Acta physiol. Acad. Sci. hung.*, **25**, 11–19.
4. BRODISH, A. (1963). Diffuse hypothalamic system for the regulation of ACTH secretion. *Endocrinology*, **73**, 727–735.
5. CHOWERS, J., FELDMAN, S. and DAVIDSON, J. M. (1963). Effects of intrahypothalamic crystalline steroids on acute ACTH secretion. *American Journal of Physiology*, **205**, 671–673.
6. CORBIN, A., MANGILI, G., MOTTA, M. and MARTINI, L. (1965). Effect of hypothalamic and mesencephalic steroid implantations on ACTH feedback mechanisms. *Endocrinology*, **76**, 811–818.
7. DAVID-NELSON, M. A. and BRODISH, A. (1969). Evidence for a diurnal rhythm of corticotrophin-releasing factor (CRF) in the hypothalamus. *Endocrinology*, **85**, 861–866.
8. DAVIDSON, J. M. and FELDMAN, S. (1963). Cerebral involvement in the inhibition of ACTH secretion by hydrocortisone. *Endocrinology*, **72**, 936–946.
9. DE KLOET, E. R., VAN DER VIES and DE WIED, D. (1974). The site of the suppressive action of dexamethasone on pituitary-adrenal activity. *Endocrinology*, **94**, 61–73.
10. DE WIED, D. (1964). The site of the blocking action of dexamethasone on stress-induced pituitary ACTH release. *Journal of Endocrinology*, **29**, 29–37.
11. DUPOUY, J. P. (1974) Sites of the negative feedback action of corticosteroids on the hypothalamo-hypophysial system of the rat fetus. *Neuroendocrinology*, **16**, 148–155.
12. ENDRŐCZI, E., LISSÁK, K. and TEKERES, M. (1961). Hormonal “feed-back” regulation of pituitary-adrenocortical activity. *Acta physiol. Acad. Sci. hung.*, **18**, 291–299.
13. FLEISCHER, N. and VALE, W. (1968). Inhibition of vasopressin-induced ACTH release from the pituitary by glucocorticoids in vitro. *Endocrinology*, **83**, 1232–1236.
14. FLEISCHER, N. and RAWLS, W. E. (1970). ACTH synthesis and release in pituitary monolayer culture: effect of dexamethasone. *American Journal of Physiology*, **219**, 445–448.
15. GANONG, W. F. (1970). Control of adrenocorticotropin and melanocyte-stimulating hormone secretion. In: Martini, L., Motta, M. and Fraschini, F. (eds.): *The hypothalamus*. Academic Press, New York and London, 313–333.
16. KOCH, B., LUTZ, B., BRIAUD, B. and MIALHE, C. (1975). Glucocorticoid binding to adeno-hypophysial receptors and its physiological role. *Neuroendocrinology*, **18**, 299–310.
17. LOWRY, O. H., ROSEBROUGH, N. J., FARR, A. L. and RANDALL, R. J. (1951). Protein measurement with folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*, **193**, 265–275.
18. MANGILI, G., MOTTA, M. and MARTINI, L. (1966). Control of adrenocorticotropic hormone secretion. In: Martini, L. and Ganong, W. F. (eds.): *Neuroendocrinology*. Academic Press, New York and London, Vol. 1, 297–370.
19. MASON, T. E., PHIFER, R. F., SPICER, S. S., SWALLOW, R. S. and DRESKIN, R. D. (1969). New immunochemical technique for localizing intracellular tissue antigen. *J. Histochem. Cytochem.*, **17**, 190–191.



1. kép. Kontroll hypophysis szervtenyészet immunhisztokémiai képe. A tenyészetet 2×24 óráig Parker 199 tápfolyadékban inkubáltuk. Nagyítás: kb. $1200 \times$.

Picture 1. ACTH immunopositive cells obtained by immunohistochemistry in control hypophysis organ culture. Culture was incubated for 2×24 hours in Parker 199 medium. Magnification: $1200 \times$.



2. kép. Dexamethasonnal kezelt hypophysis szervtenyészet immunhisztokémiai képe. A tenyészetet az első 24 órában kontroll-, a második 24 órában dexamethason (2 ug/ml) tartalmú Parker 199 tápfolyadékban inkubáltuk. Nagyítás: kb. 1200 \times .

Picture 2. ACTH immunopositive cells obtained by immunohistochemistry in dexamethasone treated hypophysis organ culture. In the first 24 hours control-, in the second 24 hours Parker 199 medium containing dexamethasone (2 ug/ml) was added to the culture. Magnification: 1200 \times .

20. MASON, T. E., PHIFER, R. F., SPICER, S. S., SWALLOW, R. S. and DRESKIN, R. D. (1969). An immunoglobulin-enzyme bridge method for localizing tissue antigens. *J. Histochem. Cytochem.*, **17**, 563–569.
21. NAKANE, P. K. (1971). Application of peroxidase-labelled antibodies to the intracellular localization of hormones. *Acta Endocrinologica, Suppl.*, **3**, 190–204.
22. REES, L. H., COOK, D. M., KENDALL, J. W., ALLEN, F., KRAMER, R. M., RATCLIFFE, J. G. and KNIGHT, R. A. (1971). A radioimmunoassay for rat plasma ACTH. *Endocrinology*, **89**, 254–261.
23. RUSSEL, S. M., DHARIWAL, A. P. S., MC CANN, S. M. and YATES, F. E. (1969). Inhibition by dexamethasone of the *in vivo* pituitary response to corticotrophin-releasing factor (CRF). *Endocrinology*, **85**, 512–521.
24. SAYERS, G., SWALLOW, R. L. and GIORDANO, N. D. (1971). An improved technique for the preparation of isolated rat adrenal cells: a sensitive, accurate and specific method for the assay of ACTH. *Endocrinology*, **88**, 1063–1068.
25. SCHAPIRO, S., MARMORSTON, J. and SOBEL, H. (1958) The steroid feedback mechanism. *American Journal of Physiology*, **192**, 58–62.
26. STARK, E., GYÉVAI, A., ÁCS, Zs., SZALAY, K. Sz. and VARGA, B. (1968). The site of the blocking action of dexamethasone on ACTH secretion: *in vivo* and *in vitro* studies. *Neuroendocrinology*, **3**, 275–284.
27. STARK, E., ÁCS, Zs., PALKOVITS, M. and FOLLY, G. (1974). Kortikoidreceptorok a központi idegrendszerben. *Orvostudomány*, **25**, 175–183.
28. WATANABE, H., NICHOLSON, W. E. and ORTH, D. N. (1973). Inhibition of adrenocorticotrophic hormone production by glucocorticoids in mouse pituitary tumor cells. *Endocrinology*, **93**, 411–416.
29. YATES, F. E. and MARAN, J. W. (1974). Stimulation and inhibition of adrenocorticotropin release. In: GREEP, R. O. and ASTWOOD, E. B. (Section eds.): *Handbook of Physiology/Endocrinology*. American Physiological Society, Washington, D. C., Section 7, Vol. 4, 367–404.

RADIOIMMUNOLOGICAL AND IMMUNHISTOCHEMICAL STUDY OF THE
EFFECT OF DEXAMETHASONE ON THE BASIC ACTH RELEASE IN RAT
HYPOPHYSIS CULTURES

E. Stark, M. Kárteszi, Angéla Gyévai and B. Bukulya

Institute of Experimental Medicine, Hungarian Academy of Sciences, Budapest

The effect of dexamethasone on the non-stimulated ACTH release was investigated both in rat hypophysis organ, and monolayer cultures. Results obtained by ACTH radioimmunoassay showed that the basic ACTH release was not significantly influenced by different doses of dexamethasone added to the culture medium.

The immunohistochemical data suggest that more, but at least not less ACTH immunopositive cells were to be found in dexamethasone treated organ cultures, than in the controls.

EMBERI MAGZATI HIPOFÍZIS SEJTTENYÉSZETEK NÖVEKEDÉSE, FINOMSZERKEZETE ÉS STH TERMELÉSE

FAZEKAS ILONA, RAPPAY GYÖRGY, BUKULYA BÉLA, STARK ERVIN és
GÁCS GÁBOR*

MTA Kísérleti Orvostudományi Kutató Intézet, Budapest
és *Simmelweis Orvostudományi Egyetem II. sz. Gyermekklinika, Budapest

Beérkezett: 1976. április 6-án

Kulcsszavak: ultrastruktúra, hormontermelés, sejttenyészet, embriológia.

Bevezetés

Még ma is vitatott kérdés, hogy az ontogenezis folyamán melyik időszakban és milyen ütemben differenciálódnak az adenohipofízis különféle hormonokat termelő sejtjei. Az is bizonyításra szorul továbbá, hogy egy adott hormon elválasztása megtörténik-e a sejtek differenciálódásának a befejeződésekor, mielőtt a hipotalamusz szabályozó működése érvényesülne. A vitatott kérdésekre adandó válaszhoz értékes eszköznek látszik a sejttenyésztési eljárás, mint *in vitro* modell alkalmazása.

Elektronmikroszkópos vizsgálatokkal kimutatták, hogy már a 8 cm-es emberi magzat hipofízisében háromféle szemcsés sejt található meg [1], de a szemcsékben tárolt hormonok minőségéről és kidobásáról nem tudósítottak. Mások tenyésztési eljárással és a tápfolyadék hormon-tartalmának egyidejű mérésével azt bizonyították [6], hogy már a 8–9 hetes magzat hipofízisében megvannak a növekedési hormon (STH) termelésének feltételei, de az ilyen tenyészetek sejtjeinek finomszerkezetét nem vizsgálták.

Mi magunk a terhesség második trimeszterének utolsó szakaszából származó agyalapi mirigy 9–40 napig életben tartott sejttenyészetekben a parenchyma sejtek finomszerkezeti bélyegeit írtuk le [11]. Ezekben a tenyészetekben négyféle szemcsés sejt jelenlétét igazoltuk.

A jelenlegi munkánkban vizsgáltuk a több mint két hónapig életben tartott kultúrákban a sejtek morfológiáját, a sejtek szaporodóképességét és élő állapotban való viselkedését, valamint mértük a tenyészetek STH termelését.

Anyag és módszer

A terhesség második trimeszterének utolsó szakaszából származó 16 emberi magzat (1. táblázat) adenohipofízisének tripszinnel diszpergált sejtjeit korábban leírt módszerünk szerint [11] ültettük ki. A sejtek életképességének és szaporodóképességének elemzésére alkalmazott és korábban leírt mikrokínematográfiai [5] és autoradiográfiai módszerünket [10] módosítás nélkül használtuk fel. A tápfolyadékban levő STH mennyiségét HERBERT és mtsai-

nak [8] módszerével mértük és a méréseredményeket ng/ml/48 óra értékekben adtuk meg. A kultúrák sejtszuszpenzióinak finomszerkezetét kettős fixálás után Durcupan ACM-be ágyazott, uranilacetáttal és ólomcitráttal festett vékony metszetekben, JEM 6AS elektronmikroszkópban vizsgáltuk [10,11].

I. táblázat
A kísérleti anyagok jellemzői

A kultúra száma	A magzat		A tenyésztés időtartama (nap)	Elektronmikr. vizsgálat	STH meghatározás
	neme	kora (hét)			
1	fiú	20	nem tenyésztett	+	-
2	fiú	20	9	+	-
3	fiú	24	9	+	-
4	leány	24	9	-	+
5	fiú	24	14	-	+
6	fiú	20	15	+	-
7	leány	22	16	-	+
8	leány	20	20	+	+
9	fiú	22	22	+	-
10	fiú	25	28	+	+
11	leány	20	40	+	-
12	fiú	26	59	+	+
13	fiú	21	61	+	+
14	leány	22	68	-	+
15	leány	26	75	+	+
16	leány	24	78	+	+

+ történt
- nem történt

Eredmények

A sejtszuszpenziók életképes sejtjei 24—48 óra alatt megkapaszkodtak a műanyag tenyésztő-edények alján vagy a tenyésztőedénybe helyezett üveg fedőlemezen. A tapadás után bizonyos sejtek nyúlványokat fejlesztettek, másoknak alig volt nyúlványuk. A később tárgyalandó hormonmérések eredményéből arra lehetett következtetni, hogy a tenyésztés 7—12 napja kritikus időpont a kultúrák életében. Ezért indokoltnak látszott a sejtek életképességét ebben a periódusban tüzetesebben megvizsgálni.

Fázis-kontraszt mikrokineematográfiai felvételeken kétféle sejtípust lehetett megkülönböztetni: fázis-sötét és fázis-világos sejteket. Ezek kolóniákat képeztek és citoplazmájukban élénken mozgó szemcséket láttunk (1. és 2. kép). Ezekről azonban csak ritkán lehetett megállapítani, hogy szekréciós szemcsék, mitokondriumok vagy egyéb struktúrák. A szekréciós szemcséket csak elektronmikroszkópos felvételeken lehetett jól azonosítani (3. kép). Mind a világos, mind a sötét sejtek élénk citoplazma-membrán mozgást mutattak. A sejtek nem vándoroltak. Több órás (4—48 óra) filmezés alatt sem volt tömeges sejtpusztulás, sőt gyakran láttunk osztódó sejteket, világosakat és sötéteket egyaránt (1. és 2. kép). Postmitotikus sejteket újraosztódni nem

láttunk, így a sejtek generációs ciklusának időtartamát nem tudtuk meghatározni.

Fénymikroszkópos autoradiogrammokban meghatároztuk a tenyészetek DNS-prekurzort beépítő sejtjeinek százalékos arányát. 1—2 hetes kultúrákban az összes sejtek 12%-a, 5 hetes kultúrákban 5,5%-a épített be triciált timidint (II. táblázat és 4. kép).

II. táblázat

A ³H-timidint beépítő sejtek %-os aránya 1, 2 és 5 hetes kultúrákban

A magzat kora (hét):	16	20	20
A magzat neme:	fiú	leány	fiú
A kultúra kora (nap):	7	14	35
Az „S” fázisban levő sejtek %-os aránya:	12,0	11,9	5,5

Elektronmikroszkóposan vizsgálva, a tenyésztésre nem került magzati hipofízisben a sejtek többsége szekréciós szemcséket tartalmazott (5. kép). A szemcsesűrűség az egyes sejtekben tág határok között ingadozott. A 25 vagy annál több szekréciós szemcsét tartalmazó sejtekben megmértük a szemcséátmérőket. A szemcsék mérete és egyéb finomszerkezeti bélyegek (Golgi-régió fejlettsége, szemcséképződési jelek a Golgi-régióban, mitokondriumok száma és alakja, az endoplazmás retikulum szerkezete stb.) alapján négyféle sejtípust különböztettünk meg. A szemcseméreteket a III. táblázatban foglaltuk össze. 9—59 napos tenyésztés alatt gyakorlatilag nem változott a szekréciós szemcséket tartalmazó sejtek minőségi összetétele, azaz a kiindulási anyagokban felismert sejtípusok a kultúrákban is előfordultak. Csökkent azonban a legkisebb méretű szemcséket tartalmazó sejtek aránya.

III. táblázat

*A szemcsés sejtek száma és a szemcseméretek megoszlása a kiindulási anyagban és különféle korú kultúrákban**

Szemcséátmérők nm-ben	Sejtek száma a kiin- duláskor	Sejtek száma a különféle korú kultúrákban				
		9	15	22	40	59 nap
100—200	9	7	7	2	5	4
200—300	5	8	4	7	4	16
300—400	5	4	8	6	3	6
500-nál nagyobb	1	2	1	5	10	2
	20	21	20	20	22	28

* A 25 vagy annál több szemcsét tartalmazó sejtekben

Viszonylag nagy szemcséket tartalmazó epiteliális sejtek telepeit lehetett megfigyelni az 59 napig tenyésztett kultúrákban (3. kép), a Golgi-régióban való szemcséképződés jeleivel együtt. A 61—78 napig tenyésztett kultúrákban kevés hámtelep volt. Szemcsés sejtek azonban még ezekben is voltak (6. kép).

A tápfolyadékok STH tartalmának mérési eredményeit a IV. táblázat tartalmazza. A mérésre került kultúrákban az első három napon mindig volt STH a tápfolyadékban, némelyik 1000 ng/ml-nél több hormont tartalmazott. A tenyésztés 7–12. napjai között általában csökkent a tápfolyadék STH tartalma. Öt magzat hipofíziséből készült kultúrákban a növekedés 50 nap-

IV. táblázat
Növekedési hormontermelés (ng/ml/48 óra) emberi embrionális hipofízis kultúrákban

A kultúra száma A magzat kora (hét) A magzat neme	4 24 leány	5 24 fiú	7 22 leány	8 20 leány	10 25 fiú	12 26 fiú	13 21 fiú	14 22 leány	15 26 leány	16 24 leány
A kiültetés utáni napok										
0–3	335	1000	430	1000			290	1000		335
4–6										220
7–9	100				380				290	
10–12		750								
13–15			210				50		50	10
16–18				750						
19–21						195				
22–24					35	115				0
25–27						125	15	1000	15	
28–30										
31–33										
34–36										
37–39										
40–42							30	310	30	
43–45								60		
46–48										40
49–51										
52–54						70				
55–57							15		15	
58–60						110		40		
61–63										
64–66										2
67–69										
70–72										
73–75										
76–78										15

nál hosszabb ideig zavartalan volt és ez tükröződött is az STH termelésükben. A kibocsátott hormon mennyisége ugyan fokozatosan csökkent, mégis 15 ng/ml STH-t lehetett kimutatni még a 78 napig tenyésztett sejtek tápfolyadékában is.

Megbeszélés

Mikrokinematográfias és autoradiográfias vizsgálatok alapján munkánkból először az a következtetés vonható, hogy tenyésztési módszerünk alkalmas az emberi magzati hipofízis sejt kultúrák életképességének és proliferációjának fenntartására. Minthogy specifikus immunhisztokémiai módszerrel nem vizsgáltuk a növekedési hormont termelő sejtek számának és festődésük intenzitásának a tenyésztési idő alatti alakulását, a tápfolyadékba kiválasztott

STH mennyiségének méréséből következtettünk a szomatotrop sejtek jelenlétére. Minden egyes kultúrában megtaláltuk a hormontermelés finomszerkezeti bélyegeit és minden kultúra tápfolyadékában kimutattunk STH-t, azonban leleteink nem mutattak a magzatok korával vagy nemével összefüggő szabályszerűséget. Kultúránk hormontermelése más szerzők [4, 6, 7, 16] eredményeivel összhangban van.

Az egyes kultúrák hormontermelésében mennyiségi különbségek mutatkoztak: az első tápfolyadékok hormontartalma változatos volt, a tenyésztési idő függvényében ingadoztak és csökkentek a termelési értékek. Hasonló eredményekről számoltak be mások is. GAILANI és mtsai [6] a mi módszerünktől kissé eltérő körülmények között ültették ki anyagaikat; a felhasznált magzati hipofízisek számához viszonyítva kevés jól termelő kultúrát tudtak készíteni. Szervtenyészetekben pedig azt mutatták ki [9], hogy hirtelen és rövid időn belül csökken az STH termelés a magzati hipofízis explantátumokban. Felnőtt emberi hipofízis kultúrákban REUSSER és mtsai [12] immunhisztokémiai módszerrel szomatotrop sejteket nem tudtak kimutatni és a tápfolyadékban sem volt mérhető mennyiségű STH. TASHJIAN [15] egyetlen magzati és két betegtől származó felnőtt hipofízis tenyészetének vizsgálatából arra a következtetésre jutott, hogy az STH bioszintézise és kiválasztása akár egy évig is folyamatos lehet. Felnőtt patkány hipofízis sejttenyészetekben a tenyésztési idővel arányosan csökken az immunhisztokémiaileg kimutatható szomatotrop sejtek aránya és az STH termelés viszonylag rövid időn belül csökken, majd megszűnik [2].

Úgy látszik tehát, hogy mind az embrionális, mind a felnőtt hipofízis szomatotrop sejtjei *in vitro* környezetben általában csak korlátozott ideig képesek specifikus működésre. Ennek egyebek között az lehet az oka, hogy a szomatotrop sejtek fokozatosan transzformálódnak, vagy osztódóképességüket elveszítik és utánpótlásuk *in vitro* körülmények között nem történik meg, vagy fennmaradásukhoz és specifikus működésükhöz a hipotalamikus ellenőrzés is szükséges. Más sejtfajtáknak, pl. a laktotrop [9, 16] és a kortikotrop sejteknek [3, 13, 14] az *in vitro* hormontermelése zavartalan, ami arra enged következtetni, hogy szomatotropok hosszú idejű tenyésztéséhez és hormontermeléséhez szükséges feltételeket még nem eléggé ismerjük.

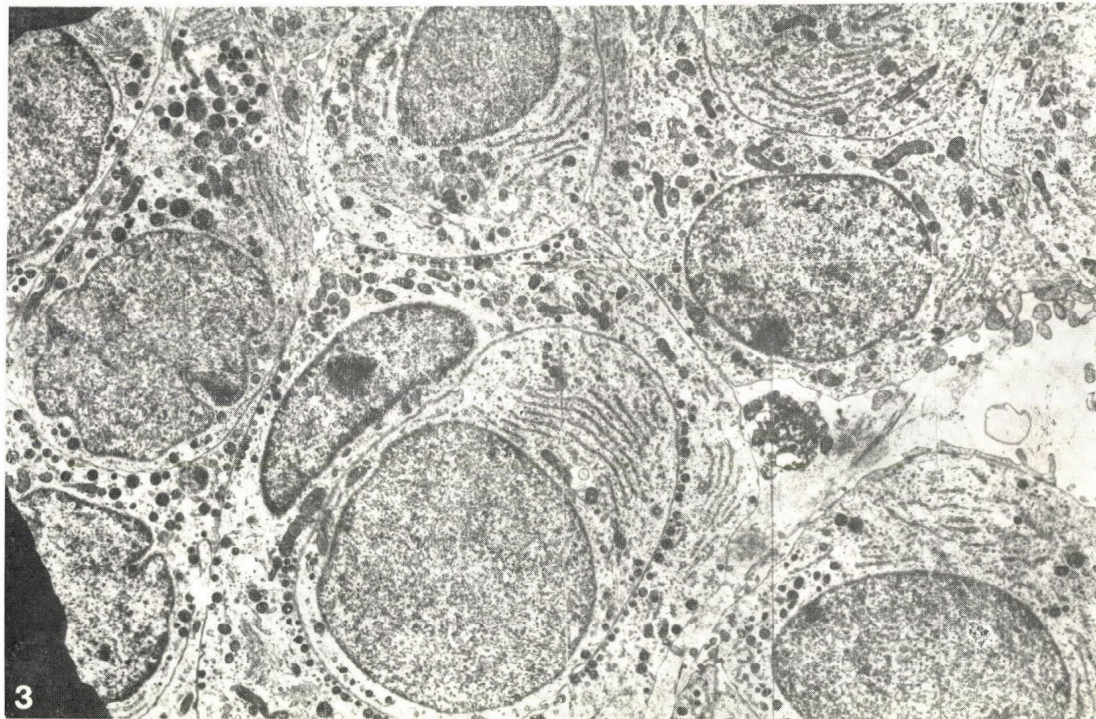
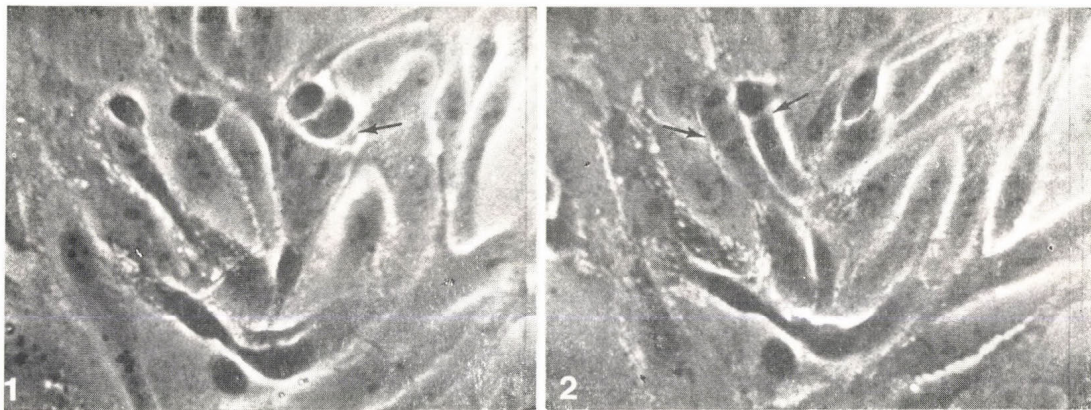
Összefoglalás

20—26 hetes emberi magzatok adenohipofíziseinek tripszinnel diszpergált sejtjeit ültették ki és 9—78 napig tenyésztették. A tenyészetek növekedését és proliferációs képességét részint triciált timidin beépülés, részint mikrokinematográfiai felvételek alapján ítélték meg. A DNS prekuzort beépítő sejtek aránya a tenyésztés első két hetében 10%-ot, az ötödik héten 5%-ot tett ki. A mikrokinematográfiai felvételeken gyakran figyeltek meg osztódó sejteket „világos” és „sötét” sejtek egyformán előfordultak a fáziskontraszt felvételeken; a sejtek vándorlási sebessége minimális volt. Elektronmikroszkópban a szekréción szemcsék mérete alapján négyféle sejtet különböztettek meg. A szekréción szemcsék száma 61—78 napos tenyészetekben kevesebb volt, mint korábban. Kezdetben a tápfolyadék 300—1000 ng/ml/48 óra, később pedig kevesebb STH-t tartalmazott, de még a 78 napos tenyészetek tápfolyadéká-

ban is 15 ng/ml/48 óra hormont lehetett kimutatni. A terhesség második trimeszterében tehát megvannak a növekedési hormon termelésének feltételei.

IRODALOM

1. ANDERSEN, H., VON BÜLOW, F. A., MØLLGÅRD, K. (1970) The histochemical and ultrastructural basis of the cellular function of the human foetal adenohypophysis. *Progr. Histochem., Cytochem.*, **1**, 153–181.
2. BAKER, B. L., REEL, J. R., VAN DEWARK, S. D., and Y., Y.-Y. (1974) Persistence of cell types in monolayer cultures of dispersed cells from the pituitary pars distalis as revealed by immunohistochemistry. *Anat. Rec.*, **179**, 93–106.
3. BÁCSY, E., TIXIER-VIDAL, A., MARTON, J., TOUGARD, D. STARK, E., (1976) Corticotroph cells in primary cultures of rat adenohypophysis: A light and electron microscopic immunocytochemical study. *Histochemistry*, **50**, 161–174.
4. BELLEVILLE, F., HARTEMANN, P., PAYSANT, P. et NABET, P. (1973) Incorporation de la leucine marquée (Leu. ^3H) dans les protéines sécrétées par les cellules hypophysaires en culture. *C. R. S. Soc. Biol.*, **167**, 305.
5. FAZEKAS, ILONA, RAPPAY, GY., CSAPÓ, I. and GYÉVAI, ANGÉLA (1974) Microcinematography: a useful tool for studying hypophyseal cells in monolayer culture. *Acta biol. Acad. Sci. Hung.*, **25**, 25–31.
6. GAILANI, S. D., NUSSBAUM, ANNIE, MCDUGALL, J. W., and MCLIMANS, W. F. (1970) Studies on hormone production by human fetal pituitary cell cultures. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **134**, 27–32.
7. HARTEMANN, PH., PAYSANT, P., BELLEVILLE, F., GILGENKRANTZ, S., MALAPRADE, D. et NABET, P. (1972) Isolement d'un clone de cellules sécrétant de l'hormone somatotrope humaine en culture de tissu. *C. R. S. Soc. Biol.*, **166**, 1053.
8. HERBERT, V., LAU, K.-S., GOTTLIEB, CH, W. and BLEICHER, S. J. (1965) Coated charcoal immunoassay of insulin. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, **25**, 1375–1384.
9. PASTEELS, J. L. (1963) Recherches morphologiques et expérimentales sur la secretion de prolactine. *Arch. Biol.*, **74**, 439–553.
10. RAPPAY, GY., GYÉVAI, ANGÉLA, KONDICS, L. and STARK, E. (1973) Growth and fine structure of monolayers derived from adult rat adenohypophyseal cell suspension. *In vitro*, **8**, 301–306.
11. RAPPAY, GY., FAZEKAS, ILONA, BUKULYA, B., GYÉVAI, ANLÉLA and STARK, E. (1974) Fine structural evidence for hormone production by human foetal hypophyseal cell cultures. *Acta anat.*, **89**, 572–576.
12. REUSSER, F., SMITH, C. G., and SMITH, C. L. (1962) Investigations on somatotropin production of human anterior pituitary cells in tissue culture. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **109**, 375–378.
13. STARK, E., GYÉVAI, ANGÉLA, SZALAY, KATALIN and ÁCS, ZSUZSA (1965a) Hypophyseal-adrenal activity in combined human foetal tissue cultures. *Canad. J. Physiol.*, **43**, 1–7.
14. STARK, E., GYÉVAI, ANGÉLA, SZALAY, KATALIN and PÓSZALAKY, Z. (1965b) Secretion of adrenocorticotrophic hormone by hypophysial cells grown in monolayer culture. *J. Endocrin.*, **31**, 291–292.
15. TASHJIAN, A. H. JR. (1969) Animal cell cultures as a source of hormones. *Biotechn. Bioeng.*, **11**, 109–126.
16. TIXIER-VIDAL, A., GOURDJI, D., TONGARD, D. (1975) A cell culture approach to the study of anterior pituitary cells. *Internat. Rev. Cytol.*, **41**, 173–239.



1. és 2. kép. Húsz hetes magzat hipofíziséből készült 10 napos sejtenyészet fáziskontraszt-mikrokinematográfiai felvételeinek képkockái. Az első és második kép felvétele között 66 perc telt el. A két képen fázissötét és világos sejtek egyaránt láthatók: a nyilak osztódó-sejtekre mutatnak. Nagyítás: 270 \times .

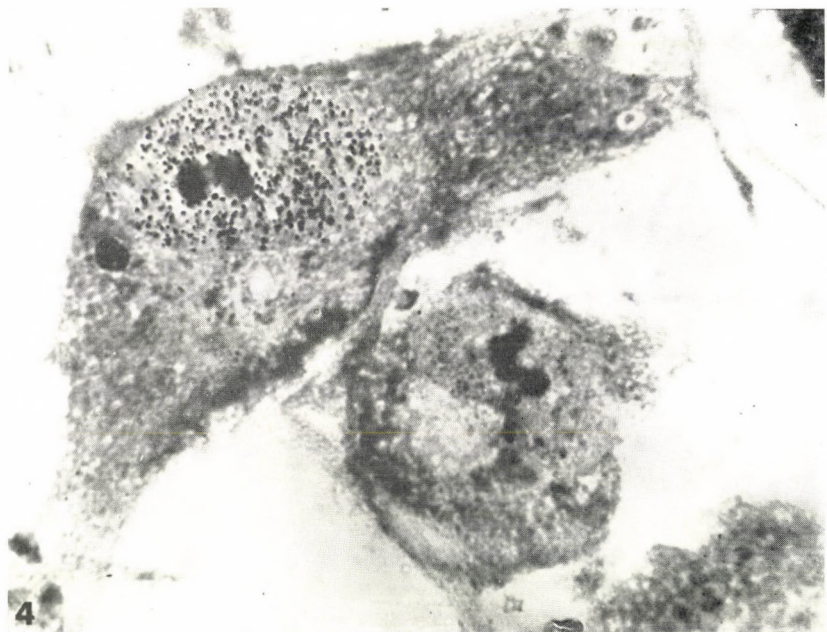
Figs. 1 and 2. Frames of phase contrast microcinematography of a 10 day-old pituitary culture of a 20 weeks old foetus. 66 minutes elapsed between taking figs 1 and 2. Arrows indicate dividing cells.

Magnification: 270 \times

3. kép. Fotomontázs 59 napig tenyésztett magzati hipofízis sejtszuszpenzió elektronmikroszkópos felvételeiből. A kép minden egyes sejtjének citoplazmájában sok szekréciós szemcse található.

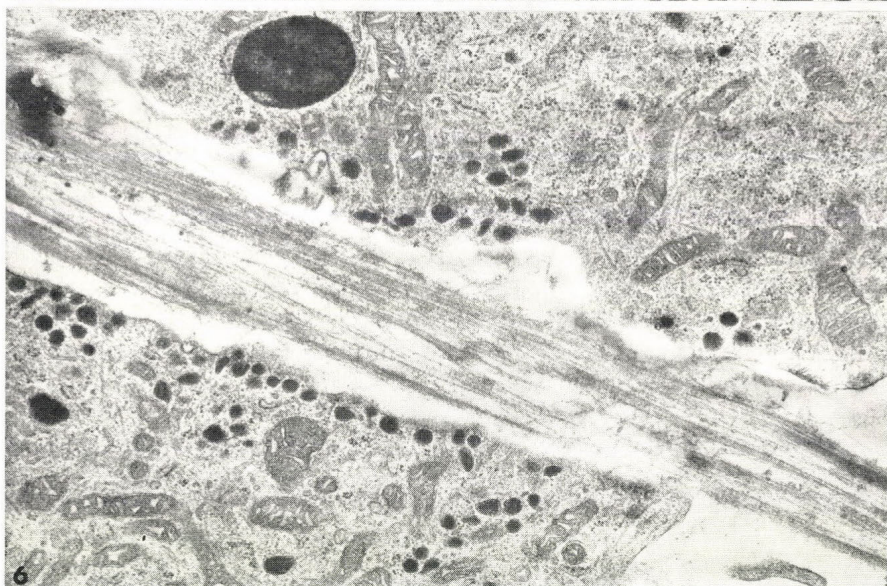
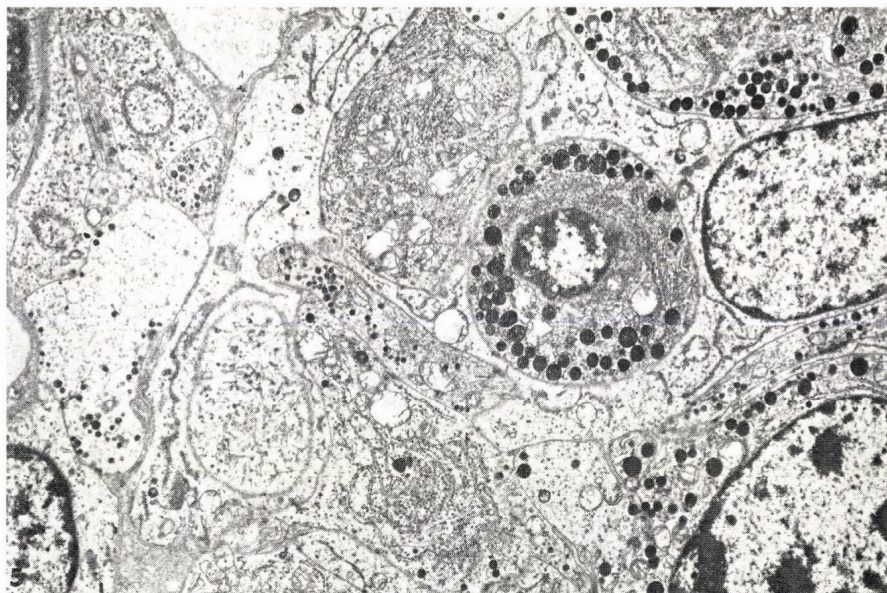
Nagyítás: 4000 \times .

Fig. 3. Electrone-microscopic montage from a 59 day-old pituitary cell culture. Each cell contains many secretory granules in the cytoplasm. Magnification: 4000 \times



4. kép. Autoradiogramm magzati hipofízis sejt-szuszpenzió 33 napos tenyészetéből, 1 órási ³H-timidin jelzés után. A nyúlványos bazofil citoplazmájú sejt magja felett jól látszanak az ezüstszemcsék. Nagyítás: 1150 ×.

Fig. 4. Light-microscopic autoradiograph from a 33 day-old pituitary culture exposed to ³H-thymidine for one hour. Note silver grains over the nucleus of a basophilic cell.
Magnification: 1150 ×



5. kép. 20 hetes fiú magzat intakt hipofíziséből készült elektronmikroszkópos felvétel. Különböző méretű szemcséket tartalmazó parenchymasejtek és „kromofób” sejtek egyaránt megtalálhatók. Nagyítás: 5300 ×.

Fig. 5. Electron micrograph of the intact hypophysis of a 20 weeks old male foetus. Both parenchymal and chromophobic cells occur.
Magnification: 5300 ×

6. kép. 24 hetes leány magzat hipofízis sejt-suszpenziójából készült tenyészet két sejtjének elektronmikroszkópos felvétele. Szekréciós szemcsék a sejtek citoplazmájának periferiáján láthatók. Nagyítás: 21 800 ×.

Fig. 6. Electron micrograph of a 75 day-old pituitary cell culture of a 24 weeks old female foetus. Note secretion granules at the cell periphery.
Magnification: 21 800 ×

GROWTH, FINE STRUCTURE AND STH PRODUCTION OF HUMAN FOETAL
HYPOPHYSEAL CELL CULTURES

Ilona Fazekas, Gy. Rappay, B. Bukulya, E. Stark and G. Gács

Trypsin-dispersed adenohipophyseal cells from 20–26 weeks old human foetuses were explanted and cultured for 9 to 78 days. Growth and proliferative capacity of the cultures were studied by means of tritiated thymidine incorporation and of microcinematography. Proportion of cells incorporating the DNA precursor was 10% in the first two, and 5% in the fifth week of culture. Microcinematographically, dividing cells were often seen; both phase-light and -dark cells occurred equally; the cells migrated slowly, if at all. Electron microscopically, four cell types were distinguished on the basis of size of the secretory granules. The number of secretory granules was lower at 61–78 days than earlier. Initially the STH content in the culture medium ranged between 300 and 1000 ng/ml/48 hours, later it was decreased, but as much as 15 ng/ml/48 hours STH could still be measured in the media of 78 days cultures.

Hence, conditions for growth hormone production by the pituitary cells are present in the second trimester of pregnancy.

TSH ÉS MELATONIN EGYÜTTMŰKÖDÉSE PATKÁNY PAJZSMIRIGY JÓD TURNOVERÉNEK SZABÁLYOZÁSÁBAN

U. NAGY ZSUZSANNA és CSABA GYÖRGY

Semmelweis Orvostudományi Egyetem Biológiai Intézete, Budapest

Béérkezett: 1976. február 16-án

Kulcsszavak: TSH; melatonin; pajzsmirigy; ^{131}I felvétel; receptor.

A pajzsmirigy működésének legfontosabb szabályozója a thyrotropin (TSH), azonban az utóbbi évek vizsgálataiból úgy tűnik, hogy a biogén aminok is szerepet játszanak a szabályozásban [13]. A melatonin, a corpus pineale hormonja gátolja a pajzsmirigy jódfelvételét és szekrécióját [2, 3, 5, 12, 16], míg a szerotonin a jódfelvételt serkenti [6]. A kísérletek alapján a két hormon fiziológiás összjátéka is valószínűnek tűnik [8]. A regulációban a hízósejtek mint biogén amin tartalmazó sejtek elsőrendű szerepet játszanak [4, 7] és működésüket a TSH befolyásolja [9, 10, 14].

Jelen kísérleteinkben a pajzsmirigy jód turnoverét vizsgáljuk TSH és melatonin, ill. a kettő együttes alkalmazásának hatására.

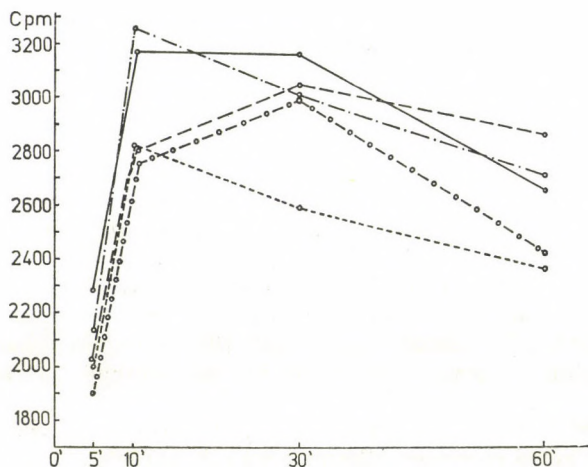
Anyag és módszer

40 db 150–170 g súlyú Wistar CB patkányt (csoportonként 8 állat) használtunk fel kísérleteinkben. Az állatok egy csoportja 3 I.E./állat TSH-t (Ambinon, Organon-Oss) kapott, a másik csoport 150 μg /állat melatonint (Koch-Light, Colnbrook-Bucks), mindkét esetben i.p. A harmadik csoportban a TSH-t és melatonint egyszerre kapták az állatok hasonló dózisban, míg a 4. csoportban a melatonin beadása 10 perccel megelőzte a TSH kezelést. Az 5. csoport a kontroll volt. Minden állat a kezelés után 10 perccel 5 $\mu\text{Ci}/100$ g testsúly Na^{131}I -t kapott i.p.. 5–10–30 és 60 perc múlva az állatok pajzsmirigye felett SCHÜLLEROVA és mtsai [15] módszere szerint *in vivo* mértük az aktivitást.

Eredmények és megvitatás

Az eredményeket az 1. sz. ábra foglalja össze. A hormonok hatását csak az egy órás időtartamon belül mértük, amikor még a TSH pajzsmirigy hormon szekréciót fokozó hatása dominált [1, 11]. Az eredményekből világos, hogy a melatonin nemcsak a jód felvételét, hanem annak kiürülését is gátolja. Ugyanakkor a TSH hatására már 5 perccel a beadása után a kontrollnál alacsonyabb értéket kapunk, majd a továbbiakban a pajzsmirigy jódtartalma az összes csoporthoz viszonyítva a legalacsonyabb. Feltűnő, hogy az első 10 percben nincs különbség a melatonin és a TSH hatás eredménye között, mindkét hormon csökkenti a jód szintet a pajzsmirigyben. Ugyanakkor, mint

ez korábbi kísérletekből kiderült, a mechanizmus eltérő: a melatonin úgy csökkent, hogy gátolja a jód felvételét, míg a TSH növeli a szekréción. Ez az ellentét megmutatkozik a későbbi időpontokban is, mert a melatonin szekréción gátló hatása révén 30 perc múlva a pajzsmirigy jódtartalma a kontroll szinthez közelít, illetve 60 perc múlva még is haladja azt, míg a TSH hatására 30 és 60 perc múlva a legalacsonyabb jódtartalmat kapjuk.



I. ábra. A melatoninnal és TSH-val végzett önálló együttes kezelés hatása a pajzsmirigy jódtartalmára. — kontroll, --- melatonin, TSH -.-. melatonin + 10 perc múlva TSH, —o—melatonin + TSH együtt.

Fig. 1. The effect of the separate and combined treatment with melatonin and TSH on the iodine content of the thyroid. — control, --- melatonin, TSH -.-. melatonin + TSH in 10 mins, —o— melatonin + TSH together.

Ha a melatonin kezelés megelőzi a TSH hatást, a jódfelvétel még a kontroll értéket is meghaladja az öt és tíz perces vizsgálatkor. Ezután a jód rohamosan ürül ki, de hatvan perc múlva is csak a kontroll körüli értéket kapjuk. Ha a melatonint és a TSH-t együtt adagoljuk, a felvétel a kontrollnál alacsonyabb, a görbe a melatonin önálló kezelésekor kapott görbével szinte azonos módon fut 30 percig, majd a pajzsmirigy jódtartalma rohamosan csökken és 60 perc múlva gyakorlatilag eléri a TSH önálló kezelésekor kapott értéket.

Az irodalomból ismeretesek olyan adatok [13], melyek alapján feltételezhető, hogy az aminok és a TSH azonos, vagy egymáshoz közeli receptorokhoz kötődnek. Ez a jelen kísérletek alapján is valószínűnek tűnik. A melatonin ugyanis, ha a receptoron meg tudja előzni a TSH-t, erősen gátolja ennek szekréción fokozó hatását, sőt a jódfelvételel fokozó hatás kerül előtérbe. Ha egyidejűleg adtuk a két hormont, akkor kezdetben a melatonin hatása, később a TSH-é érvényesült. A melatonin tehát a TSH hatását jelentős mértékben módosítani tudja.

A kísérletek alapján feltételezhető a TSH és a melatonin együttműködése a pajzsmirigy szabályozásában.

Összefoglalás

A melatonin gátolja a jód felvételét és kiürülését a pajzsmirigyben. Ha a melatonin a TSH-t megelőzőleg adjuk, a jód felvétele fokozódik, a kiürülés lelassul. A két hormon egyidejű alkalmazásakor kezdetben a melatonin, később a TSH hatása dominál. Ily módon a melatonin a TSH hatását módosítani tudja.

IRODALOM

1. ASTWOOD, E. B.: (1970) Thyroid and antithyroid drugs. In: Goodman S. L., Gilman A.: The pharmacological basis of therapeutics. MacMillan Co. London.
2. CSABA, G., KISS, J., and BODOKY, M.: (1968) Uptake of radioactive iodine by the thyroid after pinealectomy. *Acta biol. Acad. Sci. hung.*, **19**, 35–41.
3. CSABA, G., RÉTI I., and FISCHER, J.: (1970) Effect of pineal body on thyroid thymus correlations. *Acta med. Acad. Sci. hung.*, **27**, 183–189.
4. CSABA, G., and BARÁTH, P.: (1973) Tritiated 5-hydroxytryptamine uptake of the mast cells in the rat thyroid gland. *Neuroendocrinology*, **12**, 67–70.
5. CSABA, G., and NAGY, S. U.: (1973) The regulatory role of pineal gland on the thyroid gland, adrenal medulla and the islets of Langerhans. *Acta biol. med. germ.*, **31**, 617–619.
6. CSABA, G., and NAGY, S. U.: (1974) The control function of biogenic amines regulating the thyroid gland. *Acta biol. med. germ.*, **33**, 241–244.
7. CSABA, G., and BARÁTH, P.: (1974) Effect of pinealectomy on the ³H-5-HT uptake of mast cells on the thyroid gland of the rat. *Acta Anat. (Basel)*, **89**, 442–451.
8. CSABA, G., and RICHTER, T.: (1975) Collaboration of serotonin and melatonin in the control of thyroid function. *Acta biol. med. germ.*, **34**, 1097–1100.
9. ERICSON, L. E., HAKANSON, R., MELANDER, A., OWMAN, CH., and SUNDLER, F.: (1972) TSH induced release of 5-hydroxytryptamine and histamine from rat thyroid mast cells. *Endocrinology*, **90**, 795–801.
10. GAAL, J. M., KOVÁCS, K., and SELLERS, E. A.: (1974) A correlative study of thyroid mast cells and thyroid function in the rat. *Endocrinologie*, **63**, 331–336.
11. INGBAR, S. H., and WOEBER, K. A.: (1968) The thyroid gland. In R. H. Williams: Textbook of endocrinology. Saunders, Philadelphia.
12. ISHIBASHI, T., HAHN, D. W., SRIVASTAVA, C., KUMARESAN, P., and TURNER, C.: (1966) Effect of pinealectomy and melatonin on feed consumption and thyroid hormone secretion rate. *Proc. Soc. Exp. Biol. (N. Y.)*, **122**, 644–647.
13. MELANDER, A., and SUNDLER, F.: (1972) Interactions between catecholamines, 5-hydroxytryptamine and TSH on the secretion of thyroid hormone. *Endocrinology*, **90**, 188–193.
14. MELANDER, A., and SUNDLER, F.: (1972) Significance of thyroid mast cells in thyroid hormone secretion. *Endocrinology*, **90**, 802–807.
15. SCHÜLLEROVÁ, M., KAPITOLA, J., and SCHREIBEROVÁ, O.: (1970) Simple method of *in vivo* measurement radioiodine uptake by thyroid in rats. *Endocrin. Experiment.*, **4**, 171–177.
16. SINGH, D., and TURNER, C. W.: (1972) Effect of melatonin upon thyroid hormone secretion in female hamsters and male rats. *Acta Endocrin.*, **69**, 36–40.

TSH AND MELATONIN COLLABORATION IN THE REGULATION OF IODINE TURNOVER IN THE RAT THYROID

S. U. Nagy and G. Csaba

Biological Institute of the Semmelweis Medical University, Budapest

Melatonin inhibits iodine uptake and elimination in the thyroid gland. If the melatonin is added before TSH then the iodine uptake rises and elimination decreases. With simultaneous application of the two hormones at first melatonin, later the TSH effect dominates. In such a way the melatonin can change the TSH effect.

A HÍZÓSEJTEK RÉSZVÉTELE A PAJZSMIRIGY MELATONIN ÉS SEROTONIN ANTAGONIZMUS ÁLTAL TÖRTÉNŐ SZABÁLYOZÁSÁBAN

RICHTER TAMÁS, ZALATNAY ATTILA és CSABA GYÖRGY
Semmelweis Orvostudományi Egyetem Biológiai Intézete, Budapest

Beérkezett: 1976. március 26-án

Kulcsszavak: pajzsmirigy, hízósejt, melatonin, szerotonin, szabályozás.

Intézetünkben végzett korábbi kísérletekben a biogén aminok pajzsmirigy működését szabályozó szerepét vizsgáltuk [5, 6, 8]. Autoradiográfiás vizsgálatokkal kimutatható volt, hogy patkányban a corpus pineale eltávolítása után a pajzsmirigy jódfelvétele nőtt, míg melatoninnal ellentétes hatás volt elérhető. Serotonin hatására a pajzsmirigy jódraktározása fokozódott [6]. Kimutatható volt az is, hogy a szerotonin jódfelvételt fokozó és a melatonin jódfelvételt csökkentő hatását szerotonin antagonistákkal (methysergid és cyproheptadin) kivédhetjük, illetve csökkenthetjük [8].

A pajzsmirigy hízósejtjei a szervezetben levő hízósejtektől eltérőleg szerotonin felvételére képesek [4]. A corpus pineale eltávolítása után a szerotonin fokozott mértékben raktározódik [7]. A hízósejtek a szerotonint leadják, és ez hat a follicularis sejtek működésére [7, 10, 11, 13]. Ennek alapján feltételezhető volt, hogy az általunk alkalmazott szerotonin, illetve melatonin kezelések alkalmával hízósejtes mediáció játszana szerepet, éppúgy, mint ahogy a TRH-TSH hatásmechanizmusban is szerepet kapnak a hízósejtek. E probléma tisztázására lehetőséget nyújt, ha egy korábbi kísérletünk [8] anyagait, melyekben autoradiográfiás módszerrel regisztráltuk a jódfelvétel változásait aminok és antagonistáik hatására, megvizsgáljuk a hízósejtek mennyiségi és minőségi változásainak szempontjából is.

Anyag és módszer

Kísérleteinket 200 g-os Wistar CB patkányokon végeztük. A hét kísérleti csoport (csoportonként három állat) a következő kezelésben részesült:

1. kontroll, 2. methysergid (Deseryl-Sandoz), majd melatonin (Fluka), 3. cyproheptadin (Peritol-EGYT), majd melatonin, 4. methysergid, majd szerotonin (szerotonin creatinin sulphat-Reanal), 5. cyproheptadin, majd szerotonin, 6. melatonin, majd szerotonin, 7. szerotonin, majd melatonin.

A melatonin, ill. szerotonin dosisa 200 $\mu\text{g}/\text{állat}$, a methysergid dosisa 10 $\mu\text{g}/\text{állat}$, a cyproheptadin dosisa pedig 200 $\mu\text{g}/\text{állat}$ volt. Az anyagok bevitelére i.p. történt 10 perces időkülönbséggel, majd újabb 20 perc eltelté után az aether narcosisban eltávolított pajzsmirigy darabkákat glutáraldehydben, majd osmiumtetroxydban fixáltuk. A beágyazás Durcupan ACM-be (Fluka) történt, majd az anyagokból 1 μ -os metszeteket készítettünk, melyek egy részét toluidinkéssel festettük meg tájékozódó vizsgálat céljára, másik részét — az

araldit natrium methylattal történő eltávolítása után [12] alciánkék safraninnal 30 percig festettük. A hízósejtek számolása 16×63 nagyítás mellett okulárnetz segítségével történt, csoportonként legalább négy síkból származó 500 látóteret vizsgáltunk meg. A hízósejtek fenti módszerrel vizsgálható hisztokémiai sajátosságait, valamint a degranuláció mértékét figyelembe véve a táblázatban feltüntetett csoportokat állítottuk fel.

Eredmények és megvitatás

A vizsgálatok számszerű eredményeit és azok összevetését a korábbi kísérletekben kapott jódfelvételi értékekkel az 1. sz. táblázat foglalja össze.

1. táblázat

*Amin—amin és amin—antagonista kombinációk hatása a hízósejtekre és a jód felvételére (8).
(Az adatok a kontrollérték százalékában vannak feltüntetve).*

	1. kontroll	2. methys.- -mel.	3. cypr.- -mel.	4. methys.- -ser.	5. cypr.- -ser.	6. mel.- -ser.	7. ser.- -mel.
Összes hízósejtek száma	100%	152 p < 0,3	130	152	122	126	143
Safranin pozitív, ép hízósejtek	100%	173 p < 0,2	166 p < 0,2	181	128	110	116
Safranin pozitív, degranulálódó sejtalakok	100%	92	77	102	83	104	93
Vegyes granulációjú, ép hízósejtek	100%	109	155 p < 0,5	48	262 p < 0,3	96	181 p < 0,2
Vegyes gran. degranulálódó sejtek, alciánkék szemese	100%	35 p < 0,1	55	18	66	70	74
Össz. grainszám átlaga az acinusok felett	100%	125	93	114	112	108	74
Kolloid/follikularis sejt grainszám arány átlaga	100%	116	155	100	97	129	108

A kísérletek eredményei valószínűsítik, hogy nincs közvetlen összefüggés a pajzsmirigy jódfelvétele és a hízósejtek számbeli, illetve minőségi változásai között. Úgy látszik tehát, hogy az aminok közvetlenül hatnak a follicularis sejtekre, azonban — legalábbis a jelen kísérleti csoportosításban — hatnak a hízósejtekre is. Minden vizsgált csoportban nőtt a hízósejtszám, és egyes csoportokban még kifejezettebben nőtt a safranin pozitív — érett [3] — hízósejtek száma. Ez utóbbiak számbeli növekedése a degranulálódó sejtek rovására történt. Az aminok tehát — és kémiailag rokon antagonistáik — csökkentik a hízósejtek normális körülmények között rendszeresen bekövetkező degranulációját, és fokozzák a hízósejtek érését. Különösen kifejezett volt a vegyes granulációjú, alciánkék pozitív szemcsétűsúllyal rendelkező degranulálódó sejtek száma, ami arra utal, hogy az alkalmazott aminok a masszív degranulációt gátolják elsősorban, a sejtek ugyanis a teljesen degranulálódó hízósejtek csoportját alkotják. Az ezek számában megmutatkozó csökkenés

azt jelentheti, hogy az exogén úton bejuttatott aminok és antagonistáik átveszik a hízósejtek fiziológiás szerepét, és azok működését visszaszorítják. Nyilvánvaló tehát, hogy exogén adott amin típusú anyagok, bár nem a hízósejteken keresztül hatnak a pajzsmirigy follicularis sejtjeire, de a hízósejtekre nézve nem közömbösek. Hogy e hatás milyen módon mutatkozik meg, a jelen kísérletekből nem állapítható meg, de felvetődik a központi idegrendszeren — TSH mediáció révén — történő hatás lehetősége is. Az általunk használt két serotonin antagonistá ugyanis az agyi struktúrákon a serotoninnal szemben valódi kompetitív antagonizmust fejt ki [9]. Újabb irodalmi adatok szerint az agyi serotonin szint csökkenése a TSH kiáramlás csökkenését idézi elő [1], ami a korábban leírt [10] TSH hízósejt korrelációt figyelembe véve, a degranuláció csökkenését, ezen keresztül a hízósejtszám emelkedését okozza.

Külön említést érdemel a 6. és 7. csoportban a vegyes granulációjú ép hízósejtek számbeli változása. Itt az előbb adott melatonin megakadályozta a serotonin növelő hatását, míg, ha a serotonin után adtunk, hatástalan volt. Ha ezt összevetjük azzal a korábbi eredményünkkel [7], hogy a corpus pineale eltávolítása, tehát a melatonin kiesése után a hízósejtek serotonin raktározása növekszik, akkor nyilvánvaló, hogy a két eredmény egybeesik.

Összefoglalás

A biogén aminokkal és antagonistáikkal történő kezelés esetében a pajzsmirigy hízósejtek kvalitatív és kvantitatív változásai nem futnak paralel a jódfelvétellel. A vizsgált anyagok hatására a hízósejtszám növekszik, a degranuláció csökken.

IRODALOM

1. CHEN, H. J. and J. MEITES (1975) Effects of biogenic amines and TRH on release of prolactin and TSH in the rat. *Endocrinology*, **96**, 10—14.
2. CLAYTON, J. A., C. M. SZEGO (1967) Depletion of rat thyroid serotonin accompanied by increased blood flow as an acute response to thyroid-stimulating hormone. *Endocrinology*, **80**, 689—698.
3. CSABA, G. (1971) Mechanism of the formation of mast cell granules VII. *Acta biol. Acad. Sci. hung.*, **22**, 155—168.
4. CSABA, G. and P. BARÁTH (1973) Tritiated 5-hydroxytryptamine uptake of the mast cells in the rat thyroid gland. *Neuroendocrinology*, **12**, 67—70.
5. CSABA, G. and S. U. NAGY (1973) The regulatory role of the pineal gland on the thyroid gland, adrenal medulla and the islets of Langerhans. *Acta biol. med. germ.*, **31**, 617—619.
6. CSABA, G. and S. U. NAGY (1974) The control function of biogenic amines in regulating the thyroid gland. *Acta biol. med. germ.*, **33**, 241—244.
7. CSABA, G. and P. BARÁTH (1974) Effect of pinealectomy on the ^3H -5HT uptake of mast cells in the thyroid gland of the rat. *Acta anat.*, **89**, 442—451.
8. CSABA, G. and T. RICHTER (1975) Collaboration of serotonin and melatonin in the control of thyroid function. *Acta biol. med. germ.*, **34**, 1097—1100.
9. DOUGLAS, W. W.: In L. S. Goodman, A. Gilman (1971) The pharmacological basis of therapeutics. Macmillan Co. New York.
10. ERICSON, L. E. (1972) TSH-induced release of 5-hydroxytryptamine and histamine of rat thyroid mast cells. *Endocrinology*, **90**, 795—801.
11. GAAL, J. M., K. KOVÁCS, E. A., SELLERS (1974) A correlative study of thyroid mast cells and thyroid function in the rat. *Endokrinologie*, **63**, 331—336.
12. MAYOR, H. D., I. C. HAMPTON and B. ROSARIO (1961) A simple method for removing the resin from epoxy-embedded tissue. *J. Biophys. Biochem. Cyt.*, **9**, 909—910.
13. MELANDER, A. and P. SUNDLER (1972) Significance of thyroid mast cells in thyroid hormone secretion. *Endocrinology*, **90**, 802.

**PARTICIPATION OF MAST CELLS IN THE REGULATION OF THE THYROID
BY THE ANTAGONISM OF MELATONIN AND SEROTONIN**

T. Richter, A. Zalatnay and G. Csaba

The qualitative and quantitative changes in the case of treating with biogenic amine and antagonists are not parallel with the uptake of iodine.

On the effect of the investigated materials the mast cell number increases and degranulation decreases.

A HÍZÓSEJTKIMUTATÁS HISZTOKÉMIAI LEHETŐSÉGEINEK KRITIKAI ELEMZÉSE

KOVÁCS PÉTER

Semmelweis Orvostudományi Egyetem Biológiai Intézete, Budapest

Beérkezett: 1976. február 3-án.

Kulcsszavak: hízósejt, hisztokémia, mukopolysaccharida, biogén amin.

Bevezetés

EHRlich thiazin-festékekkel végzett klasszikus vizsgálatai nyomán [5] a hízósejtpopulációt a metakromázia alapján egységesnek tekintették. Későbbi vizsgálatok szerint, melyeket a polysaccharidákra és biogén aminokra vonatkozóan végeztek el, kiderült, hogy igen heterogén sejtpopulációval állunk szemben.

A hízósejtek granulumaival savas mukopolysaccharidát, bázikus proteint és biogén aminokat (fajoktól függően és egymástól eltérően 5-HT-t, hisztamin, dopamint) tartalmaznak. E komponensek egymáshoz való viszonya nagyon különbözhet. Lényeges különbségek mutatkoznak egy fajon belül is a különböző szervekből származó, vagy a különböző fejlettségi fokú hízósejtek között, mind a polysaccharida, mind a biogén amin vonatkozásában [4]. Bizonyos fejlettségi fokú hízósejtek pl. nem mutathatók ki a klasszikus thiazin festékekkel történő metakromáziás festéssel, csak alciankéék festéssel; mások csak fluorescens módszerekkel figyelhetők meg, amintartalmuk alapján. A biogén amin-savas polysaccharida komplexben a komponensek egymáshoz viszonyított arányának megváltozása szintén a festődés megváltozásához vezet [3].

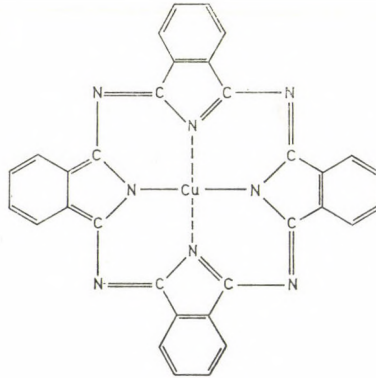
Ezek a tények, valamint azok a vizsgálatok, melyek alapján a hízósejtek biogén amintartalmának sok fontos funkciójára derült fény (regulációs mechanizmusok, induktor hatások) szükségessé teszik a hízósejtek vizsgálatánál alkalmazható eljárások kritikai értékelését, speciális szempontok szerinti taglalását. Az alábbiakban saját megfigyeléseinket és az irodalmi adatokat összevetve alkotunk véleményt az egyes eljárásokról.

I. A hízósejt kimutatási lehetőségek

A) Polysaccharida-kimutatási módszerek.

1. Savas mukopolysaccharidák kimutatása alciankéekkel [13].

Az alciankéék erősen bázikus réz-phtalocyanin festék. (1. ábra) Elektroforetikus vizsgálatoknál szabad oldatban a mobilitás, valamint a disszociáció-állandó alapján bázikus csoportok jelenlétét kell feltételezni (thiuronium).



1. ábra. Az alciánkék.
Fig. 1. Alcian blue.

A használatos festési feltételek mellett legalább 2, de lehet, hogy 4 pozitív töltéssel rendelkezik.

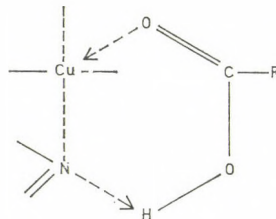
A pH-nak komoly szerepe van a festődésben. pH 1 körül csak a szulfomucinok festődnek. A festődés a szulfátcsoportok és a festék pozitív töltésű csoportjai közt létrejövő sókötésen alapul. Több megfigyelés szerint szerepe van a hidroxil-csoportnak is.

pH 2 felett az alciánkék kötődik a karboxil-csoportot tartalmazó polysaccharidákhoz is. A kötődés egyes elképzelések szerint a nem ionizálódó karboxil-csoport, valamint a Cu atom és a N atomok között létrejövő hidrogénkötések segítségével történik (2. ábra). Más elképzelések szerint hidrogénkötés a karboxil és a thiouronium csoportok közt jön létre (3. ábra). Amidkötés létrejötté szintén lehetséges.

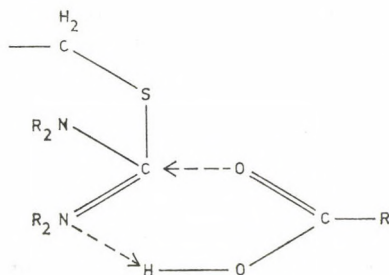
Az alciánkék festéket az alábbi reakcióknál használtuk:

a) Alciánkék-kritikus elektrolit koncentráció [13].

Az eljárás azon a megfigyelésen alapul, hogy mind a szulfomucinok, mind a karboxilcsoportot tartalmazó polysaccharidák képesek az alciánkéket megkötni, ha az oldatban elektrolitok alacsony koncentrációban vannak jelen (0,3 M alatt). Magasabb elektrolit-koncentráció esetén (0,8 M felett) csak a



2. ábra. A Cu és N atomok és a COOH csoport közt létrejövő H-kötések
Fig. 2. The H bindings occurring between the Cu and N atoms and the COOH group.



3. ábra. A COOH csoport és a thiuronium közt létrejövő H-kötések.
 Fig. 3. The H bindings occurring between the COOH group and thiuronium.

szulfatált polysaccharidák képesek festéket megkötni. Elektrolitként általában a $MgCl_2$ -ot használják. Így a hialuronsav, szialomucinok és más gyengén savas polysaccharidák már 0,1 M $MgCl_2$ -szint felett nem festődnek. Erősebben szulfatált mucinok (melyek Azur A-val pH 0,5-nél metakromáziásan festődnek), 0,2 M $MgCl_2$ -szinten erősen festődnek. Más, különböző mértékben szulfatált mucinok fokozatosan veszítik el alcianofiliájukat az emelkedő elektrolit-koncentrációval párhuzamban. 1 M $MgCl_2$ -szinten már csak a heparin festődik.

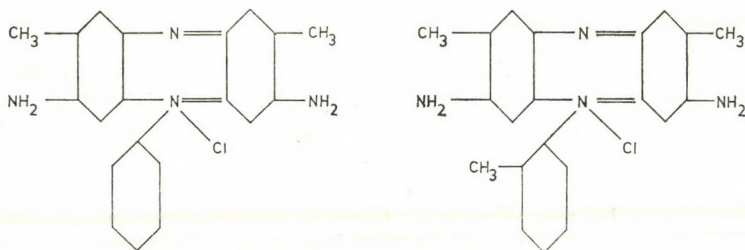
b) Alciánkék — PAS. [13]

Összetett módszer. Az első lépés egy alciánkékkel történő festés. Az alkalmazott pH 2,5 lehetővé teszi az összes savanyú polysaccharida festődését. A második lépésként végrehajtott PAS reakció segítségével viszont már különbségek tehetők a különböző, perjódssavval oxidálható és nem-oxidálható polysaccharidák között.

Az eljárással ezek szerint az alcianofil (savas) perjodát-reaktív mucinok bíbor színűre, az alcianofil, perjodáttal nem reagáló mucinok kékre, a nem alcianofil (neutrális) mucinok pedig pirosra festődnek.

c) Alciánkék — safranin.

A reakció pH 1,42-es közegben, két bázikus festék, az alciánkék és a safranin 0 (4. ábra) együttes alkalmazásával zajlik le. A reakcióelegy ezenkívül vastimsót is tartalmaz, melynek szerepe a savas csoportok elektivizálása [16].



4. ábra. A safranin 0.
 Fig. 4. Safranine 0.

Az eljárás segítségével lehetőségünk van a különböző fejlettségi fokú hízósejtek elkülönítésére [1]. Fiatal hízósejtek csak alciánkék pozitív granulomokat tartalmaznak. Érett sejtek viszont csak safranin pozitívot. A granulomok különböző festődéséért valószínűleg a savanyú polysaccharida-biogén amin (és bázikus fehérje) arány a felelős [3]. Safranin-pozitív granulumokban ez az arány közel egyenlő, míg a alciánkék-pozitív granuláknál az aminok túlsúlyban vannak, viszont ezekben a szemcsékben általában a leggyengébben savasak a polysaccharidák.

SPICER szerint [15] az alciánkék csak a karboxilt tartalmazó polysaccharidákhoz kötődik, amit a szulfatálás utáni festődés igazolni látszik, mivelhogy ez esetben csak safranin-pozitív granulomokat találunk, ámbár az erélyes szulfatálás megbonthatja az eredeti kötési állapotokat. Viszont modellkísérletek szerint [3] az amin — polysaccharida és bázikus fehérje aránya felelős az eltérő festődésért. Ugyanakkor a fiatal hízósejtek nagy valószínűség szerint uronsav-típusú polysaccharidákat tartalmaznak, melyre más reakciókkal kapott eredmények utalnak. A reakciómechanizmus értelmezésére jelenleg folyó vizsgálataink során próbálunk magyarázatot találni.

2. Kolloid vas.

Szabad savas csoportok — karboxil és szulfát — elektíven megkötik a Fe^{+++} -ionokat [9], és ez a kötött vas a Berliini-kék reakcióval kimutatható, ahol is ferri-sókkal a káliumferrocyanid — $K_4[Fe(CN)_6]_3$ — savanyú közegben ferri-ferrocyanid komplexet képez. — $Fe_4[Fe(CN)_6]_3$. PEARSE véleménye szerint, bár nem teljesen specifikus a savas polysaccharidákra, használható az alkalmazott hisztokémiában. Specifitása kedvezőbb, ha kis koncentrációjú oldatokkal és alacsony pH-n dolgozunk. Magasabb pH értékeknél a proteinek és nukleinsavak is képesek kolloid vasat megkötni.

3. Perjódsvav — paradiamin.

A módszer SPICER és JARRELS megfigyelésén alapul [13], akik azt találták, hogy az N,N'-dimetil-p-feniléndiamin vizes oldatban gyorsan barnás kondenzációs terméket ad a perjódsvavas oxidáció során keletkezett aldehid-csoportokkal. Másrészt mukopolysaccharidák savas csoportjaival fekete komplexeket eredményez hosszabb kezelés.

Tehát a neutrális polysaccharidák és a perjódát-reaktív polimerek barnás, szürkés-barnás, míg a perjódsvavval nem oxidálható savas polimerek feketére festődnek.

4. Metakromáziás módszerek.

A metakromázia létrejöttéhez szükséges periodikusan egymást követő szabad elektronegatív csoportok jelenléte, melyekhez a festékmolekulák poláris végükkel kapcsolódnak. A metakromázia egy speciális típusa a festékmolekulák aggregálódásának, és új, intramolekuláris kötések jönnek létre a szomszédos molekulák között. (Ezenkívül az energetikai számítások alapján van der Waals-erőket is fel kell tételezni.) Thiazin festékek esetében az adszorpciós spektrum alapján meg lehet különböztetni monomer formát (kék szín), dimer formát (viola szín — β metakromázia) és polimer formát (vörös szín — γ metakromázia).

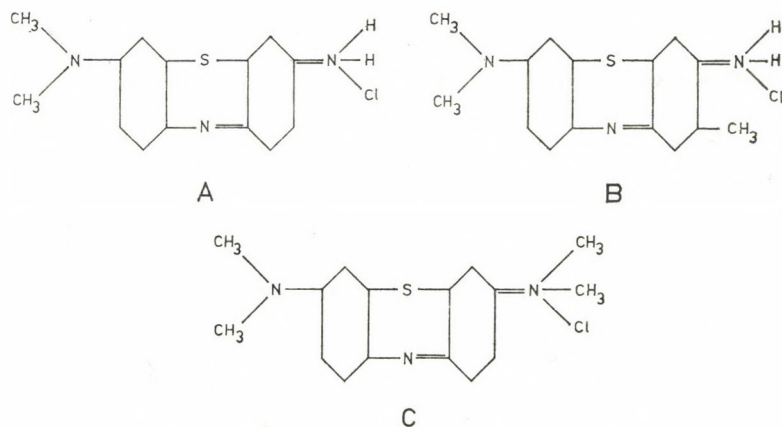
A metakromázia típusa és stabilitása függ az aktív csoportok közötti távolságtól. Hialuronsav esetében a karboxil csoportok közötti távolság 10,3 Å, itt nincs metakromázia híg vizes oldatban. Pektinsav esetében ez a távolság kb. 5 Å, és ez esetben gyenge (β) metakromázia figyelhető meg. Glukosaminoglukuronoglikánok esetében az SO_3H -csoportok és a COOH -csoportok 4 és 6 Å távolságban követik egymást, itt stabil, közepes erősségű metakromázia van. Ha a SO_3H -csoportok 4 Å-re, vagy ennél közelebb helyezkednek el, erős (γ) metakromázia van (pl. heparin).

Alacsonyabb pH értékeknél (2 alatt) csak a szulfatált mukopolysaccharidák mutatnak metakromáziát, míg magasabb értékeknél (3 felett) már a karboxil csoportot tartalmazó polysaccharidák is mutatnak metakromáziát. pH 5 körül polipeptidek oldalláncainál, ha magas helyi koncentrációban COOH -csoportok vannak, erős (γ) metakromázia figyelhető meg.

Ezek szerint a pH változtatásával módunk van különbséget tenni a metakromázia alapján a különféle polysaccharidák között.

Különbségek mutatkoznak a metakromáziában, ha a festéket különféle oldószerben oldjuk fel. (Pl. Azur A esetében erős metakromáziát észleltünk pH 1,8-nál, vizes oldatban a mesenterialis hízósejtekénél, míg etanolos oldatban igen gyenge reakciót kaptunk.)

Vizsgálatainkhoz a quinon-imin festékekhez tartozó thiazin festékeket használtuk (5. ábra).



5. ábra. Thiazin festékek. A: Azur A: B: Toluidinkék C: Metilénkék.
Fig. 5. Thiazin stains. A: azure A: B: Toluidine blue, C: Methylene blue.

B) Módszerek biogén aminok kimutatására.

A biogén aminok viszonylag kis molekulájú, általában jól oldódó vegyületek. Mivel viszonylag kis koncentrációban fordulnak elő, a fixálás során esetleg fellépő kis veszteségek is negatív eredményekhez vezethetnek. A fixálás időtartamának komoly szerepe van, ezenfelül a hőmérséklet is jelentős szerepet játszik. Míg pl. a 24 óráig tartó fixálás 4°C -on nem okoz aminvesztést, szobahőn már 4 óra fixálás után is mutatható ki aminvesztés. 37°C -on

történő fixálás pedig az idővel arányos aminvesztést okoz. Ezért aminok kimutatásánál széles körben alkalmazzák a kriosztát-metszeteket. Kielégítő eredményt kapunk perfúziós fixálással is [7, 10].

Az aminok hisztokémiai reakcióit nagymértékben befolyásolják a kötődési viszonyok. Sok esetben tiszta aminokkal végzett reakciók modellkísérletben egyértelműen pozitív eredményt szolgáltatnak, a preparátumokban viszont negatívot, vagy igen gyengét, bár más módszerrel a kérdéses amin jelenléte egyértelműen bizonyítható. (Ilyen pl. a xanthydrool reakció indolokra [11], amellyel csak a nyirokesomó hízósejtjei esetében kaptunk az 5-HT-re jellemző, igen gyenge reakciót.)

A normál fénymikroszkópos aminreakciók általában nem teljesen specifikusak, de párhuzamosan elvégzett reakciókkal, paralel metszeteken lehetőség van az egyes aminok elkülönítésére. (Pl. p-bróm anilinnal a hisztamin narancsszínben festődik, de az 5-HT is hasonló színt ad. Párhuzamosan elvégzett Fast Black K-val történő festés alapján, ahol a hisztamin bíbor színűre, az 5-HT pedig kékeszürkére festődik, mód van a két amin elválasztására.)

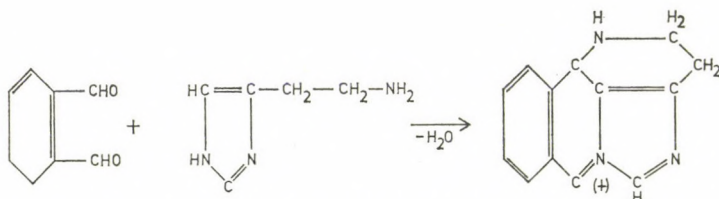
Legspecifikusabbnak a fluorescens módszerek bizonyulnak, melyeknél a képződött fluorophorok jól definiált elnyelési és kibocsátási maximummal rendelkeznek, melyek spektrofluoriméterrel mérhetők.

Vizsgálatainkat patkány hízósejteken végeztük, és itt két amin, az 5-HT és a hisztamin jelenlétével kell számolnunk.

Reakciók hisztaminra.

1. Ortophtaldialdehid módszer. (OPT)

Kondenzációs reakció, mely hisztaminnal fluorophor termék képződéséhez vezet (6. ábra).



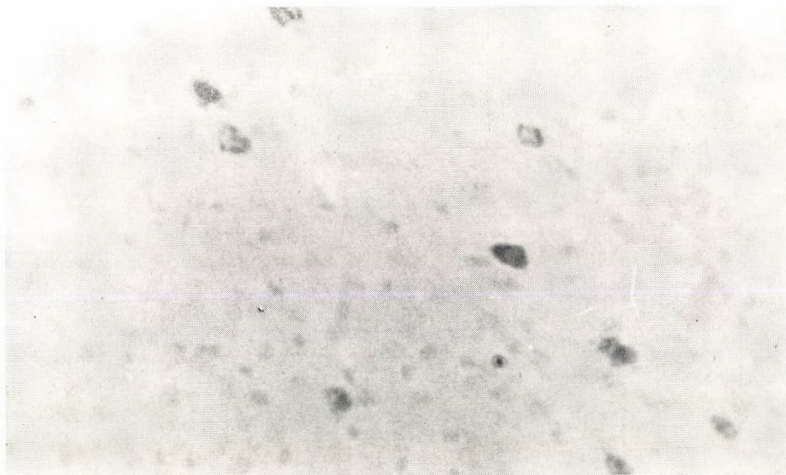
6. ábra. AZ OPT reakció.

Fig. 6. OPT reaction.

Az OPT használható szerves oldószerben (xylol, etilbenzol stb.) oldva, vagy gőz formájában, 100 C°-on. A reakcióhoz általában kriosztát metszeteket használnak, de kielégítő eredmények kaphatók abszolút-etanolos vagy Carnoy-fixált, paraffinos metszeteken is [7].

A fluoreszcencia függ a hisztamin koncentrációjától. 0,5 μg alatt kék fluoreszcencia (elnyelési max.: 365 nm, kibocsátási max.: 430 nm), míg magasabb koncentráció esetében sárga fluoreszcencia észlelhető (elnyelési max.: 405 nm, kibocsátási max.: 540 nm).

Az OPT fluoreszcencia nem tartós, kb. 5–6 percig erős, majd fokozatosan csökken.

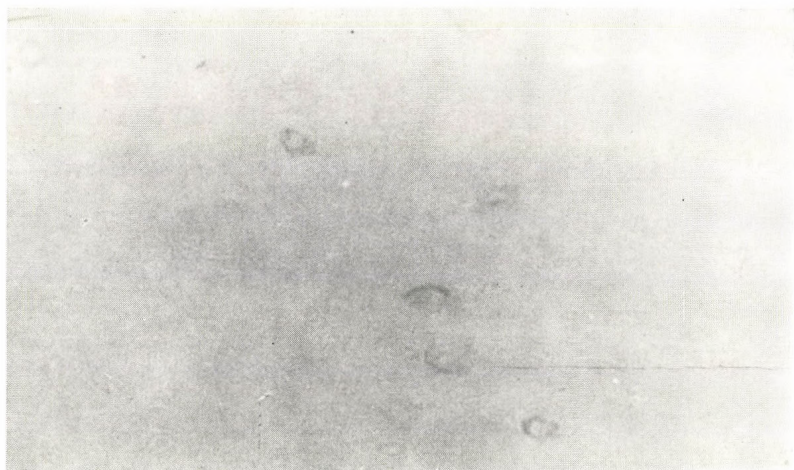


9–17. *ábra.* Patkány mesenterialis hízósejtek különböző hisztokémiai eljárásokkal.
Figs 9–17. Different histochemical procedures on mesenterial mast cells of the rat.

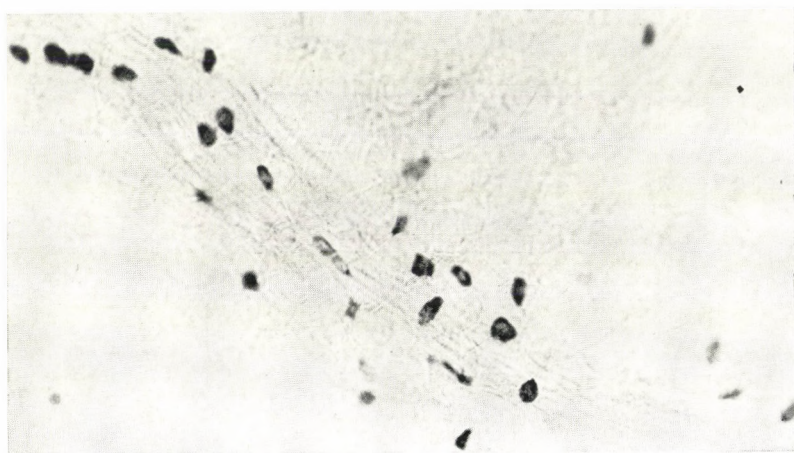
9. *ábra.* Alciánkék-kritikus elektrolit koncentráció 0,1 M MgCl_2 -nél. 200 \times .
Fig. 9. Alcian blue critical electrolyte concentration at 0,1 M MgCl_2 200 \times .



10. *ábra.* Alciánkék kritikus elektrolit koncentráció 0,5 M MgCl_2 -nél. 200 \times .
Fig. 10. Alcian blue critical electrolyte concentration 0,5 M MgCl_2 . 200 \times .



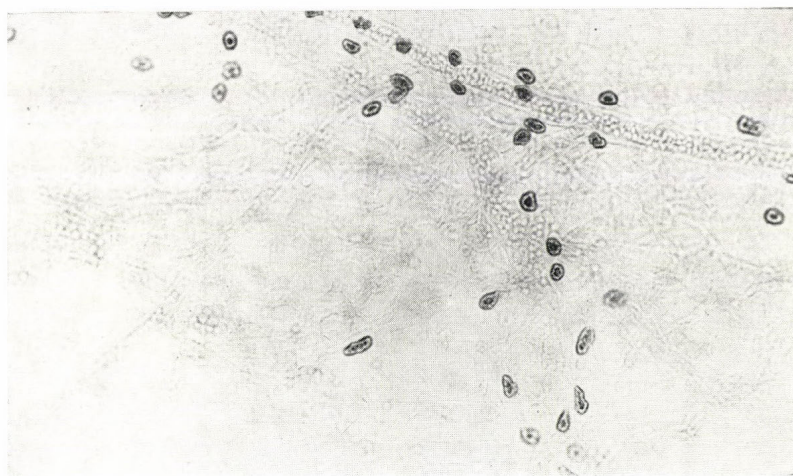
11. ábra. Alciánkék kritikus elektrolit koncentráció 1,0 M $MgCl_2$ -nél. 200 \times .
Fig. 11. Alcian blue critical electrolyte concentration at 1,0 M $MgCl_2$ 200 \times .



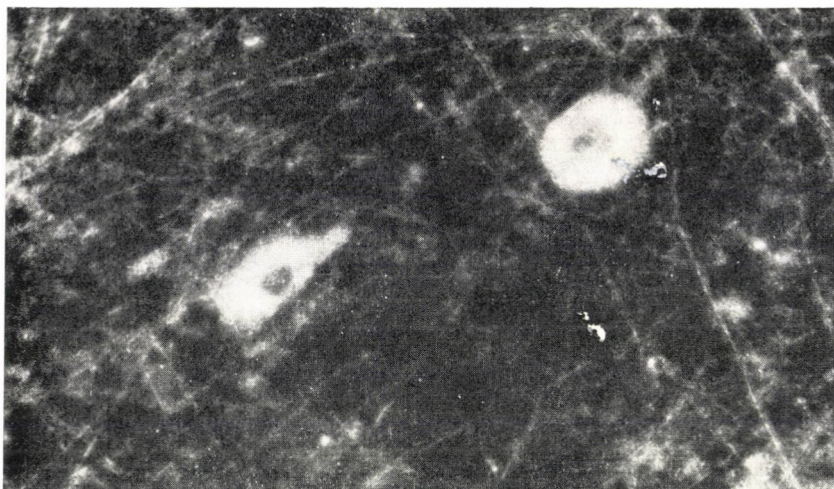
12. ábra. Azur A. Metakromázia vizes oldatban, pH 1,8. 200 \times .
Fig. 12. Azure A. Metachromasia in water solution. pH 1,8. 200 \times .



13. ábra. Perjódsv-paradiamin. 200 ×.
Fig. 13. Periodic acid-paradiamine. 200 ×.



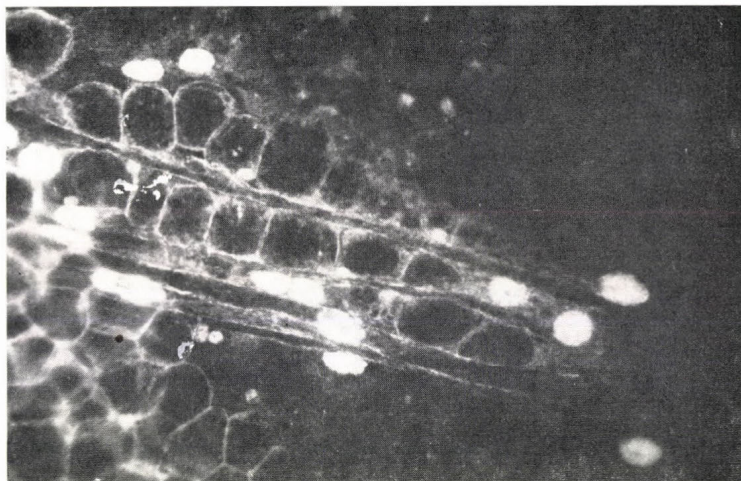
14. ábra. Alciánkék-safranin. 200 ×.
Fig. 14. Alcian blue-safranin. 200 ×.



15. ábra. Reinecke-só. Sötétlátóteres mikroszkópban. 600 \times .
Fig. 15. Reinecke-salt in the dark field microscope. 600 \times .



16. ábra. Reinecke-só után diazotált szulfanilsav. 500 \times .
Fig. 16. Reinecke salt after diazotized sulphanyl acid. 500 \times .



17. ábra. FIF. 200×.
Fig. 17. FIF. 200×.

2. Reinecke-sós amin precipitálás [7, 14].

A Reinecke-só egy ammónium-tetracyanato diamin-kromát — $\text{NH}_4[\text{Cr}(\text{NH}_3)_2(\text{SCN})_4] \cdot \text{H}_2\text{O}$ — komplex vegyület, mely centrális ionként Cr^{+++} -ot tartalmaz. Aromás aminokkal kristályos csapadékot képez. $(\text{BH}[\text{Cr}(\text{NH}_3)_2(\text{SCN})_4])$, ahol B = amin). Modellkísérletekben híg vizes oldatban (hidegen telített Reinecke-sóoldat 1 : 5-re hígítva, ez 0,009 M-os oldat) hisztaminnal romboid kristályokból álló csapadék képződik. Hisztidinnel csak nagyobb koncentráció esetén reagál [14]. Hízósejtekben a hisztidin mennyisége minimális, mivel hisztidin-dekarboxiláze enzim mindig kimutatható, nem kell számolni az így keletkező termék zavaró hatásával. A hízósejtek granulumaiban előforduló proteinekkal csak amorf csapadék képződik.

A vizsgálatot sötétlátóterű mikroszkópban végezzük, ahol a képződött kristályos csapadékot fénytörése alapján lehet észlelni. (A proteinekkal képzett amorf csapadék tehát nem zavaró.)

A Reinecke-sós kezelés kriosztát-metszeteken történik, előzetes fixálás nélkül. A mikroszkópos vizsgálat után mód van fixálásra, de ez némileg rontja a cytológiai képet, és a granulumok kristályos szerkezetét. Fixálás után pl. toluidinkékkel megfestve a preparátumot, a metakromáziát mutató granulumok megfelelnek a sötétlátóteres vizsgálat során világító granulumoknak.

Reinecke-sós kezelés után a preparátum megfesthető diazotált szulfanilsavval, és így normál fénymikroszkópban is megfigyelhető a sárgás-vörös csapadék, mely a hisztaminreineckát és a szulfanilsav reakcióterméke. E reakció színintenzitása meglehetősen gyenge, főleg vastagabb metszeteken és hártya-preparátumokon (pl. mesenterium) kapunk kielégítő színintenzitást.

Mivel a Reinecke-só centrális ionként Cr-ot tartalmaz, melynek segítségével elektronmikroszkópban megfelelő kontrasztot kaphatunk, a módszer alkalmas a hisztamin ultrahisztokémiai kimutatására is [8].

Reakciók 5-HT-re.

1. Formaldehid-indukált fluoreszcencia. (FIF)

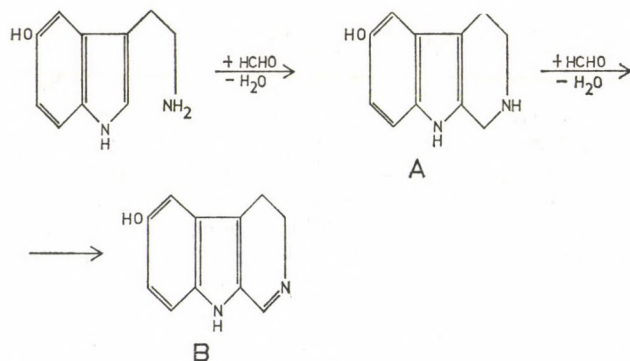
Kondenzációs reakció, mely két lépésben játszódik le (7. ábra).

Ozón kezelés hatására a reakció által keletkezett termék fluoreszcenciájának intenzitása minden más amin esetében nő, 5-HT esetében viszont csökken!

NaBH_4 alkalmazásával az 5-HT fluoreszcenciája elkülöníthető az autofluoreszcenciától, ugyanis a NaBH_4 a fenti reakciót az első lépésig visszafordítja, tehát nem-fluoreszkáló terméket kapunk [6]. Ismételt paraformaldehid gőzölés hatására a reakció ismét a második lépésig zajlik le, így ismét fluoreszkáló terméket kapunk.

5-HT kimutatására normál fénymikroszkópos módszereket is használnak. Véleményünk szerint ezek a reakciók nem teljesen specifikusak, a biogén aminok mellett igen sok más vegyület is pozitív reakciót ad. Mindemellett ezek a reakciók jól kiegészíthetők a fluoreszcens vizsgálatokat. Sok esetben az e reakciókkal kapott negatív eredmény nem a kérdéses amin hiányát jelzi, ugyanis igen sok esetben a granulumokon belüli kötések a festődést jelentősen befolyásolhatják.

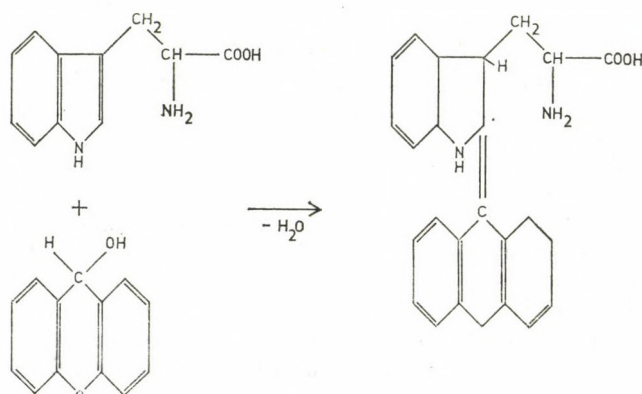
Az alábbi reakciókat használtuk az 5-HT fénymikroszkópos kimutatására:



7. ábra. Az 5-HT reakciója formaldehiddel. A = az első reakciólépés, B = második reakciólépés.

Fig. 7. The 5-HT reaction with formaldehyde. A = first reaction step, B = second reaction step.

- Rosindol reakció. A festődés a p-dimetil-aminobenzaldehyd — melyet az 5-HT savas oldatban megköt — diazotálásával történik [12].
- p-brom-anilin. Az 5-HT mellett a hisztaminnal is reagál. Szintén a diazotált p-brom-anilin aminokhoz való kötődésén alapul.
- Fast Black K. A Fast Black K szintén diazonium só, p-nitrobenzol-azodimetilanilin. Hisztaminnal bíborszínű, 5-HT-vel pedig kékesszürke reakcióterméket ad [12].
- Diazotált safranin. Ez a módszer is a diazo-vegyületek amin-csoportokhoz való affinitásán alapul, tehát szintén nem specifikus az egyes aminokra [12].
- Xanthatrol reakció. Indolokon kívül a pyrrolok is pozitív reakciót adnak. Egyes aminosavak is zavarhatják a reakciót. Indolok vízkilépés mellett kondenzált kettőskötés-rendszerű, színes terméket adnak. (Pl. a triptofán, 8. ábra.) [11]
- Nuclear Fast Red. A reakciót a dopamin tartalmú sejtek kimutatásánál használták, de ezenkívül festi az összes hízósejtet, patkány esetében. A



8. ábra. Xanthatrol reakciója triptofánnal.

Fig. 8. Xanthatrol reaction with triptophan.

festést autoradiográfiás preparátumok festésére használjuk, ugyanis a halvány pirosra festődő granulumok mellett igen könnyen felismerhetők a grainelek [2].

- g) Ferri-fericyanid módszer (SCHMORL). A reakció a ferricyanidot ferrocyaniddá redukáló anyagok kimutatására alkalmas, így igen sok, kémiaiilag igen eltérő vegyület ad pozitív eredményt.

11. A módszerek értékelhetőségének demonstrálása a patkány mesenterialis hízósejtjeinek példája alapján

A különböző módszereket paralel preparátumokon alkalmazva pontos képet kaphatunk a hízósejtek polysaccharida és biogén amin tartalmára vonatkozóan. Jó eredménnyel lehet felhasználni a FIF-eljárás során elkészített preparátumokat a fluorescens vizsgálat után más módszerek elvégzésére is.

A különböző, paralel preparátumokon elvégzett festések során nyerhető eredmények kiértékelését egy konkrét példán, a patkány mesenterium hízósejtjein kívánjuk bemutatni.

Az alciankék kritikus elektrolit koncentráció módszerrel megállapítható, hogy a mesenterialis hízósejtek polysaccharida tartalma kevésbé szulfatált. 0,1 M $MgCl_2$ -nél még igen erősen (9. ábra), 0,5 M $MgCl_2$ -nél már csak kevés sejt festődik gyengén (10. ábra), míg 1,0 M $MgCl_2$ -nél csak igen kevés sejt festődik minimális mértékben (11. ábra). Ezt támasztja alá a kolloid vas módszer is, amely a mesenterialis hízósejtek esetében negatív. Az itt alkalmazott savanyú pH (1,8) csak a fokozottabban szulfatált polysaccharidák festődését teszi lehetővé. Az Azur A-val végzett festések is azt bizonyítják, hogy szulfatált a polysaccharida, mivel erős metakromázia észlelhető vizes oldatban pH 1,8-nál (12. ábra), viszont etanolos oldatban nem észlelhető metakromázia, csak igen kevés sejtben, minimális mértékben.

Ezek a gyengén szulfatált polysaccharidák nem PAS-pozitívak, az elvégzett alciankék-PAS reakcióval nem kaptunk pozitív eredményt. Ezzel összhangban van az a tény, hogy a perjódsv-paradiamin módszerrel fekete színeződést kaptunk (13. ábra), ami a perjodát unreaktív savas polysaccharidákra jellemző.

Az alciankék-safranin módszer alapján a mesenterialis hízósejtet, amely safranin-pozitív (14. ábra), érett hízósejteknek tekintjük. Több vizsgálat szerint [1, 3] a hízósejtek fejlődésük során először alciankék-pozitívok, később vegyes granulációjúak, tehát alciankék-pozitív és safranin-pozitív granulumokat is tartalmaznak, míg az érett hízósejtek csak safranin-pozitívokat. A fejlődés során változik a polysaccharida minőségén kívül a polysaccharida-amin arány is, ami úgy látszik, döntően befolyásolja az alciankék-safranin festés alkalmával a granulumok festődését. Éretlen hízósejtek esetében az amin túlsúlyban van a polysaccharidákkal szemben.

Ezt az amin túlsúlyt a Reinecke-sóval elvégzett hisztamin kimutatás bizonyítani látszik, mely szerint a nagymennyiségű hisztamin sötétlátóteres mikroszkópban intenzíven világít (15. ábra), és diazotált szulfanilsavval kezelve egyszerű átvilágítással is jól megfigyelhető (16. ábra).

A FIF-eljárás során észlelhető intenzív sárga fluoreszcencia a relatíve nagy koncentrációban levő 5-HT jelenlétére utal (17. ábra).

Ez utóbbi eredmények azt a nézetet látszanak bizonyítani, hogy az

alciánkék-safranin reakciónál nem a polysaccharidák szulfatáltsági foka, hanem a polysaccharida—amin arány határozza meg döntően a granulomok festődését.

Összefoglalás

A hízósejtek részben polysaccharida, részben amintartalmuk alapján mutathatók ki. A szerző ismerteti a kimutatási eljárásokat, kritikailag elemelve azokat, és demonstrálja a módszerek alkalmazhatóságát egy hízósejt-típus, a patkány mesenterialis hízósejtjeinek esetében. Állást foglal emellett, hogy az alciánkék-safranin eljárás esetében nem elsősorban a szulfatáltság, hanem a polysaccharida—amin arány határozza meg a hízósejtek festődését.

IRODALOM

1. COMBS, J. W., LAGUNOFF, D., BENDITT, E. P. (1965) Differentiation and proliferation of embryonic mast cells of the rat. *J. Cell Biol.*, **25**, 577—592.
2. COUPLAND, R. E., HEATH, I. D. (1961) Chromaffin cells, mast cells and melanin. I. The granular cells of the skin. *J. Endocr.*, **22**, 59—64.
3. CSABA, G. (1971) Mechanism of the formation of mast cell granules. *Acta biol. Acad. Sci. Hung.*, **22**, 155—168.
4. CSABA, G., KOVÁCS, P. (1975) Közlés alatt.
5. EHRLICH D., (1877) Beiträge zur Kenntniss der Anilinfärbungen und ihrer Verwendung in den mikroskopischen Technik. *Arch. mikr. Anat.*, **13**, 263—290.
6. ENERBÄCK, L. (1973) Specific methods for detection of 5-HT in carcinoid tumors. *Virchows Arch. path. Anat.*, **358**, 35—43.
7. HAHN VAN DORSCHÉ, KRAUSE, R., FEHRMANN, P., SULZMANN, R. (1975) Histochemische Nachweismethoden für biogene Amine. *Acta Histochem.*, **52**, 281—302.
8. HAHN VAN DORSCHÉ, SULZMANN, R., FEHRMANN, P. (1972) Elektronenmikroskopischer Nachweis von biogenen Aminen mit Reinecke-Salz. *Acta Histochem.*, **42**, 182—184.
9. HALE, C. W. (1946) Histochemical demonstration of acid polysaccharides in animal tissues. *Nature (Lond.)* **157**, 802.
10. HOPWOOD, D. (1967) The histochemistry and electron histochemistry of chromaffin tissue. *Progr. Histochem. Cytochem.*, **3**, 1—66.
11. LILLIE, R. D. (1957) Xanthidrol reaction for indols and pyrrols in histochemistry. *J. Histochem. Cytochem.*, **5**, 188—195.
12. LILLIE, R. D., PIZZOLATO, P., VACCA, L. L., CATALANO, R. A., DONALDSON, P. T. (1973) Histochemical azo coupling reactions. *J. Histochem. Cytochem.*, **21**, 455—463.
13. PEARSE, A. V. E. (1968) Histochemistry. Little, Brown and Co. Boston.
14. SCHAUER, A., WERLE, E. (1959) Zur histochemischen Darstellung des Histamins der Mastzellen. *Z. ges. exper. Med.*, **131**, 100—104.
15. SPICER, S. S. (1960) A correlative study of the histochemical properties of rodent acid mucopolysaccharides. *J. Histochem. Cytochem.*, **8**, 18—36.
16. TÖRÖK, L. J., KOVÁCS, L., BALOGH, GY. (1969) An iron-alum method for elective demonstration of acid mucopolysaccharides I. *Acta biol. Acad. Sci. hung.*, **20**, 235—240.

CRITICAL ANALYSIS OF HISTOCHEMICAL POSSIBILITIES FOR DETECTING MAST CELLS

P. Kovács

Semmelweis Medical University, Institute of Biology, Budapest

Mast cells can be traced partly on the basis of polysaccharides, partly on the basis of amine content. The author presents the processes for detecting this and critically analyses them and demonstrates the applicability of the methods on a mast cell type in the case of the mesenteric mast cells of a rat.

According to the author, it is not primarily the sulphate saturation, but the ratio of polysaccharide amine that determines the staining of mast cells.

BIOGÉN MONOAMINOK SZUBCELLULÁRIS LOKALIZÁCIÓJÁNAK VIZSGÁLATA SÚRÚSÉG GRADIENS CENTRIFUGÁLÁSI MÓDSZER SEGÍTSÉGÉVEL ÉTICSIGA (HELIX POMATIA L.) KÖZPONTI IDEGRENDSZERÉBEN ÉS SZÍVÉBEN

ELEKES KÁROLY, HIRIPI LÁSZLÓ, S.-RÓZSA KATALIN és
NEMCSÓK JÁNOS

MTA Biológiai Kutatóintézete, Tihany

Beérkezett: 1975. október 31-én.

Kulcsszavak: monoaminok, szubcelluláris lokalizáció, Helix

Bevezetés

A fluoreszcens mikroszkópiai vizsgálatok számos esetben kimutatták csiga központi idegrendszerében a monoamin(MA)-tartalmú neuronok jelenlétét [3, 20, 19, 13, 9]. Valószínű, hogy a csiga központi idegrendszerében a dense-core vezikulák a MA tárolóhelyei, minthogy ezt számos elektronmikroszkópos, elektronhisztokémiai és autoradiográfias kísérlet megerősítette [4, 12, 10, 2, 16, 17, 18]. A Helix [1] és Lymnaea [23] szíven végzett hisztokémiai vizsgálatok kimutatták, hogy a MA mind az ideg-, mind az izomelemekben jelen vannak. Aplysia szívében a szerotonin (5HT) idegi elemekben való lokalizációját az elektronmikroszkópos autoradiográfias vizsgálatok is megerősítették [24]. A korábbi és az újabb biokémiai, valamint fiziológiai eredmények alapján feltételezhető, hogy a MA Helix idegrendszerében és szívében neurotransmitterként funkcionálnak [22, 21, 5, 11, 6]. Az idegrendszer óvatos homogenizálásával, majd ezt követően centrifugálással, WHITTAKER [25, 26] módszerével különböző frakciókra különíthető el. Ebből kiindulva jelen munkánk célja a MA szubcelluláris lokalizációjának vizsgálata, valamint az, hogy további ismereteket kapjunk a Helix pomatia központi idegrendszerében és szívében előforduló MA pontos lokalizációjáról.

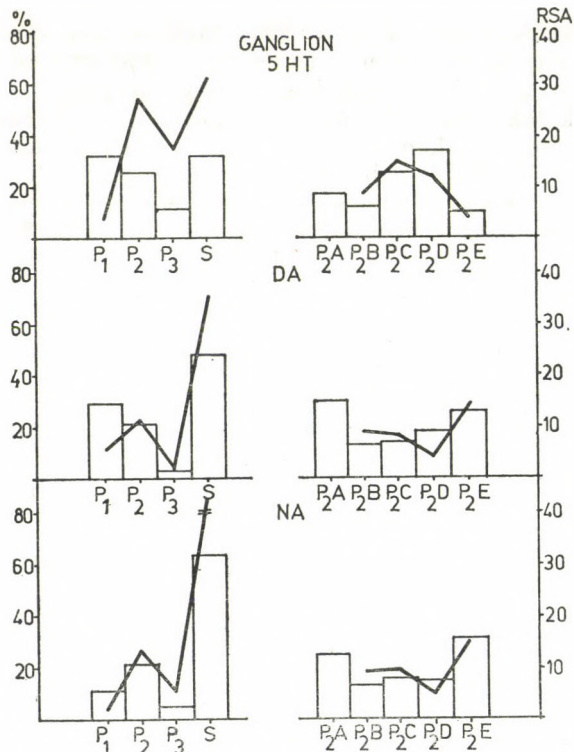
Anyag és módszer

A kiperarált ganglionokat és szíveket 0,2 M-os izoozmotikus szukróz oldatban elhomogenizáltuk, amely 10^{-5} M iproniazidot és pirogallolt tartalmazott, hogy meggátolja a monoaminoxidáz (MAO) és a catechol-o-methyl-transferáz (COMT) aktivitását. A differenciál centrifugálást követően megkaptuk az elsődleges frakciókat (sejtmagi — P_1 , mitokondriális — P_2 és mikroszomális — P_3). A megmaradt felülúszó jelentette a szolubilis (S) frakciót. A mitokondriális frakciót szukróz gradiensre rétegeztük és ismételt centrifugálással nyertük a szubfrakciókat. A különböző frakciók 5HT tartalmát SNYDER és mtsai [20/A], a dopamint (DA) pedig SCHELLENBERGER és GORDON

[19/A] módszere szerint határoztuk meg. Elektronmikroszkópos vizsgálat céljára a frakciókból kivett mintákat glutáraldehiddel és ozmium-tetroxiddal fixáltuk. A metszeteket LKB Ultratome III. típusú ultramikrotommal, a felvételeket TESLA 413A elektronmikroszkóppal készítettük.

Eredmények

Az 1. ábrán látható a központi idegrendszerből nyert frakciók és szubfrakciók 5HT, DA és noradrenalin (NA) tartalmának megoszlása. A szerotonin 70%-a szövetelemekhez kötődik, 30%-a pedig szabad formában az S frakcióban van jelen. Ezzel szemben a DA mintegy 50%-a, a NA-nak pedig több mint 60%-a található az S frakcióban. A ganglion elsődleges frakciói közül a 5HT-t és a DA-t a legmagasabb koncentrációban a sejtmagi és a mitokondriális frakció, a NA-t viszont főként a P₂ frakció tartalmazza. Összehasonlítva az elsődleges frakciók relatív specifikus aktivitását (RSA) azt találtuk, hogy a P₂ frakció értéke a legszignifikánsabb és a három monoamin RSA-ját mutató görbék nagyjából hasonlóak. A szubfrakciók 5HT és katecholamin (CA) megoszlása azonban már különbözik egymástól. A 5HT legnagyobb mennyiség-



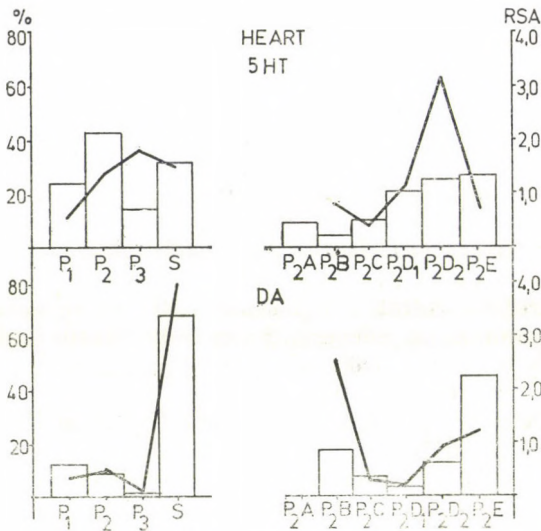
1. ábra. A primer és szubfrakciók monoamintartalmának százalékos megoszlása, valamint az RSA értékek alakulása *Helix pomatia* központi idegrendszerében.

Fig. 1. Percentage distribution of the monoamine content of primary and subfractions as well as the formations of RSA values in the central nervous system of *Helix pomatia*.

ben (60%) a P₂C és P₂D szubfrakciókban lokalizálódik, míg a CA esetében a P₂A és P₂E tartalmazza a CA-ok kb. 55%-át. A P₂A szubfrakció magas MA-tartalma gyakorlatilag nem szöveti elemekhez kötöten, hanem a felülúszóban szabad állapotban van jelen. E szubfrakció proteintartalma minimális és ha külön-külön meghatározzuk a felülúszóban és a frakció szövetelemeket tartalmazó részében a MA-szintet, a MA 15 vagy nagyobb százaléka a felülúszóban található és csak 1–2%-nyi része fordul elő a szövetelemeket is tartalmazó részben. Az RSA görbék összehasonlítása már jellemzőbben mutatja a 5HT és a CA-ok eltérő lokalizációját, lévén a 5HT-ra vonatkoztatott érték 1-nél magasabb a P₂C és a P₂D szubfrakciókban. A különböző frakciók és szubfrakciók elektronmikroszkópos vizsgálata a következőket mutatja: a P₁ frakciói sejtmagi fragmentumokat, az endoplazmatikus retikulum granularis elemeit, mitokondriumot, szabad dense-core vezikulákat és szinaptoszómákat tartalmaz. A P₂ frakcióban a szinaptoszómák dominálnak, ezenkívül nagy számban fordulnak elő szabad dense-core vezikulák és granulumok, valamint mitokondriumok és a durva felszínű endoplazmatikus retikulum elemei (1. kép). A P₃ frakcióban szabad riboszómák és az endoplazmatikus retikulum sima vezikuláris fragmentjei láthatók, míg a mélyebb régiókban számos dense-core vezikula is előfordul (2., 3. kép). A P₂A szubfrakcióban főleg kisebb-nagyobb membrán profilok voltak. A P₂B szubfrakciót a nagyszámú szabad dense-core vezikulák és granulumok jellemzik. Ezenkívül előfordul számos sima membrán-profil is, amely részben kiürült szinaptoszómának felel meg. Ugyanazon a helyen vezikulát tartalmazó intakt idegvégződéseket is megfigyelhetünk. A P₂C szubfrakciót elsődlegesen a szinaptoszómák jellemzik (4. kép). Az idegvégzések vezikulapopulációja heterogén, minthogy megtalálhatók a tipikus dense-core vezikulák, a neuroszekréciós granulumok, némely esetben pedig kolinerg vezikulák is. Ez a szubfrakció ezenkívül nagy tömegű szabad dense-core vezikulát is tartalmaz. A P₂D szubfrakció a dense-core vezikulákkal rendelkező intakt szinaptoszómákon kívül főleg nagyobb denzitást mutató, feltehetőleg a kísérlet során megsérült idegvégződéseket tartalmaz. Számos szabad dense-core vezikula között gyakran található glia granulumok és sűrűn előfordulnak a szemcsés endoplazmatikus retikulum elemei is. A P₂E szubfrakció szintén tartalmaz idegvégződéseket, melyek a szabad dense-core vezikulák és granulumok tömegébe, az endoplazmatikus retikulum elemeibe és a kollagén rostokba ágyazódtak be.

A szív monoamintartalmát vizsgálva a 2. ábra bemutatja, hogy a kötött 5HT legnagyobb része az elsődleges frakciókban lokalizálódik, míg a DA több mint 60%-a az S frakcióban található. Az RSA értékek összehasonlítása is arra utal, hogy a 5HT és a DA eltérő helyen lokalizálódik. A MA szubfrakcionálás utáni megoszlása mindkét amin esetében hasonló, mivel ezek magasabb koncentrációi a P₂D₂ és a P₂E-ben mérhetők. Mégis a P₂E szubfrakcióban a 5HT-hoz tartozó RSA értékek alacsonyabbak, a DA esetében pedig magasabbak voltak. Ugyanakkor az ellenkező helyzetet láthatjuk a P₂D₂ szubfrakció esetében. Általában az RSA görbék itt is a szerotonin és a dopamin eltérő lokalizációjára utalnak. A P₂B szubfrakció nagyobb RSA értékkel együttjáró tetemes DA tartalma igen figyelemre méltó. A szerotonin főleg a P₂D₁ és a P₂D₂ szubfrakciókban lokalizálódik. A P₂D₁ szubfrakció 20%-os 5HT tartalma csaknem azonos RSA értékkel bír, mint a ganglion P₂D szubfrakciója. Az elektronmikroszkópos vizsgálatok szerint a P₁ frakció kollagén rostokat, a kontraktilis rendszer elemeit, mitokondriumot és ismeretlen eredetű membrán-

fragmentumokat tartalmaz. A P_2 frakcióban dense-core vezikulákat vagy elemi granulumokat tartalmazó idegvégződéseket, nagyszámú mitokondriumot, a szemcsés endoplazmatikus retikulum elemeit, nagy mennyiségű sima membránfragmentumot és glikogén granulumokat figyelhetünk meg (5. kép). A P_3 frakció felső és alsó rétegből áll. A felső réteget általában különböző nagyságú sima membránprofil tartalmú sűrű fibrozus alapstruktúra és

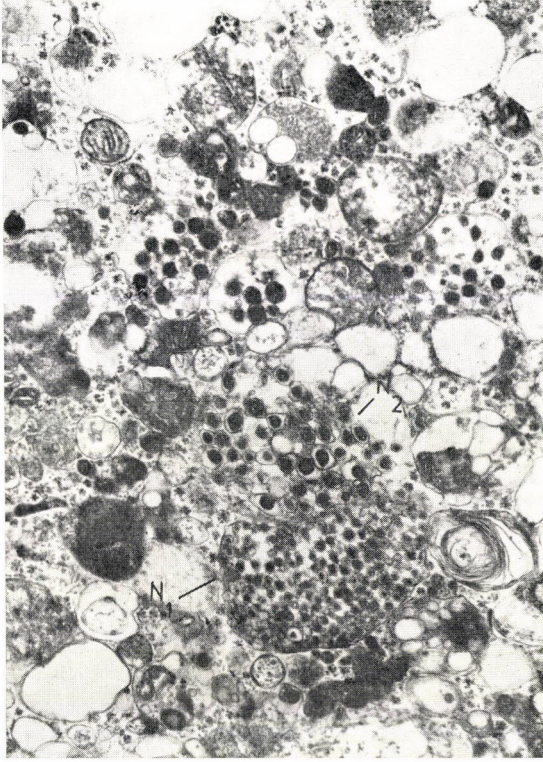


2. ábra. A primer és szubfrakciók monoamintartalmának százalékos megoszlása, valamint az RSA értékek alakulása a szívben.

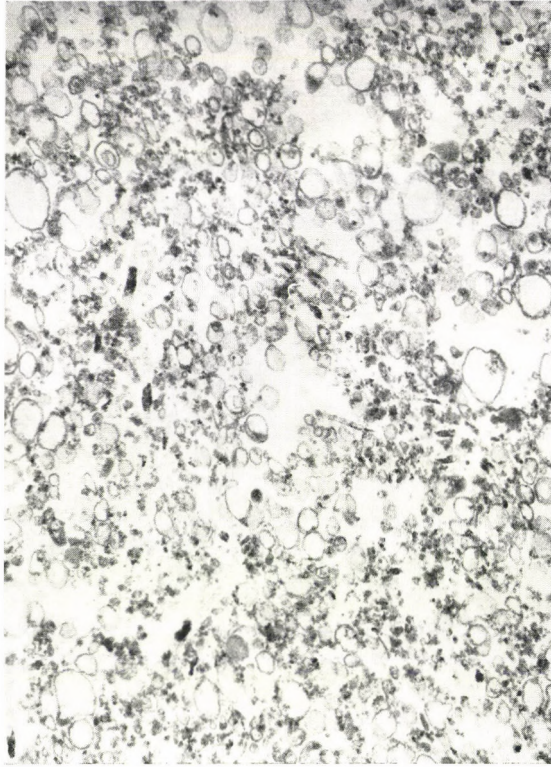
Fig. 2. Percentage distribution of monoamine content of primary and subfractions as well as the formation of RSA values in the heart.

némely esetben a mitokondriumok előfordulása jellemzi (6. kép). A mélyebb rétegben megnyúlt tubuláris elemek sokasága látható, melyek valószínűleg a szarkotubuláris rendszer alkotórészei lehetnek (7. kép).

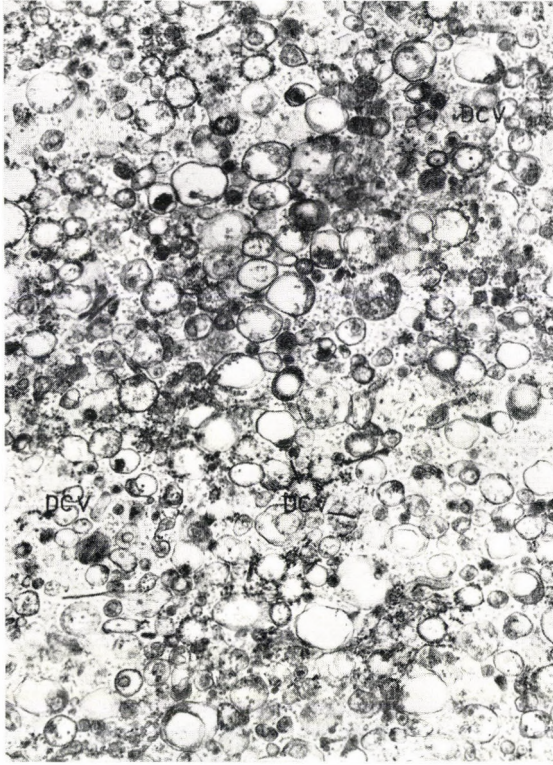
A P_2A szubfrakció sima membránfragmentumokból és különböző nagyságú üres membránprofilokból áll. A P_2B hasonló a P_2A szubfrakcióhoz, bár az előbbiben néhány dense-core vezikula és számos mitokondrium is található (8. a, b kép). A P_2C és a P_2D szubfrakciót a mitokondriumok nagyszámú előfordulása jellemzi. A P_2D_2 szubfrakció az egyetlen, ahol a nagyszámú mitokondrium mellett gyakran találkozhatunk idegvégződésekkel, amelyek gyakran összezsugorodott állapotban figyelhetők meg (9. kép). A szinaptoszómák üres és dense-core vezikulákat vagy elemi neuroszekréciós granulumokat tartalmaznak. Gyakran előfordulnak az olyan membránprofilok, amelyek nem tartalmaznak vezikuláris alkotórészeket, de ezek glikogén tartalma egyértelműen mutatja szinaptoszómális eredetüket. A szabad intersticiális granulumok szintén jellemzőek. A P_2E szubfrakció elszórtan mitokondriumot, elemi kollagén rostokat, sok sima membránprofil és fragmentumot tartalmaz.



1. kép. Elektronmikroszkópos felvétel a ganglion mitokondriális (P_2) frakciójáról. Megfigyelhetők a különböző dense core vezikulákat tartalmazó idegvégződések (N_1 , N_2) $\times 14\ 000$.
Picture. 1. Electron microscopic photo of mitochondrial (P_2) fraction of the ganglion. The different dense-core vesicles containing nerve endings (N_1 , N_2) can be observed $14\ 000\times$.

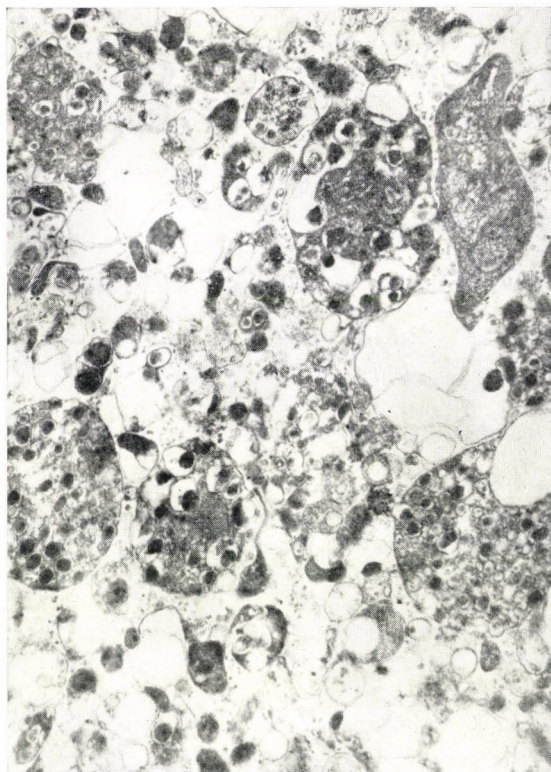


2. kép. A ganglionból származó mikroszomális (P_3) frakció felső rétegének szerkezete $\times 29\ 000$.
Picture. 2. Structure of the upper layer of microsomal (P_3) fraction originating from the ganglion $29\ 000 \times$.



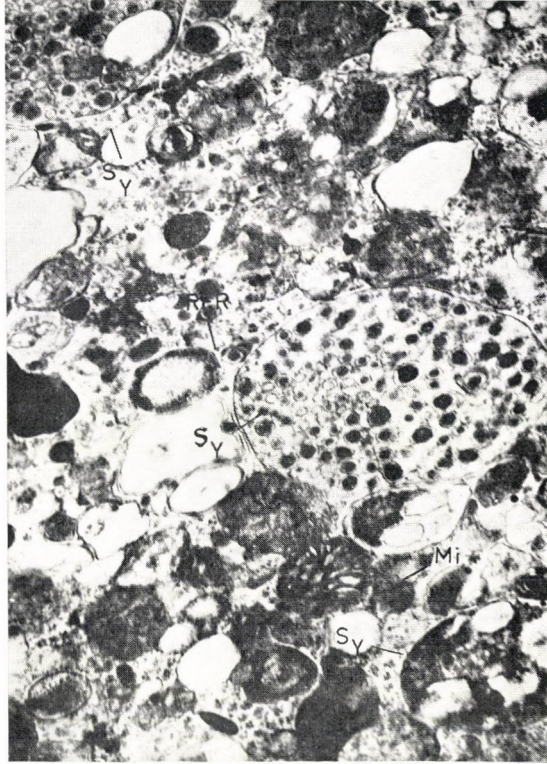
3. kép. A ganglionból származó mikroszomális (P_3) frakció mélyebben elhelyezkedő rétege sok dense-core vezikulát, ezenkívül sima membránprofilokat és szabad riboszómákat tartalmaz. $18\,000\times$. DCV = dense-core vezikulák.

Picture. 3. The layer deep in the microsomal fraction originating from the ganglion contains dense-core vesicles and in addition simple membrane profiles and free ribosomes $18\,000\times$. DCV = dense-core vesicles.

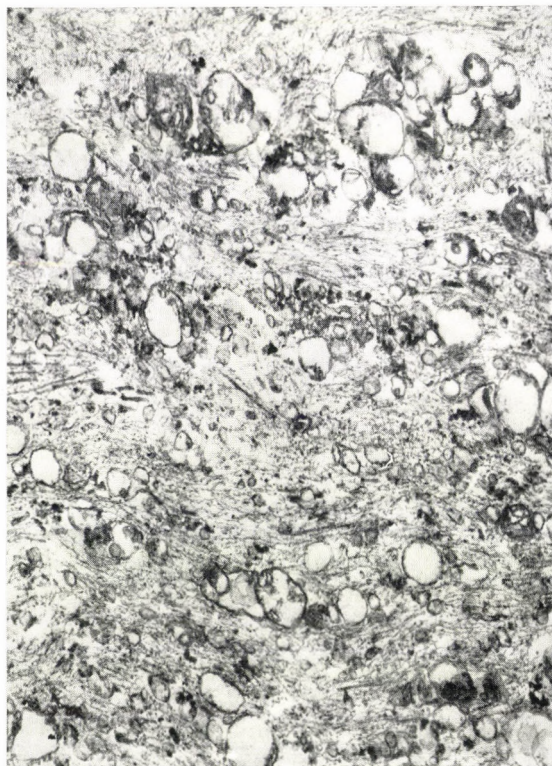


4. kép. A központi idegrendszerből nyert P_2C szubfrakcióban számos szinaptoszóma látható.
 $\times 23\ 000$. Sy = szinaptoszóma

Picture. 4. Numerous synaptosomes can be seen in the P_2C subfraction obtained from the
central nervous system $\times 23\ 000$ sy = synaptosomes.



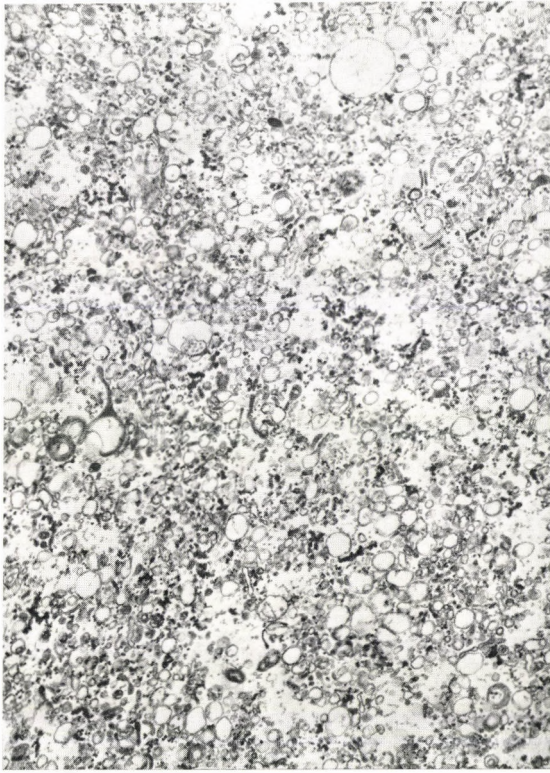
5. kép. A szív mitokondriális (P_2) frakciójának elektronmikroszkópos képe. $19\,000\times$ Sy = szinaptoszóma, Mi = mitokondrium RER = a szemésés endoplazmatikus retikulum részei.
Picture. 5. Electron microscopic photo of the mitochondrial (P_2) fraction of the heart. $19\,000\times$ Sy = synaptosome, Mi = mitochondrium, RER = granular endoplasmic reticulum parts.



6. kép. Elektronmikroszkópos felvétel a szív mikroszomális (P_3) frakciójának felső rétegéről.

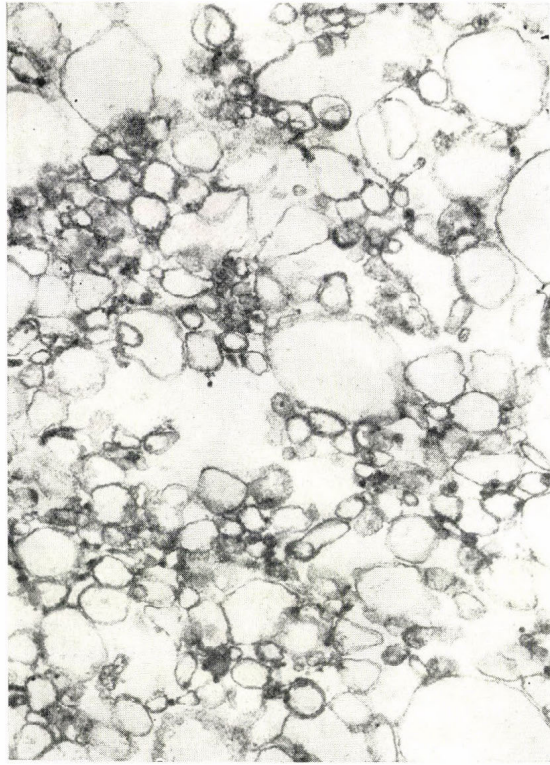
A sima membránprofilok finom és fibrozus anyagba vannak beágyazva $18\,200\times$.

Picture. 6. Electron microscopic photo of the upper layer of the microsomal (P_3) fraction of the heart. The smooth membrane profiles are embedded in fine and fibrous material $18\,200\times$.



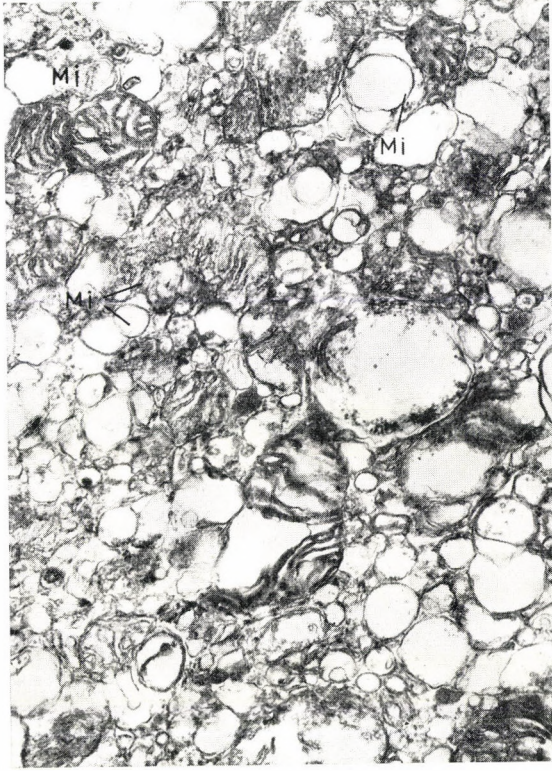
7. kép. A szív mikroszomális frakciójának mélyebb rétege sok tubuláris formát tartalmaz, amely a szarkotubuláris rendszer alkotórészeinek tekinthető. $\times 15\,000$.

Picture. 7. The deeper layer of the microsomal fraction (P_3) of the heart contains many tubular forms which may be regarded as making up the sarcotubular system $15\,000\times$.

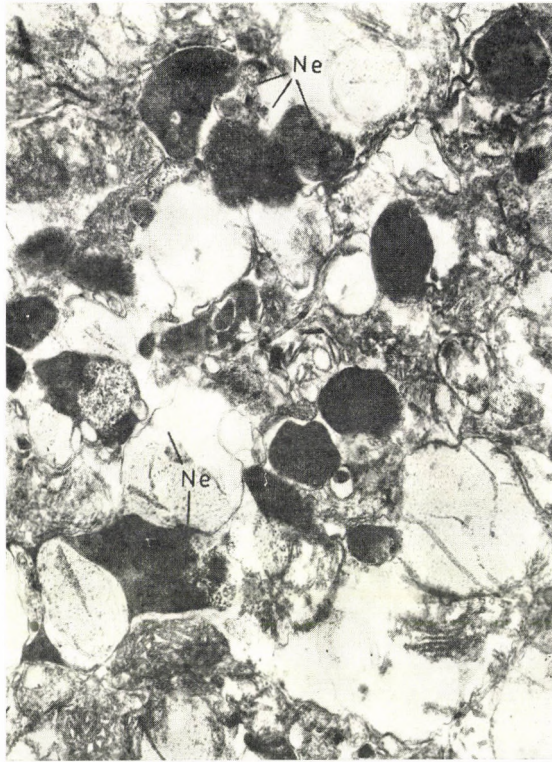


a

8. kép. Némely esetben a szív P_2B szubfrakciójában sima membránprofilok figyelhetők meg (a), míg más esetben mitokondriumok is láthatók (b) $18\,000\times$ Mi = mitokondrium.
Picture. 8. In certain cases smooth membrane profiles may be observed in the P_2B subfraction of the heart (a) while in other cases mitochondria may be seen too (b) $18\,000\times$. Mi = mitochondrium.



b



9. kép. A szív P_2D_2 szubfrakciójáról készített elektronmikroszkópos képen zsugorodott idegvégződések láthatók. $20\ 000\times$ Ne = idegvégződések.

Picture. 9. Electron microscopic photo of the P_2D_2 subfraction of the heart showing shrunken nerve endings $20\ 000\times$. Ne = nerve endings.

Megvitatás

Eredményeink alapján nyilvánvaló, hogy a mitokondriális frakció elemei elsődleges szerepet játszanak a Helix ganglionban előforduló MA szubcelluláris lokalizációjában. A P_2 szubfrakciók közül a MA tárolásában a P_2C , P_2D és P_2E szubfrakciók vesznek részt, melyek dense-core vezikulákat, illetve granulumokat tartalmazó szinaptoszómákat, valamint szabad dense-core vezikulákat és granulumokat tartalmaznak. Ezért feltételezhető, hogy ezek a képződmények felelősek a MA tárolásáért. Ez megegyezést mutat a kagyló ganglionra kapott korábbi gradiens centrifugálási eredményekkel [7]. Továbbá alátámasztják azon korábbi Gastropodák (Helix, Planorbis, Aplysia) központi idegrendszerén nyert adatokat, amelyek a MA tárolásában a dense-core vezikulák szerepét valószínűsítik [4, 12, 10, 2, 16, 17, 18]. Ugyanakkor eredményeink világosan mutatják, hogy a P_2C és P_2D szubfrakciókban található szinaptoszómák főleg 5HT-t tartalmaznak, míg a CA a P_2E szubfrakcióban előforduló idegvégződésekhöz kötődhetnek. Így a három szubfrakció szinaptoszóma populációjának morfológiai hasonlósága ellenére különbség van ezek MA tartalmában. Úgy tűnik, hogy a szív esetében a mitokondriális frakció 5HT tartalma szintén az idegvégződésekhöz kötődik. Azonban, ha figyelembe vesszük a P_2D_1 szubfrakció viszonylagos magas RSA értékét, valamint azt, hogy kizárólag mitokondriumot tartalmaz, nem hagyhatjuk figyelmen kívül annak lehetőségét, hogy a 5HT ehhez a sejtorganellumhoz is kötődik. A szív P_3 frakciójában a 5HT magas RSA értéke alapján valószínű, hogy a szarkotubuláris rendszer felelős a 5HT tárolásáért. Ezt megerősítik a korábbi hisztokémiai eredmények is, amelyek kimutatták a 5HT jelenlétét a csigaszív izomelemeiben [23, 1].

A P_2B és P_2E szubfrakciókban előforduló DA százalékos aránya és RSA értéke felveti annak a lehetőségét is, hogy a DA az izomsejtek elemeihez és az üres membránprofilokhoz is kötődhet.

Összefoglalás

A sűrűség gradiens centrifugálással kapott eredmények azt mutatják, hogy a ganglion- és szívhomogenizátum elsődleges frakcióiban található szerotonin 70%-a kötött, 30%-a pedig szabad formában van jelen. Ezzel szemben a CA-ok több mint 50%-a a szolubilis frakcióban található. A központi idegrendszer elsődleges frakciói közül a sejtmagi tartalmazza viszonylag a legtöbb 5HT-t és DA-t, míg a NA főként a mitokondriális frakcióban található. A mitokondriális frakcióban mindhárom monoamin igen magas relatív specifikus aktivitással rendelkezik. A mikroszomális frakció nagyon kevés mennyiségű monoamint tartalmaz, azonban a szerotoninnak itt is magas a specifikus aktivitása. A kötött 5HT és DA legnagyobb részét a központi idegrendszer 3 szubfrakciója tartalmazza (P_2C , P_2D , P_2E) és a bennük előforduló szinaptoszómák legtöbbszörében dense-core vezikulák találhatók. Ezzel szemben ezen szubfrakciók eltérő mennyiségben tartalmazzák a 5HT-t és a DA-t. Feltűnő, hogy a szív elsődleges frakciói közül a viszonylag magas relatív specifikus aktivitással rendelkező kötött szerotonin nagyobbik része a mitokondriális és mikroszomális frakcióban található, míg a dopamin mennyisége minimális ebben a frakcióban és a relatív specifikus aktivitás értékei is azt mutatják,

hogy nem részecskékhez kötötten fordul elő. A szubfrakciók vizsgálata alapján megállapítható, hogy a 5HT a szív esetében is elsődlegesen az idegvégződésekben lokalizálódik. A DA a szerotonintól eltérő lokalizációt mutat, és kötődhet — kisebb mennyiségben és magasabb specifikus aktivitással — üres membránprofilokhoz és elemekhez is.

IRODALOM

1. COTTRELL, G. A., OSBORNE, N. N. (1969) Localization and mode of action of cardioexcitatory agents in Molluscan heart. In: McCANN, F. V. (ed.): Comparative Physiology of the Heart: Current Trends. *Experientia Suppl.*, **15**, 220—231.
2. COTTRELL, G. A., OSBORNE, N. N. (1970) Subcellular localization of serotonin in an identified serotonin-containing neurone. *Nature*, **225**, 470—472.
3. DAHL, E., FALCK, B., VON MECKLENBURG, C., MYHRBERG, H. and ROSENGREN, E. (1966) Neuronal localization of dopamine and 5-hydroxytryptamine in some molluscs. *Z. Zellforsch.*, **71**, 489—498.
4. GERSCHENFELD, H. M. (1963) Observations on the ultrastructure of synapses in some pulmonate molluscs. *Z. Zellforsch.*, **60**, 258—275.
5. GERSCHENFELD, H. M. (1973) Chemical transmission in invertebrate central nervous system and neuromuscular junctions. *Physiol. Rev.*, **53**, 1—119.
6. HIRIPI, L., SALÁNKI, J. (1973) Seasonal and activity-dependent changes of the serotonin level in the CNS and heart of the snail (*Helix pomatia* L.). *Comp. gen. Pharmac.*, **4**, 285—292.
7. HIRIPI, L., SALÁNKI, J., ZS.-NAGY, I. and MUSKÓ, I. (1973) Subcellular distribution of biogenic monoamines in the central nervous system of *Anodonta cygnea* L. as revealed by density gradient centrifugation. *J. Neurochem.*, **21**, 791—797.
8. HIRIPI, L., OSBORNE, N. N. (1975) The uptake of biogenic monoamines by the isolated auricle of the snail (*Helix pomatia*). *J. Neurochem.*, **26**, 335—343.
9. JAEGER, C. P., JAEGER, E. C. and WELSH, J. H. (1970) Localization of monoamines containing neurones in the nervous system of *Strophocheilus oblongus*. *Z. Zellforsch.*, **112**, 54—68.
10. JOURDAN, F., NICAISE, G. (1970) Cytochimie ultrastructurale de la serotonine dans le système nerveux central de l'Aplysie. *VIII. Cong. Int. Micr. Électron., Grenoble*, 677—678.
11. JUORIO, A. V., KILLICK, S. W. (1972) Monoamines and their metabolism in some molluscs. *Comp. gen. Pharmac.*, **3**, 283—295.
12. KUHLMANN, D. (1970) Vergleichende fluoreszenzmikroskopische und elektronmikroskopische Untersuchungen am zentralen Nervensystem von *Planorbis corneus* L. (Basommatophora). *Z. Zellforsch.*, **110**, 121—152.
13. MARSDEN, C., KERKUT, G. A. (1970) The occurrence of monoamines in *Planorbis corneus*: A fluorescence microscopic and microspectrometric study. *Comp. gen. Pharmac.*, **1**, 101—116.
14. OSBORNE, N. N., COTTRELL, G. A. (1970a) Transport of amines along the visceral nerve of *Helix pomatia*. *Z. Zellforsch.*, **109**, 171—179.
15. OSBORNE, N. N., COTTRELL, G. A. (1970 b) Occurrence of noradrenaline and metabolites of primary catecholamines in brain and heart of *Helix*. *Comp. gen. Pharmac.*, **1**, 1—10.
16. PENTREATH, V. W., COTTRELL, G. A. (1973) Uptake of serotonin, 5-hydroxytryptophan and tryptophan by giant serotonin-containing neurones and other neurones in the central nervous system of the snail (*Helix pomatia*). *Z. Zellforsch.*, **143**, 21—35.
17. PENTREATH, V. W., OSBORNE, N. N. and COTTRELL, G. A. (1973) Anatomy of giant serotonin-containing neurones in the cerebral ganglia of *Helix pomatia* and *Limax maximus*. *Z. Zellforsch.*, **143**, 1—20.
18. PENTREATH, V. W., BERRY, M. S. and COTTRELL, G. A. (1974) Anatomy of giant dopamine-containing neurone in the left pedal ganglion of *Planorbis corneus*. *Cell and Tissue Res.*, **151**, 369—384.
19. SAKHAROV, D. A., ZS.-NAGY, I. (1968) Localization of biogenic amines in cerebral ganglia of *Lymnaea stagnalis* L. (Gastropoda). *Acta Biol. Acad. Sci. Hung.*, **19**, 145—147.
- 19/A SCHELLENBERGER, M. K., GORDON, J. H. (1971) A rapid, simplified procedure for simultaneous assay of norepinephrine, dopamine and 5-hydroxytryptamine from discrete brain areas. *Anal. Biochem.*, **39**, 356—372.

20. SEDDEN, G. B., WALKER, R. J. and KERKUT, G. A. (1968) The localization of dopamine and 5-hydroxytryptamine in neurones of *Helix aspersa*. In: FRETTER, V. (ed.): *Symp. Zool. Soc. London*, 22, 19—32.
- 20/A SNYDER, S. H., AXELROD, J. and ZWEIG, M. (1965) A sensitive and specific fluorescence assay for tissue serotonin. *Biochem. Pharmacol.*, 14, 831—835.
21. S.-RÓZSA, K. (1969) Theory of step-wise excitation in Gastropod heart. In: McCANN, F. V. (ed.): *Comp. Physiol. of the heart: Current Trends. Experientia Suppl.*, 15, 69—78.
22. S.-RÓZSA, K., PERÉNYI, L. (1966) Chemical identification of the excitatory substance released in *Helix* heart during stimulation of the extracardial nerve. *Comp. Biochem. Physiol.*, 19, 105—113.
23. S.-RÓZSA, K., ZS.-NAGY, I. (1967) Physiological and histochemical evidence for neuro-endocrine regulation of heart activity in the snail *Lymnaea stagnalis* L. *Comp. Biochem. Physiol.*, 23, 373—382.
24. TAXI, J., GAUTRON, J. (1969) Données cytochimiques en faveur de l'existence de fibre nerveuses sérotoninergiques dans le coeur de l'Aplysie, *Aplysia californica*. *J. Microscopie*, 8, 627—636.
25. WHITTAKER, V. P. (1965) The application of subcellular fractionation techniques to the study of brain function. *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, 15, 39—96.
26. WHITTAKER, V. P. (1971) Subcellular localisation of neurotransmitters. In: CLEMENTI, F. and CECCARELLI, B. (eds.): *Proc. Ist. Internat. Symp. in Cell Biol. and Cytopharmacol.* Raven Press, New York, 328—340.

INVESTIGATION OF SUBCELLULAR LOCALIZATION OF BIOGENIC MONOAMINES
WITH DENSITY GRADIENT CENTRIFUGATION METHOD IN THE CENTRAL
NERVOUS SYSTEM AND THE HEART OF THE SNAIL (*HELIX POMATIA* L.)

K. Elekes, L. Hiripi, Katalin S. Rózsa and J. Nemcsók

Biological Research Institute of the Hungarian Academy of Sciences, Tihany

Results obtained by the density gradient centrifugation show that 70% of the bound serotonin and 30% in a free form can be found primarily in fractions of the ganglion and heart homogenate. In contrast to this, more than 50% of the CA can be found in the soluble fraction. Among the primary fractions of the central nervous system, the cell nuclei contain relatively the most 5HT and DA while NA can mainly be found in the mitochondrial fraction. In the mitochondrial fraction, all three monoamines have a relatively high specific activity. The microsomal fraction contains very little amount of monoamine, however, the specific activity of the serotonin is high here, too. Most of the bound 5HT and DA are contained by 3 subfractions of the central nervous system (P₂C, P₂D, P₂E) and in the majority of the synaptosomes occurring in them dense core vesicles can be found. In contrast to this, variable amounts of 5HT and DA are contained by these subfractions. It is striking, that among the primary fractions of the heart, most of the bound serotonin having a relative specific activity can be found in the mitochondrial and microsomal fractions while the amount of dopamin is minimal in this fraction and the relative specific activity values show this also that they occur not bound to particles. On the basis of the subfraction investigations, it could be established that 5HT in the heart, is primarily localized in the nerve endings. The DA exhibits localization differing from serotonin and may bind — in smaller amounts and with higher specific activity — to epty membrane profiles and elements, too.

ADATOK AZ AHAPTOGLOBINAEMIA (HYPOHAPTOGLOBINAEMIA) ELŐFORDULÁSÁHOZ ÉS KELETKEZÉSÉHEZ

REX-KISS BÉLA és SZABÓ LÁSZLÓ

Semmelweis Orvostudományi Egyetem Igazságügyi Orvostani Intézete és
Járási Szakorvosi Rendelőintézet, Szigetszentmiklós.

Beérkezett: 1975. november 20-án

Kulcsszavak: haptoglobin típusok, ahaptoglobinaemia.

A POLONOVSKI és JAYLE által 1938-ban felfedezett, a szérumban α_2 -globulin frakciójához kötött kimutatható és haptoglobinnal elnevezett fehérje-komponens [45] genetikailag determinált polimorfizmusát 1955-ben SMITHIES és WALKER fedezték fel elektroforetikus vizsgálati módszerrel [55, 56]. A rendszerben 3 fő típus alkotja: Hp 1—1, 2—1 és 2—2. (Ez a jelölési mód nemcsak a fenotípusokat, hanem — akárcsak az MN vörösvérsejt membrán polimorfizmusnál — egyben a genotípust is jelzi.) [1, 8, 13, 14, 40, 55, 56] Az azonos számjelű típusok (Hp 1—1, 2—2) homozygotiát, a különböző számjelű típus (2—1) heterozygotiát jelent. (A Hp 1—1 és 2—1 típusokban a Hp^{1F} és Hp^{1S} allelek eredményeként létrejövő subtípusok jelen közleményünk tárgya szempontjából figyelmen kívül hagyhatók.) [29, 46, 47]

A haptoglobin genetikai variánsainak (típusainak) kimutatása (szétválasztása) a molekulák különböző töltésén és nagyságán alapul, és keményítőgél- vagy polyacrylamidgél elektroforézissel történik. Az általánosan használt keményítőgél elfogramban a 3 fő Hp típus a következőképpen manifesztálódik: a Hp 1—1 típusnál csak egy csíkot találunk, amelynek gyors anodikus mobilitása van és legtávolabb fekszik a startvonalától. A Hp 2—2 típusnál 3—4 lassúbb anodikus mobilitású csíkot figyelhetünk meg, míg a Hp 2—1 típusnál 5—6-ot, amelyek közül az egyiknek mobilitása megfelel a Hp 1—1 csíkjának, míg a többiek lassúbbak.

Nagyon ritkán találunk olyan savókat is, amelyeknek elfogramja nem felel meg fenti 3 standard típus egyikének sem. Ezek közül többnek (Hp Ca, Hp 2—1(mod), Johnson- stb. típusok) szintén genetikai hátteret tulajdonítanak. Némelyiküknél a vérsavó Hp szintjét is alacsonyabbnak találták. Ugyancsak nagyon ritkán találunk olyan vérsavókat is, amelyeknél az egyes típusokra jellemző minták az elfogramban gyengébben (vagy egyáltalán nem) mutatkoznak és így a típus nehezebben vagy csak többszöri vizsgálattal ismerhető fel. Ezzel a jelenséggel leggyakrabban a Hp 2—2 és 2—1 genotípusokban találkozunk, míg a Hp 1—1-ben gyakorlatilag nem. Megállapították, hogy ezekben az esetekben a vérsavó Hp szintje a normálisnál lényegesen alacsonyabb. Ilyenkor beszélünk *hypo-*, ill. *ahaptoglobinaemiáról*. (Szimbolikus jelzésére a Hp 0—0 vagy Hp 0 is használatos.)

Ismeretes, hogy a Hp szint tekintetében fiziológiai különbségek figyelhetők meg a különböző emberfajták, egyesek szerint nők és férfiak, sőt egyes emberek között is, ugyanazon fajtan és nemen belül [20, 31, 37, 38, 41, 46, 47]. A fehérbőrű (europid) emberek átlagos szérumban Hp szintje 80,0—120,0 mg% között van. HEVÉR [20] hazai lakosságban 106,9 mg %-os, REX-KISS és

mtsai [48, 49] egy hazai cigány populációban ennél lényegesen magasabb (123,1 mg%-os) Hp szint átlagértéket találtak. Bizonyítottnak tekinthető, hogy az átlagos Hp szint a különböző Hp típusú embereknél nem azonos. Legmagasabb értékeket találták a Hp 1—1, míg a legalacsonyabbakat a Hp 2—2 típusúaknál. A sorrend a Hp szérumszint tekintetében az egyes Hp típusokban a következő: Hp 1—1 > Hp 2—1 > Hp 2—2 [28, 48, 49, 50, 51]. A szintkülönbségek átlagértékekben kb. 60,0 és 120,0 mg% között vannak az egyes Hp típusokban, az egyedi Hp szint pedig 30,0 és 220,0 mg% között. Az elmondottakból következik, hogy az egyes népcsoportokban az átlagos Hp szint részben függ a Hp génfrekvencia értékektől is: ha ugyanis a Hp¹ frekvencia magas, akkor nagyobb a Hp 1—1 típusú egyének száma, és így magasabb az átlagos Hp szint is [3, 28].

Megfigyelték azt is, hogy a Hp 2—1 és Hp 2—2 típusokat nemcsak az alacsonyabb szérum Hp szint jellemzi (szemben a Hp 1—1 típussal), hanem az is, hogy ezek igen érzékenyek a különféle zavaró hatásokra, aminek eredménye a Hp szint csökkenése. Az ahaptoglobinaemia (a továbbiakban ahp.) valódi viszonyainak megértéséhez figyelembe kell venni, hogy egyrészt az elfo. vizsgálat kvalitatív, másrészt, hogy a típus megállapítás bizonyos minimális Hp koncentrációhoz van kötve. KAHLICH—KOENNER [35, 36], MURRAY és mtsai [41], HIRTH [30] és még mások szerint is, a 25—30 mg%-nál alacsonyabb szérum Hp koncentráció esetében a típus kimutatás már nehézségekbe ütközik. A módszer legalacsonyabb érzékenységi határát 4 mg%-ra teszik. Tekintetbe kell még azt is venni, hogy az elfo. vizsgálat érzékenysége a technikai kivitelről is függ, aminek következtében a különböző vizsgálók esetében a kimutathatóság alsó határát jelentő Hp koncentráció is változó. A 4—10 mg%-os érzékenységi alsó határt csak érzékenyre beállított vizsgáló módszerrel lehet elérni. Tekintettel arra, hogy itt lényegében kvantitatív problémával állunk szemben első sorban, helyesebbnek látszik inkább *hypohaptoglobinaemiáról* beszélni, mint ahp.-ről. MURRAY és mtsai szerint [41] hypohaptoglobinaemiáról akkor beszélhetünk, ha a vérsavóban a Hp tartalom a normális szint 30%-ánál alacsonyabb. (Ez gyakorlatilag 30 mg% alatti értékeket jelent.) Az ahp. diagnózist MURRAY és mtsai [41], PROKOP és BUNDSCHUH [46], valamint KLUTHE és mtsai [37] szerint csak akkor szabad felállítani, ha az elfo. vizsgálatnál különböző (nagyobb) szérum mennyiségekkel és immunológiai módszerrel is Hp hiányt állapítunk meg [30].

Bizonyos belső és külső körülmények az egyéni Hp szintet befolyásolhatják, mégpedig mind a csökkenés, mind az emelkedés irányában. A Hp szint csökkenés irányában hatnak elsősorban a fokozott haemolysissal járó betegségek, a súlyosabb vesekárosodás, a thrombopenia, a májgyulladás. Emelkedik a Hp szint olyan betegségekben, amelyek gyulladással vagy szöveti destrukcióval járnak. (Pl. pneumonia, malignus tumorok.) Akut és krónikus fertőző betegségekben, tüdő-tbc-ben, a savós hártyák gyulladásainál is magasabb értékek figyelhetők meg [7, 37, 47, 54]. Hazánkban HEVÉR és mtsai végeztek ez irányban kiterjedt vizsgálatokat [20, 24, 25, 26, 27]. A megfigyelésekből azt a következtetést lehet levonni, hogy a betegségek által nem befolyásolt egyéni Hp szint eléggé konstans, nagyfokú típus specifitást mutat és genetikailag kontrollált [5].

Az ahp. előfordulása a különböző emberfajtaéknál jelentős különbségeket mutat. Az europid népeknél általában 1%-on aluli értékeket találtak. Európában a legalacsonyabb értékeket eddig Svédországban (0,22%, 34) és Hollandiában (0,12%, 12) találták. Magyarországon HORVÁTH és SIMONNÉ 1,5%-os [32, 33], REX-KISS és mtsai 0,3%-os előfordulásról számoltak be [50, 51].

Ugyancsak REX-KISS és mtsai [48, 49] 500 főből álló magyarországi cigány populáció vizsgálata kapcsán az ahp. előfordulását egyetlen esetben sem tapasztalták. Nyugat-afrikai néger népcsoportokban (Nigéria) az ahp. előfordulását rendkívül gyakran (kb. 30%-osnak) találták [1, 6]. (Ez utóbbi adathoz meg kell azonban jegyeznünk, hogy ezeken a területeken a málária endémiás és gyakoriak más olyan betegségek is, amik fokozott haemolysissal vagy hepatocelluláris ártalmakkal járnak.) Ezzel szemben az amerikai négerek között a ahp. csak kb. 4%-ban fordul elő a látszólag egészséges felnőtt lakosságban. Gyermekük között viszont már 12—15%-ban [6, 17]. Indiában az ahp. előfordulását 3% körülinek találták [4, 53]. A populációgenetikai adatok értékelésénél gondolnunk kell arra — amint erre már fentebb is utaltunk, — hogy a különböző szerzők egymástól eltérő ahp. frekvencia értékeinek létrejöttében a vizsgálat technikai kivitelének különbözősége is biztosan közrejátszik. Nyilvánvaló ugyanis, hogy kevésbé érzékeny módszerrel vizsgálva az ahp. előfordulását gyakoribbnak fogjuk találni [30, 35, 36].

Az ahp.-nak 3 csoportját lehet megkülönböztetni: a) fiziológiás, b) *secundaer* és c) *primaer* ahp. Ez a csoportosítás nem általánosan elfogadott, de arra igen alkalmas, hogy jobban eligazodjunk ebben a kérdésben.

a) *fiziológiás* vagy *csecsemőkori ahp.* GALATIUS-JENSEN [14] HAUGE és mtsai [19] stb. szerint a Hp hiánya csecsemőknél 4 hónapos korig teljesen normális jelenség, de nem törvényszerű. PROKOP és mtsai [46, 47] köldökzsinórvérből az eseteknek kb. 10%-ában nemcsak a Hp-t, hanem a Hp típusokat is ki tudták mutatni. Hazánkban HEVÉR és mtsai [21, 22, 23] végeztek Hp szint vizsgálatokat és Hp típusmeghatározásokat köldökzsinórvérben. Megállapították, hogy a köldökzsinórvérben minden esetben kimutatható a Hp fehérje, de ennek mennyisége sok esetben igen alacsony (1,0—25,0 mg%). Átlagértékként 13,8 mg%-ot kaptak. A Hp típusmeghatározás 3%-ban volt eredményes.

b) *secundaer ahp.* Ez az állapot kizárólag kóros anyagcsere (betegség) eredménye vagy haemolytikus folyamat kifejezője, és ha az egyébként egészséges embernél fordul elő, akkor csak átmeneti jelenségként értékelendő.

c) *primaer ahp.* Bizonyítottnak tekinthető, hogy a 3 Hp típust *autosomal* locuson elhelyezkedő 2 kodomináns allel, a H_p^1 és H_p^2 determinálja [1, 13, 14, 15, 16, 18, 55, 56]. A standard típusoktól eltérő típusok csak rendkívül ritkán fordulnak elő és ezek egy részének genetikai determináltsága mutáns gének által szintén bizonyított. Megkísérelték a *primaer ahp* létrejöttét is genetikai alapon magyarázni: genetikai információ hiányával (egy „némi”, H_p^2 -val jelölt gén funkciójával) hozták kapcsolatba [39]. Ez a feltételezés azonban nem igazolódott. Mindinkább előtérbe került egy „suppressor-gén” létezésének feltételezése, amely a Hp szintézist gátolná. PARKER és BEARN szerint [43, 44] azok a populációk, amelyekben az ahp. gyakran fordul elő, rendelkeznek egy mutáns kontroll génnel, amely gátolja a H_p keletkezését. MURRAY és mtsai [41] szintén mutáns allel hatását tételezik fel az ahp. okaként, amely azonban az európai populációkban rendkívül ritka, szemben a nigrakkal, akiknél gyakori. A nagy számban végzett családvizsgálatok eredményeként ma már valószínűnek tekinthető, hogy ugyanarról a mutáns allelről van itt szó, amely a $H_p 2-1(mcd)$ típus létrejöttében is szerepet játszik, nevezetesen a H_p^{2m} -ről [2, 15, 16, 57]. Az allel a Hp struktúrgén locusán intrinszc módra vagy ehhez szorosan kapcsolatosan fordul elő és a Hp kvantitatív viszonyait negatívan befolyásolja. Az allel a köv. fenotípusokban fordulhat elő: $H_p 2-1$,

Hp 2—1(mod), Hp 2—2 és Hp 0—0. Az allel csupán a Hp 2m—1 fenotípusban manifesztálódik: elfogramja a közönséges Hp 2—1-étől abban különbözik, hogy a két legmobilisabb csík nagyobb, míg a többi kisebb koncentrációjú, ennél fogva az elfogramban csak az előbbieket láthatók jól. A közönséges Hp² allelrel kombinálódva (genotípus Hp^{2m}/Hp²) jelenléte nem identifikálható, az elfogram nem különbözik a közönséges Hp²/Hp² típusétól. A Hp 2—1(mod)×Hp 2—1(mod) keresztezéséből származhatnak Hp 1—1, Hp 2—1(mod) vagy Hp 0—0 fenotípusú utódok. Ha Hp^{2m}/Hp^{2m} genotípus van jelen, akkor feltehetően a fenotípus minden esetben Hp 0—0 [6, 17, 18].

A primaer ahp. keletkezésével, ill. genetikai hátterével kapcsolatban a leglényegesebb megfigyeléseket, ill. álláspontokat a következőkben foglalhatjuk össze:

1. A Hp 0—0 fenotípus (vagyis az ahp.) előfordulása sokkal valószínűbb az olyan gyermekeknél, akiknek legalább egyik szülője Hp 2—1(mod) vagy Hp 0—0 fenotípusú.

2. Hp 1—1×Hp 1—1 keresztezésből Hp 0—0 fenotípusú gyermek származása csaknem kizártnak tekinthető. Bármilyen más keresztezésből származhatnak Hp 0—0 fenotípusú gyermek. Leggyakrabban észlelték az ahp.-t a Hp 2—1×Hp 2—1, a Hp 2—1×Hp 2—2 és a Hp 2—2×Hp 2—2 keresztezésekből származó gyermekeknél.

3. A Hp¹ gén fokozza, még a Hp² jelentősen csökkenti a Hp szintet. Legalacsonyabb a Hp szintet a 2m—1 típusú gyermekeknél találták (AZEVEDO és mtsai, 2). HEVÉR és mtsai már említett vizsgálataikban [21, 22, 23] a 11 köldökzsinórvérből, amikben a Hp típust is ki tudták mutatni, 5 volt Hp 1—1, 4 Hp 2—1 és 2 Hp 2—2 típusú. Vagyis a Hp 1—1 típus előfordulása a többszöröse volt a felnőttkének. Ez a megfigyelés nem áll ellentétben az irodalmi adatokkal, hiszen közismert, hogy a csecsemők között a Hp 1—1 típus túlsúlya figyelhető meg a Hp 2—2 típus rovására. (Ezt előző vizsgálatainkban mi is megfigyeltük) [50, 51]. Ez azt jelenti, hogy a Hp¹ gén a vérben magasabb Hp szintet eredményez s így növekszik a Hp 1 jelleg kimutatásának az esélye.

4. A Hp 0—0 fenotípusúnak talált gyermekeknél később (legkésőbbben felnőtt korban) a genetikai Hp típus általában megállapítható. Ugyancsak megállapítható a Hp típus az esetek egy részében, ha a vizsgálatot koncentrált vérsavóval végezzük.

5. A keményítőgél-elfoval Hp 0—0 típusúnak talált egyéneknek a genotípus valószínűleg Hp^{2m}/Hp¹ vagy Hp^{2m}/Hp², Hp²/Hp², Hp²/Hp¹. Ezt bizonyítja az a megfigyelés is, hogy az amerikai négek között, akiknél az ahp. viszonylag gyakori, kb. 10%-ban mutatható ki a Hp 2—1(mod) típus.

6. Több családban sikerült bizonyítani a Hp^{2m} allel szerepét az ahp. állapotának kifejlődésében.

Vizsgálati anyag és módszer

A vizsgált családoknak kb. fele budapesti lakos volt. A családok bírósági származás-megállapítási ügyekben végzendő vércsoportvizsgálatok elvégzése céljából lettek berendelve a budapesti „Semmelweis” Orvostudományi Egyetem Igazságügyi Orvostani Intézetébe. A vizsgálatokat az 1963—1975. években végeztük. Vizsgálati módszerünk azonos volt a berlini Humboldt Egyetem törvényszéki-orvostani intézetében használatos és nálunk 1962 óta alkalmazott SERFAS—PROKOP—BUNDSCHUH-féle keményítőgél-elfo módszerrel [8, 46, 47]. Ennek leírását mellőzzük, mivel ez magyar nyelvű közleményben is megtalálható [8].

Vizsgálati eredmények

1. 4000 felnőtt, egészséges, egymással vérszerinti rokonságban nem álló, kb. fele részben férfi és nő (többségükben 20 és 30 év közötti korcsoportba tartozó) személyen végzett Hp típusvizsgálataink során 9 esetben észleltük az ahp. előfordulását, mégpedig 5 esetben férfinél, 4 esetben nőnél. Ez 0,225%-os előfordulási gyakoriságot jelent.

2. 2119 2 éven aluli korcsoportba tartozó gyermek között 20-nál figyeltük meg az ahp. előfordulását (= 0,94%). Ez 4-szerese a felnőtteknél talált ahp. gyakoriságnak (1. táblázat).

1. táblázat

Az ahaptoglobinaemia előfordulása különböző életkorú gyermekeknél

Gyermekek		Ahaptoglobinaemia	
kora	száma	n	%
3–8 hét	7	5	$\left\{ \begin{array}{l} 57,1 \\ 38,9 \\ 0,8 \\ 0,3 \\ 0,4 \\ 0,4 \end{array} \right\} 44,0$
9–16 hét	18	6	
5–6 hónap	120	1	
7–12 hónap	1.130	4	
13–24 hónap	844	4	
3–10 év	781	3	
11–18 év	100	0	0,0
Összesen	3.000	23	

3. Az ahp. életkor szerinti előfordulásának vizsgálatából megállapítható, hogy a 4 hónaposnál nem idősebb csecsemőknél az eseteknek több mint a felében sikerült a Hp típus megállapítása, másszóval az ahp. előfordulása az eseteknek csaknem felében (= 44%-ban) volt megfigyelhető. Ezzel szemben a 6 hónaposnál idősebb csecsemők között az ahp. gyakoriság már nem különbözött az 1 éven felüliekétől, ill. a felnőttekétől (1. táblázat). (Hasonló megállapításokra jutottak többek között GALATIUS-JENSEN, 14, HAUGE és mtsai, 18, is több ezres vizsgálataik alapján).

4. 18 ahp-snak talált anya közül 14-nél módunk volt gyermekeiket is vizsgálni, mégpedig 12-nél egy-egy, 2-nél pedig két-két, összesen tehát 16 gyermeket. (Ebben a számban bennfoglaltatik 1971-, ill. 1972-ben megjelent közleményeink anyaga is. [50, 51]. A 16 gyermek közül 10 Hp 2–2, 6 pedig Hp 2–1 típusúnak bizonyult. (Vagyis Hp 1–1 típusú gyermek nem fordult elő közöttük.)

5. A 2000 család közül 9-ben találtunk az egyik szülőnél ahp-t; mégpedig 5 esetben az apánál, 4 esetben az anyánál. Gyermekeik között (összesen 9) ahp. egyetlen esetben sem fordult elő! (De a Hp 1–1 típus sem.) 6 gyermek Hp típusa 2–2, 3 gyermeké pedig Hp 2–1 volt. A szülők és gyermekeik Hp típusainak ismeretében arra a következtetésre jutottunk, hogy az ahp-s apák, ill. anyák valódi Hp típusa csak Hp 2–1 vagy 2–2 lehetett.

6. Az ahp. öröklési viszonyainak megismeréséhez igen értékes adatokhoz jutottunk, amikor megvizsgáltuk a 64 ahp-s gyermek szüleinek Hp típusait is. Mielőtt azonban ezeket az eredményeket elemeznénk, ismertetjük

1972-ben megjelent közleményünkben [50] szereplő hazai Hp típus, ill. Hp géngyakorisági értékeket:

$$\begin{aligned} \text{Hp } 1-1 &= 13,35\% \\ 2-1 &= 46,00\% \\ 2-2 &= 40,35\% \\ 0-0 &= 00,30\% \\ \text{Hp}^1 \text{ géngyakoriség} &= 0,3635 \end{aligned}$$

A géngyakorisági értékből számított, valamint a szülő-keresztezések előfordulási gyakorisági értékeit a 2. táblázatban állítottuk össze.

2. táblázat

64 ahaptoglobinaemiás gyermek szüleinek Hp típusa; a különböző Hp típusú szülőpárok előfordulási gyakorisága.

Ahp-s gyermek	Szülőpárok			
	Hp típusa	talált		számított %
		n	%	
0	Hp 1-1×1-1	0	0,0	1,78
3	1-1×2-1	3	5,5	12,28
6	1-1×2-2	6	11,1	10,85
26	2-1×2-1	22	40,7	21,16
21	2-1×2-2	16	29,6	37,40
7	2-2×2-2	6	11,1	16,52
1	0-0×2-2	1	1,8	0,01
64		54	99,8	100,00

Az eredményeket elemezve, a következők állapíthatók meg:

1. A 64 ahp-s gyermek összesen 54 szülőpártól származott. Ez utóbbiak között egyetlen esetben sem volt megfigyelhető a Hp 1-1×Hp 1-1 keresztezés. A Hp 1-1 típus a szülők között mindössze 9 esetben (= 8,3%) fordult elő, ami lényegesen alatta van e típus hazai átlagos gyakoriságának (= kb. 13%).

2. A szülőpárok között a Hp 0-0×Hp 0-0 keresztezés nem fordult elő és mindössze egy esetben volt az egyik szülő Hp 0-0 fenotípusú.

3. Az ahp-s gyermekek szülei között a számítottnál lényegesen nagyobb arányban fordult elő a Hp 2-1×Hp 2-1 keresztezés. Ugyanekkor a Hp 2-2×Hp 2-2 keresztezések száma a számítottnál alacsonyabbnak bizonyult.

Megbeszélés

Vizsgálataink eredményeit összevetve az irodalmi adatokkal, a következőket állapíthatjuk meg:

1. Az ahp. előfordulási gyakorisága tekintetében saját jelenlegi vizsgálati eredményeink (ugyanekkor 1971. és 1972. évben közölt eredményeink is)

nagyon közel állnak az újabban közölt európai eredményekhez. Ennél alacsonyabb értékeket eddig csak Hollandiában [12] és Svédországban [34] találtak. Véleményünket az ahp. gyakorisági értékek tekintetében fentebb már kifejtettük.

2. Eredményeink megerősítik a külföldi szerzők többsége által képviselt álláspontot, amely szerint ahp-s gyermek Hp 1—1 × Hp 1—1 keresztezéséből nem származhatik. Viszont nem kizárt ahp-s gyermek születése, ha az egyik szülő Hp 1—1 típusú. (Eseteink között 9 ilyen fordult elő.)

3. Megfigyeléseink, amelyek szerint a Hp 2—1 × Hp 2—1 keresztezésekből viszonylag több ahp-s utód született, mint más keresztezésekből, megerősítik GIBLETT [15], SUTTON és KARP [57], FALK és PROKOP [11] megfigyeléseit. Megemlítenénk tartjuk ezzel kapcsolatban, hogy FALK és PROKOP 6 ahp.-s gyermek szülei között Hp 2—2 × Hp 2—2 keresztezést egyetlen esetben sem talált.

4. Mivel az ahp. velejárója a Hp szint rendkívül alacsony volta, csupán ezen az alapon elsősorban a Hp 2—2 × Hp 2—2 keresztezésekből volna várható ahp.-s utódok származása. GALATIUS-JENSEN [13], HAUGE és mtsai [19] ilyen megfigyelésekről is számoltak be. Ezt a feltételezést sem a 3. pontban említett szerzők, sem saját jelenlegi vizsgálataink nem támasztják alá. Így tehát más tényezők szerepére is gondolnunk kell. Utalni kívánunk itt ezzel kapcsolatban arra, amit a bevezetőben a Hp 2—1 és Hp 2—2 típusokról mondtunk, hogy ti. ezek igen érzékenyek a különféle zavaró hatásokra a Hp szint tekintetében. Ezt bizonyítják „vizsgálati eredményeink” c. fejezet 5. pontjában ismertetett megfigyeléseink is. Mai ismereteink birtokában feltételezhetjük, hogy a „zavaró hatások” hátterében genetikai tényezők, közelebről a Hp^{2m}-nek nevezett mutáns allel játszanak szerepet. Úgy véljük, hogy vizsgálataink eredményei ezt a feltételezést alátámasztják. Viszont nincsen magyarázat arra, hogy miért fordul elő ez az allél gyakrabban a Hp 2—1 típusban, ill. a Hp¹ allelrel kombinálódva, mint a Hp 2—2-ben.

5. Vizsgálataink eredményei nem támasztják alá azt az egyes szerzők által képviselt álláspontot, amely szerint az ahp. gyakrabban fordul elő olyan gyermekeknél, akiknek *legalább* egyik szülőjénél szintén ahp. fordul elő. Mint megfigyelhettük, a 64 ahp-s gyermek szülei között csupán egy ahp-s fordult elő. Ezenkívül, a 2000 vizsgált családból 9-ben fordult elő az apánál vagy az anyánál ahp. anélkül, hogy ezt a gyermekek közül egy is örökölte volna.

6. Az ahp.-nak a nemek közötti előfordulása tekintetében nem figyeltünk meg túlsúlyt a nők javára, sőt ellenkezőleg, gyakoribbnak találtuk a férfiak között. Régebbi közleményeinkben [50, 51] 30 ahp. esetről számoltunk be. Köztük az arány 16 : 14 volt a férfiak javára. Jelenlegi vizsgálatainkban az arány 5 : 4, ugyancsak a férfiak javára. A két eredményt összesítve 21 : 18 arány mutatkozik a férfiak javára. Az eltérés nem szignifikáns, így azt a következtetést levonhatjuk, hogy az ahp. előfordulásában (felnett, egészséges egyéneknél) férfiak és nők között lényeges különbség nincsen.

A rendelkezésünkre álló vizsgálati eredmények figyelembevételével megállapíthatjuk, hogy az ahp. keletkezésének kérdésére ma még biztos választ nem tudunk adni. Ehhez 3 generáció Hp típus és Hp szint vizsgálatainak eredményére lenne szükség. Ezen kívül fontos felvilágosításokat kaphatnánk a kérdés megválaszolásához újszülött ikerpárokon végzett hasonló vizsgálatok eredményeiből is.

Összefoglalás

1. 4000 felnőtt, egészséges, egymással vérszerinti rokonságban nem álló, kb. fele részben férfi és nő (többségében 20—30 éves) személyen végzett Hp típus vizsgálatok kapcsán 9 esetben észleltük az ahp. előfordulását. Ez 0,225%-os előfordulási gyakoriságot jelent. Az ahp. előfordulásában férfiak és nők között értékelhető különbség nem figyelhető meg, bár az ahp. a férfiaknál kissé gyakrabban fordult elő. — 2. 2119 2 éven aluli korcsoportba tartozó gyermek között 20 (= 0,94%) esetben figyelhetjük meg az ahp. előfordulását. — 3. 4 hónaposnál nem idősebb csecsemőknél 56%-ban volt a Hp típus megállapítható. A 6 hónaposnál idősebb csecsemők között viszont az ahp. gyakoriság nem különbözött lényegesen az 1 éven felüliekétől, ill. a felnőttekétől. — 4. 14 ahp-s anyának 16 gyermekénél a Hp 1—1 típus egyetlen esetben sem fordult elő. — 5. 9 családban, ahol a szülők egyike ahp-s volt, a gyermekek között ahp. nem fordult elő. — 6. 64 ahp-s gyermek szüleinél a Hp 1—1 × Hp 1—1 keresztezés egyetlen esetben sem fordult elő. De nem volt megfigyelhető Hp 0—0 × Hp 0—0 keresztezés sem. Ez utóbbi megfigyelés ellentétben áll egyes szerzők felfogásával, amely szerint az ahp. gyakrabban fordul elő olyan gyermekeknél, akik Hp 0—0 × Hp 0—0 szülőpároktól születtek. — 7. Megfigyeléseink alátámasztják azt a feltevést, hogy az ahp. keletkezésében egy mutáns allel (a Hp^{2m}) szerepe feltételezhető.

IRODALOM

1. ALLISON, A. C. (1958) The genetical control and clinical significance of the haptoglobins. *Proc. Roy. Soc. Med.*, **51**, 641.
2. AZEVEDO, E. és mtsai (1969) Ahaptoglobinaemia in Northeastern Brazil. *Hum. Hered.*, **19**, 609.
3. BAXI, A. J., EKTARE, A. M. (1969) Hp levels in normal Indian people. *Ind. J. med. Res.*, **57**, 78.
4. BAXI, A. J. és mtsai (1969) Hp and Tf types in three Gujarati-speaking groups. *Ind. J. med. Res.*, **57**, 2087.
5. BAYANI-SIOSAN, P. S. és mtsai (1962) Quantitative studies on the haptoglobin of apparently healthy adult male twins. *Amer. J. hum. Genet.*, **14**, 210.
6. BLUMBERG, B. S. és mtsai (1963) Alterations in haptoglobin levels. *J. Amer. med. Ass.*, **184**, 1021.
7. BRAUN, H. J. (1972) Die klinische Bedeutung des Haptoglobins. *Blut*, **24**, 73.
8. BUDVÁRI R. (1962) A haptoglobin csoportok. *Orv. Hetil.* **103**, 1112.
9. DARVAS GY. és mtsai (1973) Haptoglobin szint alakulásának értékelése akut vírushepatitis lezajlása folyamán. *Orv. Hetil.*, **114**, 1427.
10. EKTARE, A. M., BAXI, A. J. (1970) Haptoglobins: Chemistry and Biology. *J. Ind. med. Prof.*, **17**, 606.
11. FALK, H., PROKOP, O. (1961) Die bisherigen Familienuntersuchungen des Berliner Instituts bezüglich der Haptoglobintypen. *Zschr. ärztl. Fortbild.*, **55**, 844.
12. FRASER, G. R. és mtsai (1974) Gene frequencies in a Dutch population. *Hum. Hered.*, **24**, 435.
13. GALATIUS-JENSEN, F. (1958) On the genetics of the haptoglobin. *Acta genet.*, **8**, 248.
14. GALATIUS-JENSEN, F. (1960) The haptoglobins. A genetical study. Dansk Videnskabs Forlag, København.
15. GIBLETT, ELOISE, R. (1961) Haptoglobin: a review. *Vox Sang.* **6**, 513.
16. GIBLETT, ELOISE, R. (1969) Genetic markers in human blood. Blackwell Sci. Publ., Oxford—Edinburgh.
17. GIBLETT, ELOISE, R., STEINBERG, A. G. (1960) The inheritance of serum haptoglobin types in American Negroes. *Amer. J. hum. Genet.*, **12**, 160.
18. HARRIS, H. és mtsai (1958) Atypical segregation of haptoglobin types in man. *Nature* (London), **182**, 1324.

19. HAUGE, M. és mtsai (1970) Studies on the haptoglobin system I. *Hum. Hered.*, **20**, 557.
20. HEVÉR Ö. (1962) A vér haptoglobin szintjéről és meghatározásának klinikai vonatkozásairól. *Orv. Hetil.*, **103**, 1117.
21. HEVÉR Ö. és mtsai (1972) Köldökzsinórvér haptoglobin szintjének meghatározása. *Orv. Hetil.*, **113**, 740.
22. HEVÉR Ö. és mtsai (1972) A haptoglobin típusok vizsgálata anya-köldökzsinór párokban. *Orv. Hetil.*, **113**, 743.
23. HEVÉR, Ö. és mtsai (1972) Determination of Hp level in umbilical cord blood of newborn. *Biol. Neonate*, **20**, 245.
24. HEVÉR, Ö. (1963) Haptoglobintiter bei Tuberkulosekranken. *Z. Tbk.* **119**, 187.
25. HEVÉR Ö., KÁLNAI É. (1970) A haptoglobinszint értékelése öregkori tuberkulózisban. *Tub. és Tüdőbetegs.*, **23**, 27.
26. HEVÉR, Ö., VADÁSZ, GY. (1965) Haptoglobin investigations in children with infectious hepatitis. *J. Pediatrics*, **67**, 1156.
27. HEVÉR Ö. és mtsai (1972) Haptoglobin¹ vizsgálatok értékelése tumoros megbetegedésekben. *Orv. Hetil.*, **113**, 2711.
28. HEVÉR Ö. és mtsai (1968) A haptoglobin örökletes típusainak befolyása quantitativ szérum szintjének alakulására. *Kísérl. Orvostud.*, **20**, 610.
29. HEVÉR Ö. (1975) A haptoglobin subtípusokról. *Orv. Hetil.*, **116**, 1690.
30. HIRTH, L. és mtsai (1970) Diagnose von Hypohaptoglobinaemien. *D. ärztl. Labor.*, **16**, 373.
31. HIGASHI, G. I., LUBS, H. A. jr. (1966) Quantitative variations of Haptoglobins in a Caucasian family. *J. med. Genet.*, **3**, 281.
32. HORVÁTH, E., SIMON, Á. (1962) Distribution of Hp types in our donors. *Haemat. Hung.*, **2**, 107.
33. HORVÁTH, E., SIMON, J. (1963) Untersuchungen über die Verteilung der Hp-Typen bei unseren Blutspendern. *Folia Haemat.* (Leipzig), **80**, 149.
34. HÖGLUND, C. és mtsai (1970) Studies on the Haptoglobin system I. *Hum. Hered.*, **20**, 549.
35. KAHLICH-KOENNER, D. M. (1961) Irrtumsmöglichkeiten bei der Haptoglobin-Bestimmung. Vortrag: 5. Kongr. f. Gerichtl. u. Soz. Med., Wien.
36. KAHLICH-KOENNER, D. M., WEIPPL, G. (1961) Abhängigkeit der Hp-Typen-Bestimmung von der Hp-Konzentration. *Klin. Wschr.*, **39**, 1025.
37. KLUTHE, R. és mtsai (1965) Quantitative estimation of human serum haptoglobins by an immunological method. *Nature* (London), **205**, 93.
38. MATTHIES, H. és mtsai (1963) Heutiger Stand der Haptoglobin-Forschung. *Med. Klin.*, **58**, 121.
39. MATSUNAGA, E. (1962) An inert allele Hp^o at the Hp locus. *Jap. J. hum. Genet.*, **7**, 133.
40. MÁKELÄ, O. és mtsai (1959) On the inheritance of the haptoglobin serum groups. *Acta genet.*, **9**, 149.
41. MURRAY, R. F. és mtsai (1966) Observations on the inheritance of hypohaptoglobinemia. *Acta genet.*, **16**, 113.
42. NYMAN, M. (1959) Serum haptoglobins. *Scand. J. Clin. Labor. Invest.*, **11**, 1.
43. PARKER, W. C., BEARN, A. G. (1963) Control gene mutations in the human haptoglobin phenotypes. *Nature* (London) **198**, 107.
44. PARKER, W. C., BEARN, A. G. (1963) Control gene mutations as a possible explanation of certain haptoglobin phenotypes. *Amer. J. hum. Genet.*, **15**, 159.
45. POLONOVSKI, M., JAYLE, M. F. (1933) Existence dans le plasma humain d'une substance activant l'action péroxidasique de l'hémoglobine. *C. R. Soc. Biol.*, **129**, 457.
46. PROKOP, O. BUNDSCHUH, G. (1963) Bedeutung und Technik der menschlichen Haptoglobine und Gm-Gruppen. W. de Gruyter, Berlin.
47. PROKOP, O., UHLENBRUCK, G. (1966) Lehrbuch der menschlichen Blut- und Serumgruppen. VEB G. Thieme, Leipzig.
48. REX-KISS B. és mtsai (1972) Vércsoport vizsgálatok magyarországi cigányokon. *Biol. Közlem.*, **20**, 51.
49. REX-KISS, B. és mtsai (1973) Blood groups investigations among the Gypsy population of Hungary. *Hum. Biol.*, **45**, 41.
50. REX-KISS B., SZABÓ, L. (1971) Results of Hp types investigations in Hungary. *Hum. Genet.*, **13**, 78.
51. REX-KISS, B., SZABÓ, L. (1972) Haptoglobin types in Hungary. *Acta biol. Acad. Sci. Hung.*, **23**, 123.
52. REX-KISS B., SZABÓ L. (Megjelenés alatt). Az ahaptoglobinaemia előfordulásáról, keletkezéséről és jelentőségéről az apasági szerológiában. *Morph. és Ig. Orv. Szemle.*
53. SETH, S. és mtsai (1971) Studies on Hp and Tf types in Kathris and Aroras of Punjab, India. *Hum. Genet.*, **14**, 44.

54. SHINTIN, N. K. és mtsai (1965) Diagnostic value of serum haptoglobin. *J. Clin. Path.*, **18**, 114.
55. SMITHIES, O., WALKER, N. F. (1955) Genetic control of some serum proteins in normal human. *Nature* (London), **176**, 1265.
56. SMITHIES, O., WALKER, N. F. (1956) Notation for serum-protein groups and the genes controlling their inheritance. *Nature* (London), **178**, 694.
57. SUTTON, ELDON, H., KARP, G. W. (1964) Variations in heterozygous expressions at the haptoglobin locus. *Amer. J. hum. Genet.*, **16**, 419.
58. WHITTEN, C. F. (1961) Studies on serum haptoglobins. *Amer. J. Dis. Child.*, **102**, 480.

DATA ON THE OCCURRENCE AND FORMATION OF AHAPTOGLOBINAEMIA
(HYPOHAPTOGLOBINAEMIA)

B. Rex-Kiss and L. Szabó

In the course of examining 4000 adult healthy individuals about half males the other females (mainly between 20—30 years of age) and carrying out Hp type tests we noted the occurrence of ahp in 9 case. That means a 0,225% frequency of occurrence. No notable differences could be observed in the occurrences of ahp. between males and females, but it occurred slightly more in males. Of 2119 children below two years it was detected in 20 cases (= 0,94%). Infants of no more than four months the Hp type was found in 56%. Above 6 months the frequency of occurrence did not differ essentially from that of above 1 and the adults. Of 14 ahp mothers the 16 children did not in one instance have either of the Hp types. In 9 families where one of the parents had ahp the children did not have it. The Hp 1—1 × Hp 1—1 crossing did not occur in any of the 64 ahp children's parents. Moreover the Hp 0—0 × Hp 0—0 crossing could not be detected either. The latter is in opposition to certain observations of other authors according to which the Hp 0—0 × Hp 0—0 occurs more often in such children whose parents had Hp 0—0 × Hp 0—0. Our observations support the supposition that in the development of ahp a mutant allele (Hp^{2m}) may be responsible.

MATEMATIKAI MODELLEK A BIOLÓGIÁBAN

(Gondolatok a matematika és a matematikai modellezés jobb biológiai alkalmazásának néhány problémájáról)

TELEGDI LÁSZLÓ

MTA Számítástechnikai és Automatizálási Kutató Intézete, Budapest

Beérkezett: 1976. január 10-én

Matematika a biológiában

Minden tudomány fő célja hasznos új ismeretek szerzése, a világ egyre jobb megismerése. A matematika esetében a „világ” szó két dolgot is jelenthet: az elméleti vagy „tisztá” matematikusok számára, akik tudományukat elsősorban önmagáért, belső szépségeiért és következetességéért szeretik, a matematika világát; egyéb tudományok matematikát alkalmazni kívánó kutatói számára, akik a matematikát elsősorban saját területükön játszott szerepéért szeretik; az anyagi világot, az alkalmazó matematikusok számára, akik közé e cikk írója is tartozik, pedig mindkettőt, de az utóbbit nagyobb súllyal.

A fizikában Newton munkássága óta folyamatosan egyre nagyobb a jelentősége a különböző jelenségek matematikai módszerek segítségével történő leírásának. Napjainkban más tudományokra is „... jellemző az a nagyfokú törekvés, hogy a matematikai módszereket széleskörűen alkalmazzák... A »matematizálódás« folyamata mindenütt a tudomány jelentős fejlődésével jár, értékes eredményeket hoz felszínre és új területeket nyit meg a... tudományos kutatások előtt” (lásd ITELSZON [1969]).

A matematikai módszerek használata ugyan a biológiában is vitathatatlannul terjed, de sok részterületen túlságosan lassan. Ennek nemcsak objektív okai vannak. A biológiában alkalmazó matematikusokból és a matematikát alkalmazni kívánó biológusokból gyakran hiányzik a „másik oldal” gondolkodásmódjára való törekvés és az együttműködési készség. Sok biológus — különböző tévhiedelmekből kifolyólag — eleve elzárkózik a matematika alkalmazásától. Miért helytelen ez a magatartás?

1. Közismert és elismert, hogy milyen sok fizikai jelenség írható le különböző matematikai módszerek segítségével.

2. Nagyon nehéz összehasonlítást tenni két olyan különböző tudományterület között, mint a biológia és a fizika. Ha ezt mégis megtesszük, azt látjuk, hogy a fizika magasabb fejlődési stádiumban van (az ún. elméleti szakaszban). A biológiával ellentétben a fizika lényegében kialakította saját, fizikai — nem matematikai! — nézőpontját és alapelveit, amelyekre építve a különböző fizikai kérdéseket egységesen, közös nyelven, szabatosan és egyértelműen, ugyanakkor fizikai szemlélettel tudja tárgyalni.

3. A matematikai megfontolások és eszközök térhódítása ellenére a fizika tehát nem vált a matematika részévé. Sőt, a matematikai módszerek alkalmazása kimondottan elősegítette a fizika fent érintett saját fejlődését.

4. A matematika — a logikához hasonlóan — sem nem természettudo-

mány, sem nem társadalomtudomány; elméletileg egyformán alkalmazható fizikában, kémiában, biológiában, szociológiában, nyelvészetben stb.

5. A gyakorlatban a matematika biológiai alkalmazása messze elmarad a fizikai mögött. Ennek történeti és egyéb okai vannak. Utóbbiak közül a legfontosabbak a következők:

i) a fizikával szemben itt igen sok kérdés alapvetően nem kvantitatív jellegű, ezért matematikai megfogalmazása *az ismert és kidolgozott matematikai diszciplínák segítségével* egyáltalában nem vagy alig lehetséges;

ii) amíg a fizikai mennyiségek gyakran csak mérési hibák következtében mutatnak véletlen ingadozást, addig a biológiában ez rendszerint a vizsgált mennyiségek lényegi tulajdonsága;

iii) egy sor biológiai mennyiség igen nehezen mérhető.

Ezek az okok *önmagukban* nem indokolnának minőségi vagy nagyságrendbeli különbséget a matematika biológiai és fizikai alkalmazása között. Lényegesebbek a (tőlük nem függetlenül ható) történeti okok. A matematika több fejezete ugyanis éppen fizikai alkalmazások hatására és céljából alakult ki. Ugyanakkor ez a folyamat a biológiai alkalmazások vonatkozásában még kezdeti stádiumban van. Felgyorsítása a biológusokkal szemben is támaszt követelményt. Arról van szó, hogy „... ha elfogadjuk, hogy a biológiának van önálló tárgya, akkor azt is el kell fogadnunk, hogy ezen önálló tárggyal csak — legalábbis részben — önálló ... (metodológia) lehet adekvát. Éppen ezért nemcsak az a kérdés, hogy a meglévők közül milyen matematikai elméletek alkalmasak a biológiai folyamatok leírására, hanem sokkal inkább az, hogy milyenek kifejlesztése szükséges. Itt az ideje, hogy a biológia is »feladja rendelését« a matematikának, »konfekció« helyett »sajátos testalkatához illő, méretre szabott ruhát« viseljen. A feladat tehát a biológia »matematikumának« feltárása” (lásd GÁSPÁR, PÁLVÖLGYI és VALLÓ [1975]). Ehhez természetesen a matematikusoknak is segítséget kell nyújtaniuk.

6. Nem szabad túl sokat várni — és esetleg ezért is félni — a matematikától. A biológiai jelenségek okainak feltárásában a matematikai módszerek csak segédeszközök. Tartsuk szem előtt azt a régi elvet, hogy „... a biológiát matematikával, de nem mint matematikát” (lásd JOHANNSEN [1909]) kell művelni. Másrészt valamely biológiai jelenség — természetszerűleg egyszerűsített — matematikai leírását nem olyan kísérletnek kell felfogni, amelynek célja a jelenség „befogása” a matematikai módszerek „hálójába” (lásd LUGOSFALVI [1974]).

A matematika alkalmazása során sok esetben hasznos vagy akár szükséges lehet számítógép, számítástechnikai eszközök használata. Szoros, gyakran nemcsak igen gyümölcsöző, hanem lényegi kapcsolatuk ellenére fontos az alkalmazott matematika és a számítástechnika megkülönböztetése.

Matematikai modellezés

Napjainkban a kísérleti technika fejlődése a biológiában igen gyors. Ez „... egyre gazdagabb kísérleti anyag egyre elmélyültebb megfigyelését teszi lehetővé” (lásd BÁLINT [1974]). Mind több és több adatot gyűjtenek és elemeznek. Ezzel párhuzamosan egyre több esetben kerül sor konkrét biológiai objektumok, jelenségek vagy folyamatok numerikus adatainak matematikai-statisztikai analízisére. Ez az analízis egyes esetekben egészen elemi,

csupán az adatok különböző szempontok szerinti rendezéséből és átlagszámításokból áll, más esetekben viszont ezeket komplex biometriai értékelés és kutatás egészíti ki.

Az adatok gyűjtésével és elemzésével kapcsolatban lényeges kérdések merülnek fel. Milyen adatokat gyűjtünk? Hogyan értelmezzük analízisük eredményét? Mivel a vizsgált objektumot, jelenséget vagy folyamatot a maga teljességében sohasem ismerjük, az ilyen kérdések megválaszolásához közelebb juthatunk, ha megpróbáljuk egy olyan egyszerűbb, eszmeileg elképzelt (ez persze nem zárja ki a gyakorlati megvalósíthatóságot) rendszerrel helyettesíteni, amely összhangban van adataink milyenségével és analízisük eredményével is. Az ilyen rendszereket, mint ismeretes, tudományos modelleknek* nevezzük. A matematika biológiai — és sok más — alkalmazásának egyik legfontosabb módja éppen a matematikai modellezés, matematikai modellek konstruálása, fejlesztése és tanulmányozása.

Az eredeti probléma — *in vivo* vagy *in vitro* — mindig az élővilágban születik. Biológus által történő tanulmányozása egyben a matematikai modellezés első lépése is. Ennek során a cél minél több olyan információ gyűjtése, amelyik a problémához kapcsolódik. Ezek értelmezése, megszürése és integrálása itt még nem elsőrendű feladat.

A szóban forgó biológiai objektum, jelenség vagy folyamat kezdeti tanulmányozása után a következő lépés a probléma minél szabatosabbá tétele. Arról van szó, hogy a probléma vizsgálata kezelhetetlenül komplex lenne, ha mindent figyelembe vennénk. Ezért feltétlenül szükség van egyszerűsítő feltevésekre: elhanyagolásokra és közelítésekre, idealizálásra, a valóságtól való bizonyos elvonatkoztatásra. Az információ egy részét mint lényegtelen figyelmen kívül kell hagyni. Ehhez ki kell választani azokat az alapvető szempontokat, amelyek alapján az információ értelmezhető és — általában korántsem könnyen — eldönthető, hogy mi lényeges és mi nem. Ezen szempontok szerint történhet most már meg a megmaradt és lényegesnek gondolt információ integrálása. A matematikai modellezés második nagy lépése tehát a biológiai modellezés (ami persze több, mint pusztán a matematikai modellezés egy lépése), megfelelő biológiai modell konstruálása és tanulmányozása. Ez gyakran visszahat az előző lépésre: a biológiai modellhez szükség lehet kiegészítő információra. (Ez viszont szükségessé teheti a biológiai modell megváltoztatását, és így tovább.)

Más modellekhez hasonlóan egy biológiai modell sem lehet minden tekintetben kielégítő, hiszen a valóságot nyilvánvalóan nem tudja annak teljes bonyolultságában tükrözni. (Ebben az esetben egyébként már nem is lenne modell.) Minél közelebb van ehhez, annál nehezebben kezelhető. A jósága nagyrészt attól függ, hogy a tett egyszerűsítő feltevések milyen mértékben veszik figyelembe a lényegest és hagyják figyelmen kívül a lényegtelen.

A matematikai modellezés harmadik lépésében a biológiai modellben szereplő mennyiségeket, folyamatokat, fogalmakat, relációkat és egyéb állításokat matematikai nyelvre „fordítjuk le”, tehát a biológiai modelltől eljutunk a matematikai modellhez. Ez a lépés a legkevésbé definiált, a legkritikusabb a matematikai modellezés során. Egyaránt követel biológiai és matematikai ismereteket, ezért hatékonyságát nagy mértékben növeli, ha biológus

* A különböző modell-fogalmakkal ezen cikk keretében nem kívánunk foglalkozni.

és matematikus kutatók együttműködésének az eredménye. Sok esetben visszahat az előző lépésre: szükségessé teheti a biológiai modell módosítását.

A matematikai modellezés negyedik lépése tisztán matematikai: matematikai mennyiségekre vonatkozó definíciókból, axiómákból és tételekből különböző matematikai következtetéseket vonunk le. Ennek során a fő cél persze nem új matematikai eredmények elérése (noha gyakran erre is szükség van), hanem olyanoké, melyeket most már a biológia nyelvére „lefordítva” — ez a matematikai modellezés ötödik lépése —, minél több új információt nyerünk a vizsgált biológiai objektumról, jelenségről vagy folyamatról.

A hatodik, utolsó lépés a (biológiai) eredmények értelmezése és értékelése. Ez valamennyi korábbi lépésre visszahathat, szükségessé teheti közülük néhány vagy akár az összes módosított megismétlését. Ez a visszacsatolás alapvető fontosságú. Azt fejezi ki, hogy a matematikai modellezés folyamat: modell-sorozatok konstruálása. Egy modellt sohasem szabad véglegesnek tekinteni. Mielőtt és miközben építünk rá, törekednünk kell alapos megismerésére, állandóan kritikus szemmel kell vizsgálnunk és szükség esetén változtatnunk kell rajta. Úgy kell „... módosítani vagy átalakítani, hogy jobban kielégítse korlátozott adatainkat vagy azok szélesebb körét, és esetleg keresni kell a modell teljesen új formáit” (lásd STOFF [1973]).

A vizsgált biológiai objektum, jelenség vagy folyamat különböző matematikai modelljei meglehetősen különböző eredményeket adhatnak. Intuitív, matematikai-statisztikai vagy egyéb megfontolások alapján lehet — de természetesen nem kötelező — választani közülük (lásd MAKI és THOMPSON [1973]).

Matematikai modellek alkalmazásakor még a következő szempontokat is figyelembe kell venni:

1. Olyan modellt kell választani, amely nem túl egyszerű (hogy ne legyen irreális és a segítségével levonható következtetések ne legyenek triviálisak), de nem is túl bonyolult (hogy ne legyen kezelhetetlen), amelynek „kifizetődő” az alkalmazása olyan értelemben, hogy a modell eredményei „megérik” a tett — anyagi és szellemi — ráfordításokat.

2. A használt matematikai mennyiségeknek, formuláknak és eljárásoknak lehetőleg szemléletes jelentéssel kell bírniuk.

3. Az alkalmazott matematikai megfontolások és módszerek fő vonzereje egzaktságukban és egyértelműségükben rejlik: egy matematikai bizonyítás kitűnő eszköz arra, hogy egy biológus kutató meggyőzze magát és másokat valamely állítás érvényessége felől. Ezért egyértelműen definiáljunk fogalmakat és mondjunk ki tételeket. Mondjuk meg világosan, hogy mit bizonyítunk és mit nem. Ha bizonyítunk, azt precízen tegyük.

4. Ne akarjunk mindent bizonyítani, használjunk heurisztikus megfontolásokat is. Tartsuk szem előtt, hogy „... a valóságból sokkal több ismerhető meg, mint bizonyítható be” (lásd FEYNMAN [1966]).

5. Ne feledkezzünk meg arról, hogy bármilyen szép és hasznos is egy matematikai modell tisztán matematikailag, lehet, hogy biológiai szempontból egyáltalában nem az.

6. Matematikai modellezésnél a legfontosabb szabály, hogy nincs konkrét szabály: ahány probléma és modell, annyiféle. A matematikai modellezést csak konkrét feladatokon keresztül lehet megtanulni.

Számos olyan biológiai probléma van, amelyik a matematikai-statisztikai értékelésen túlmenően is igényel matematikai megfogalmazást és tárgyalást,

de az ismertetett matematikai modellezési eljárás során gyakorlatilag kezelhetetlen modellekre vezet. Ilyen esetekben célszerű lehet a probléma biológiai modelljének (számítógépes) szimulációja. Ez a matematika alkalmazásának harmadik fő módja (noha tulajdonképpen a matematikai modellezés speciális esete).

Determinisztikus és sztochasztikus modellek

Különböző szempontok szerint különböző modell-osztályok vannak. A matematikai modelleknek itt most csak két nagy osztályával foglalkozunk, azokkal is csak vázlatosan.

Tegyük fel, hogy az élővilág valamely objektumának, jelenségének vagy folyamatának matematikai modelljét akarjuk megkonstruálni. A vizsgált objektum, jelenség vagy folyamat általában rengeteg tényezőtől függ. Ezek a tényezők a modell szempontjából a következő típusúak lehetnek:

- i) nem ismerjük őket;
- ii) nem tudunk a tőlük való függésről;
- iii) nem ismerjük a tőlük való függés formáját;
- iv) nem vesszük explicit módon figyelembe őket (nem annyira lényegesek, mint amennyire bonyolítanak a modellt);
- v) explicit módon figyelembe vesszük őket a modellben.

Az olyan modelleket, amelyek az i—iv) típusú tényezőket teljesen figyelmen kívül hagyják, amelyekben a különböző, időben állandó, ill. változó mennyiségek egyértelműen meghatározottak (matematikai szabatsággal ezt úgy mondjuk, hogy nem ún. valószínűségi változók, ill. sztochasztikus folyamatok), determinisztikus modelleknek nevezzük. A matematikai modellek egy másik, nehezebben kezelhető nagy osztálya a sztochasztikus modellek.

„A jó sztochasztikus modell nem nyugszik bele az egyéb meghatározottságok elhanyagolásába, hanem valószínűségi változókkal (és sztochasztikus folyamatokkal) megpróbálja az elhanyagolásokat, illetve az ismeretlen összefüggéseket is figyelembe venni. A sztochasztikus modellben tehát valószínűségi változók (és sztochasztikus folyamatok) formájában megjelenik a modell véletlenje, mely nemcsak a (vizsgálat) tárgy(ának) minőségére jellemző objektív véletlent fogja tükrözni, hanem pl. oksági ismereteink hiányát, tudatlanságunkat is” (lásd GÁSPÁR, PÁLVÖLGYI és VALLÓ [1975]).

A sztochasztikus modellek fontosságát aláhúzza az a már említett tény, hogy a biológiai mennyiségeknek rendszerint lényegi tulajdonsága, hogy véletlen ingadozást mutatnak.

Konklúzió

Valamely matematikai modell jóságát alátámasztja, ha a segítségével levonható következtetések összhangban vannak konkrét objektumok, jelenségek vagy folyamatok megfigyelésének eredményével. Ugyanakkor azonban egy jó matematikai modell haszna gyakran nem csupán ez a jósló képesség, hanem az, hogy lehetőséget nyújt a vizsgált objektum, jelenség vagy folyamat mélyebb megértésére, lényegének jobb megragadására, új fogalmak bevezetésére és minőségileg új következtetésekre.

IRODALOM

1. BÁLINT A. (1974) Az öröklés- és származástan alapjai. 3., átdolg. és bőv. kiad. Mezőgazdasági Kiadó, Budapest.
2. FEYNMAN, R. P. (1966) The development of the space-time view of quantum electrodynamics. *Science*, 153, 699–708.
3. GÁSPÁR A., PÁLVÖLGYI L., VALLÓ Á. (1975) A neurokibernetika, a modellezés néhány metodológiai—filozófiai problémája. *Filozófiai Közl.* II, 145–186. ELTE TTK, Filozófiai Tanszék, Budapest.
4. ITELSZON, L. B. (1969) Matematikai és kibernetikai módszerek a pedagógiában (oroszról fordítva). Tankönyvkiadó, Budapest.
5. JOHANNSEN, W. (1909) *Elemente der exakten Erblichkeitslehre*. G. Fischer-Verlag, Jena.
6. LUGOSFALVI E. (1974) Az elméleti biológia felépítésének problémái. *Biológia*, 22, 37–52.
7. MAKI, D. P., THOMPSON, M. (1973) *Mathematical models and applications*. Prentice-Hall, Englewood Cliffs.
8. STOFF, V. (1973) *Modell és filozófia* (oroszról fordítva). Kossuth, Budapest.

MATHEMATICAL MODELS IN BIOLOGY

László Telegdi

Computer and Automation Institute, Hungarian Academy of Sciences

Although mathematical models come undisputably into general use in biology, this process is too slow. This has not only objective reasons. Mathematicians (applying in biology) and biologists (wishing to apply mathematics) alike lack a biological resp. mathematical way of thinking and readiness to cooperate. Many biologists — in consequence of various misconceptions — are averse to applying mathematics in advance. The first part of the paper deals with the reasons for rejecting this attitude.

Nowadays experimental techniques in biology are developing very quickly. An ever increasing amount of data are collected and analysed. The mathematical statistical analysis of numerical data of biological objects, phenomena or processes are carried out to an ever-growing extent. A lot of important questions arise here which may be answered more easily if we try to replace the object, phenomenon or process investigated by imagining a more simple system — a scientific model — which is in accordance with the properties of our data as well as with the result of their analysis. One of the most relevant ways of applying mathematics in biology is just the mathematical modelling, the construction, development and study of mathematical models. Subsequent parts of the paper deal with the process of mathematical modelling, with mathematical models.

The appropriateness of a mathematical model is supported by the fact that the conclusions which can be drawn with its help are in keeping with the result of the observation of real objects, phenomena or processes. At the same time, the benefit derived from a good mathematical model consists not only of this predictive capacity but also in enabling the problem under investigation to be better understood, substantial new concepts to be introduced, and qualitatively new conclusions to be drawn.

NÉHÁNY GONDOLAT A BIOLÓGIAI MODELLEZÉSRŐL

(Megjegyzések Telegdy László „Matematikai modellek a biológiában” c. dolgozatával kapcsolatban)

GÁNTI TIBOR

Agrártudományi Egyetem, Fizikai Tanszék, Gödöllő

Sokfelé lehet elmefuttatásokat olvasni a biológiai modellezéssel kapcsolatban, de ezekben rendszerint vagy a filozófiai vagy a matematikai szempontok dominálnak, s ha biológiai specifikum egyáltalán található bennük, az többnyire homályos, definiálatlan, a tiszta gondolkodás összezavarására való. Öröm tehát, hogy egy matematikus tollából elfogulatlan, tiszta logikával felépített, a biológia matematikai modellezésében a biológia és a matematika helyét és értékrendjét, fontosságát és lehetőségét egyaránt elfogulatlanul megítélő cikk lát napvilágot. Amikor mégis megjegyzéseket fűzök e cikkhez, azt nem azért teszem, mintha vitába akarnék szállni a cikk szerzőjével, ellenkezőleg, tovább szeretném boncolgatni állításait a biológia nézőpontjából, márcsak azért is, mert meggyőződésem, hogy a biológia nem nélkülözheti tovább saját alapvető biológiai modellrendszerének felállítását, enélkül belefutad adattömegének katasztrofális mennyiségű bábeli adathalmazába.

A modellezést mindjárt két nagy csoportba különíteném el, az egyik, amikor valamely konkrét jelenséget szeretnénk mennyiségileg leírni, s ehhez szükséges a megfelelő (biológiai, kémiai, fizikai stb.) modell felállítása s ennek matematikai irányba való továbbfejlesztése. A másik, amikor egy tudományág modellrendszerét, alapmodelljeit kell felállítani azzal a követelménnyel, hogy egy bonyolult, de rokonságban levő jelenségcsoport (pl. kémiai jelenségek, mechanikai jelenségek stb.) minden jelenségének leírására néhány alapmodellből és alapfogalomból kiindulva logikailag ellentmondásmentes — matematikailag tárgyalható — rendszert lehessen nyerni.

A logikai ellentmondásmentesség azonban érdekes módon csak az épületre vonatkozik, az alapokra nem, hiszen az alapfogalmaknak végtelenül letisztított, kizárólag a legalapvetőbb tulajdonságokkal bíró absztrakcióknak kell lenniök, akkor is, ha így esetleg a tapasztalattal, a józan ésszel és a logikával is éles ellentmondásba kerülnek. Nagyszerű példa erre a mechanika, amelynek legalapvetőbb fogalma, a tömegpont háromszorosan is abszurdum.

Hogy miért? Először is tartalmazza a geometria alapfogalmának az abszurditását: olyan valami, aminek egyik irányban sincs kiterjedése, kiterjedés nélküli és mégis valami. Ez a józan észnek, a valós világ tapasztalatainak és a logikának egyaránt ellentmond. Nem kisebb ellentmondás a második állítás sem, hogy ti. tömege van, noha nincs kiterjedése. Ez a második abszurdum. A harmadik pedig, hogy ehhez a ponthoz tetszőleges nagyságú tömeget rendelhetünk, annak ellenére, hogy eddig kizárólag olyan tapasztalatokkal

rendelkezünk, miszerint adott testnek adott körülmények között a tömege is meghatározott.

És mégis, ez a háromszorosan is abszurd absztrakció olyan épületnek ad alapot, mint a mechanika, amely technikai civilizációnk egyik legfontosabb pillére. Teheti pedig azért, mert matematikai, geometriai és fizikai tulajdonsággal egyaránt rendelkezik, mégpedig — és éppen ez a csodálatosan szép benne — egyetlen matematikai, egyetlen geometriai és egyetlen fizikai specifikummal. Matematikai specifikitása az egysége, hogy minden tömegpont *abszolút pontossággal* egy egész (nem úgy, mint bármilyen más a világban, ahol nincs két olyan létező, ami abszolút pontossággal megegyezne a másikkal). Geometriai specifikitása a kiterjedés nélkülisége, vagyis hogy helye egy koordináta-rendszerben *abszolút pontossággal* megadható számok segítségével (szemben minden más, kiterjedt testtel). Harmadik a fizikai, hogy tömege van, s így a tömeghez kapcsolódó fizikai tulajdonságok *abszolút pontossággal* elhelyezhetők a geometria terében és mennyiségileg leírhatók a matematika nyelvén.

Egyetlen valami (a tömegpont) azáltal, hogy három különböző tudományterülethez (a matematikához, geometriához, mechanikához) tartozó egy-egy tulajdonsággal rendelkezik, összekapcsolja e három tudomány modellrendszerét egyetlen, logikailag hibátlan rendszerbe: a mechanika tudományába. Természetesen absztrakt alapokból kiindulva bármilyen matematikai és geometriai apparátussal csak absztrakt eredményeket kaphatunk: ezek az eredmények azonban újabb abszurdításokat már nem tartalmaznak, s megfelelő módosításokkal a modellrendszer segítségével a valós világ mozgásjelenségei a szükséges pontossággal közelíthetők.

Nem szükséges és nem is lehetséges minden tudományág alapjainak a lerakásánál abszurd absztrakcióig elmenni. Amikor a kémia kifejlesztette a maga modellrendszerét és lerakta az alapjait, alapfogalmai: az atom, molekula, vegyérték absztrakciók voltak ugyan, de nem abszurdumok, nagyon is jól megegyeztek a tapasztalati adatokkal. Csak később derült ki, hogy ezek az absztrakciók valójában realitások, így a kémiai modellrendszer nem az abszurdításig, csak az atomfizikáig kell visszanyúlnon.

Az egyes különálló biológiai jelenségeket már nagyon régóta és nagyon sokféleképpen modellezték. Gyerekkorom kedvenc könyve volt Greguss Pálnak „A növények csodálatos élete” című könyve, amelynek szinte minden lapján található valami analógia vagy modell. Régi már az élő szervezetek mechanikai modellezése és a kibernetika kifejlődése óta a funkcionális, kibernetikai jellegű modellezés is, gyakran komoly matematikai apparátust véve igénybe. Ökológiai problémák megoldásában pedig a bonyolult matematikai modellek hoznak egyre több igen szép eredményt. Mindezekből azonban épp a biológiai specifikum hiányzik, az egyes problémák vizsgálatánál bármennyire is hasznosak lehetnek, alapjában véve csak a matematika fegyvertárának alkalmazását jelentik, s minőségileg nem térnek el pl. a közlekedés optimalizálásának vagy egy bonyolult fizikai rendszernek a matematikai vizsgálatától.

Ez az a pont, ahol alapvetően szeretném kiemelni Telegdi László véleményét: a biológiai modellezésnél első a jelenségekről való adatgyűjtés, második egy *biológiai modell* felállítása és csak ez után jöhet a matematikai tárgyalás. Sőt, az esetek többségében még a matematikai tárgyalás előtt egyéb tudományágak modellrendszereinek igénybevételére is szükség van, ez a vizsgálandó probléma függvényében lehet kémia, fizika, kibernetika, geometria stb., vagy ezek kombinációi.

A matematikus csak akkor tud valamit segíteni a biológusnak, ha már létezik a probléma biológiai modellje, amely modellek a mennyiségi leírását kell megadnia, azaz a biológiai problémára matematikai modellt felállítania. Egy-egy jelenségre többféle modell is felállítható, s minthogy a biológiai jelenségek gyakorlatilag végtelen sokfélesége létezik a Földön, gyakorlatilag végtelen sok olyan modell konstruálható, amely biológiai jelenség leírására alkalmas. Éppen ezért az egyes különálló biológiai jelenségek modellezésének csak akkor van értelme, ha a modelltől a gyakorlati élet számára hasznos eredményt várhatunk, vagy ha a modell valami elméletileg fontos mechanizmus működésére mutat rá, illetve elméletileg fontos kérdés eldöntésére alkalmas. Ezt nyomatékosan szeretném aláhúzni, mert az utóbbi időben világszerte divattá vált különböző biológiai jelenségeket matematikailag modellezni, sőt számítógépen szimulálni, s a modelldömping már-már elárasztással fenyeget.

Mi szükséges akkor az elméleti biológia kifejlesztéséhez, vagyis a biológiának az egzakt tudománnyá válásához, ahhoz, hogy a valós biológiai jelenségek a szükséges pontossággal mennyiségileg és minőségileg leírhatók, illetve a szükséges pontossággal közelíthetők legyenek, mint az az egzakt tudományok esetében megvalósult? Az, hogy *a biológia is rendelkezze saját, átfogó, absztrakt modellrendszerrel*, miként a kémia, mechanika, kibernetika stb., amely modellrendszer matematikailag *abszolút pontossággal* leírható legyen, amelyből *mindenféle biológiai jelenség modelltje elvben levezethető legyen*, és melynek segítségével a *valós biológiai jelenségek a szükséges mértékben közelíthetők legyenek*.

A chemoton-elmélet például igényt tart ilyen szerepre, hiszen maga a chemoton modell az elvileg legegyszerűbb élő rendszer modellje, amely minden feleslegestől megtisztítva azt a minimálrendszert mutatja, amelyik az összes alapvető, az élő rendszerekre jellemző tulajdonsággal rendelkezik. Matematikai módszerekkel abszolút pontossággal tárgyalható, segítségével a valós rendszerek működése közelíthető, elvileg a szükséges mértékben. A modellezés szempontjából nem kritériuma az elmélet jóságának, hogy kísérletileg megvalósítható legyen, hiszen például a tömegpont sem realizálható, s hogy a chemoton kísérleti megvalósítása nagyon is lehetségesnek látszik, az csak külön előny.

Egy chemoton önmagában persze még nem modellrendszer, csak modell. Az utóbbi évek eredményei azonban már modellrendszerre fejlesztették, s ha ez a modellrendszer még rendkívül távol van is a teljességtől, igen sok biológiai jelenség levezethető már belőle, kezdve az élet keletkezésétől a genetikai törvényszerűségeken, az adaptációs jelenségeken, evolutív tulajdonságon keresztül a tanuló és gondolkodó rendszerekig, s úgy tűnik megoldható lesz segítségével a törzsfajlás és egyedfejlődés egzakt modelljeinek felállítása is.

A modellezés ma a biológusok nagy része előtt idegennek tűnik, pedig egy-egy alapvető modell felállítása forradalmi fejlődést eredményez a tudományokban — ezt minden egzakt tudomány számtalan példája bizonyítja. De a biológiában is vannak kirívóan szép példák erre: a Watson—Crick-modell a biológia két részterületét: a genetikát és a molekuláris biológiát alapozta meg, a Jacob—Monod-modell a bioregulációt, noha ezek még nem is kellően matematizálható modellek. A biológia egzakttá válásához tehát szükség van egy általános biológiai modellrendszerre, amely lehetővé teszi, hogy belőle a

biológiai jelenségek egzakt módon levezethetők legyenek. Egy megfelelő ilyen modellrendszer nemcsak a matematika automatikus és természetes bekapcsolását eredményezi majd a biológiai kutatásokba, de alapvetően át fogja alakítani a biológiai szemléletmódot is, újabb robbanásszerű fejlődést iniciálva most már nemcsak a biológia egyes részterületein, hanem a biológia egészében is.

SOME COMMENTS ON BIOLOGICAL MODELLING

T. Gánti

Institute of Physics, University of Gödöllő. H-2103, Gödöllő, Hungary

Anyone of the exact sciences has its own abstract model-system which is able to describe the abstract model-phenomena quite correctly by mathematical methods both qualitatively and quantitatively and to approach the real phenomena appropriated. Biology is only a descriptive science, since it does not possess such a general model-system although its development is unimaginable without this, because of the huge quantity of detailed information. The chemoton theory may be applied to the fundamental biological model-system, its abstract model-phenomena are described by qualitative and quantitative mathematical methods and the real biological phenomena may be approached to the desired degrees. A lot of biological phenomena can be deduced from it ranging from the abiogenic formation of living systems till the principles of learning and thinking automats (brain mechanism).

K Ö N Y V I S M E R T E T É S E K

HEITFUSS R.: *Pflanzenschutz. Grundlagen der praktischen Phytomedizin* 270 oldal; 74 ábra; 23 táblázat. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1975. 18.80 DM.

Szemléletes módon tájékoztat ez a zsebkönyv a növényvédelem elméleti és gyakorlati oldalairól egyaránt. A növények gyógyítása (fitomedicina) számos vonatkozásában kapcsolatban áll a növénytermesztéssel, növények tápanyagellátási kérdéseivel, növény-nemesítéssel és agrárgazdaságtannal. Súlypontosan a kémiai növényvédőszerrel, különösen a kímiai növényvédőszerrel kerülnek meg tárgyalásra a könyvben, de szó esik a növényvédőszer üzemgazdasági vonatkozásairól, úgyszintén a növényvédelem értelmezéséről és jelentőségéről, valamint a rovarkártevők elleni védekezésről is.

A könyv az alábbi témakörökkel foglalkozik: néhány jellemző adatban a növényvédelem világ- és népgazdasági jelentőségét számszerűen tárgyalja, terméskiesés és jövedelem-alakulás szempontjából, majd foglalkozik néhány állati és növényi kártevő epidemiológiájával. Ezzel kapcsolatosan differenciál- és integrálszámításokkal illusztrálja pl. a Phytophthora epidemia alakulását eltérő rezisztenciájú burgonyafajtáknál. Példákat mutat be a prognózisra vonatkozóan számított és megfigyelt adatok összevetésével. Tárgyalja a célszerűen megválasztott vetésforgó jelentőségét különböző kórokozók csökkentésére. Pl. többek között a *Heterodera rostochinensis* = burgonya-nematoda vonatkozásában. Foglalkozik a talajművelés fontosságával e kérdésben; pl. bemutatja a szervestrágyázás hatását a *Cercospora herpotrichoides* és *Ophiobolus graminis* túlélési rátájára.

Megállapíthatjuk, hogy a könyv közérthető formában, találó és tudományosan magyarázott példákkal alátámasztva teljes képet nyújt a korszerű növényvédelem teljes problematikájáról. Ezért a munka mind az

elméleti, mind pedig a gyakorlati szakembereknek egyaránt ajánlható.

Verzártné dr. Petri Gizella

Current Topics in Microbiology and Immunology, 70, 1975. Springer-Verlag, Berlin—Heidelberg—New York.

A kötet a víruskutatás négy területén eddig elért eredményeket ismerteti. Jelentősége, hogy az adott témakörök iránt érdeklődő szakemberek összefoglalva találhatják meg az ismereteket — bőséges irodalmi adatokkal is alátámasztva.

1. BLOUGH H. A., TIFFANY J. M.: *A külső vírusburok struktúrájának és összeépülésének theoretikus szempontjai*

Szerzők összefoglalják a külső vírusburok jelentőségét, képződésének körülményeit, szerkezetét, építőköveit és a burok vizsgálatára vonatkozó lehetőségeket. Elemzik a burok-komponensek bioszintézisével kapcsolatos ismereteket — különös tekintettel a lipidekre, de tárgyalják a szénhidrátok és proteinekre vonatkozó ismereteket is, illetve a komponensek kölcsönhatását. Részleteiben ismertetik a vírusburok és a sejtthártya kapcsolatát, a burok képződésénél szerepet játszó tényezőket és a burok M proteinjének szerepét.

A gerincesek külső burokkal bíró vírusainak a felosztását, illetve reprezentánsaikat táblázatban foglalják össze. A szöveget két vázlatos ábra egészíti ki.

2. STEVENS J. G.: *Latens herpes simplex vírus és az idegrendszer*

Szerző áttekintést ad a herpeszes cutan lesiók és az idegrendszer kapcsolatára vonatkozó klinikai és experimentális ismeretek fejlődéséről a századfordulótól. Részletesen ismerteti az utóbbi években végzett kísérleteket, melyek igazolják, hogy a bőr, a

cornea vagy a nyálkahártyák herpeszes fertőzéseit gyakran a sensoros ganglionok latens fertőzése követi. A vírus az idegvégződések-től az axonok mentén centripetálisan jut el a ganglionhoz, majd innen aktiváló tényezők hatására centrifugális irányban ismét a bőr és nyálkahártya sejtekhez jut, mely területeken ismét elszaporodva okozza a recurrens lesiókat. Leírja, hogy milyen tényezők játszanak szerepet a latens fertőzés fennmaradásában és a fertőzés aktiválásában.

Olyan megfigyelések és vizsgálatok is ismertek, amelyek arra utalnak, hogy a ganglionokon kívül a központi idegrendszerben is lehet jelen latens herpeszvírus, amelynek aktiválódása encephalitishez is vezethet. További vizsgálatoknak kell eldönteni, hogy az idegrendszer krónikus, degeneratív betegségeiben vagy éppen bizonyos pszichiátriai kórképekben lehet-e szerepük latens herpeszvírusoknak.

A szöveget három ábra egészíti ki.

3. SCHAFFER P. A.: *A herpeszvírusok hőmérséklet-szenzitív mutánsai*

Szerző áttekinti a herpeszvírusok tulajdonságára, jelentőségére és elterjedtségére vonatkozó ismereteket. A herpeszvírusok replikációja, latenciája és oncogén transformatívossága még nem kellően ismert, és ezen tulajdonságok hőmérséklet-szenzitív mutánsokkal jól tanulmányozhatók. Ilyen mutációt spontán is észleltek már, de ez igen ritka, ezért mesterségesen alakítják ki különböző anyagokkal, illetve módszerekkel. A mutagén anyagokat, a kialakított vírusmutánsokat, a mutánsok tulajdonságait, szaporodásuk körülményeit és az izolálás lehetőségeit a szerző táblázatokban is összefoglalja.

A hőmérséklet-szenzitív mutánsok recombinaáció analízisével lehetővé válik a herpeszvírusok genetikai térképezése, a vírusgenom funkciójának tanulmányozása a fertőzött és transformált sejtekben. Complementációs és recombinaációs készségük alapján felhasználhatók az 1-es és 2-es típusú herpeszvírusok elkülönítésére is. Így derült ki, hogy a két vírus típus nemcsak antigén, de számos biológiai, biofizikai és biokémiai tulajdonságaiban is eltérő.

A herpeszvírusok hő-szenzitív mutánsainak a fenotípusos jellemzésére különböző paraméterek használhatók fel, így a DNS szintézis, enzim-indukciók, a vírus-specifikus polipeptidok szintézise, a mutáns-virionok thermostabilitása és a víruspartikula szintézisének fizikai vizsgálata. A dolgozat ezen lehetőségeket is részletesen ismerteti. Adatokat nyerhetünk arra vonatkozóan is, hogy a hőmérséklet-szenzitív mutánsok hogyan használhatók fel a herpeszvírus replikációjának, pathogenezésének és transformatívossága tanulmányozásában.

A szöveget több ábra és táblázat egészíti ki.

4. SCHOLTISSEK C.: *A külső burokkal bíró vírusok szaporodásának gátlása glukóz-derivátumokkal*

Több mint 15 éve észlelték először, hogy a 2-desoxi-D-glukóz az influenza B vírus szaporodását csirke embrióban képes gátolni, ha röviddel a fertőzés után alkalmazzák. Glukóz-derivátumokkal behatóbb vizsgálatokat 1972 óta végeznek, melyek során megállapítást nyert, hogy a glukózamin és a 2-desoxi-D-glukóz az influenzavírus gluko-protein szintézisét gátolja, míg a szénhidrátmentes proteinekét lényegesen nem befolyásolja. Szerző részletesen ismerteti a két glukóz-derivátum hatását, illetve hatásmechanizmusát a gátdasejtre, a különböző, külső burokkal bíró vírusok gluko-protein szintézisére, a virális RNS szintézisére, a haemagglutininnal képződésre, a haemadsorptóra és a vírusok okozta sejtfúzióra. Megállapítja, hogy a vizsgált glukóz derivátumok közül a glukózamin, az N-fluoroacetyl-glukózamin és a 2-desoxi-D-glukóz képes specifikusan interferálni bizonyos, külső burokkal bíró vírusok képződésével, aminek következménye lehet: a) Sem víruspartikula, sem fertőző vírus nem képződik. b) Víruspartikula létrejön, de ez nem fertőző, mivel incorrect gluko-proteineket tartalmaz. c) Olyan víruspartikula képződik, amely bár incorrect gluko-proteineket tartalmaz, mégis fertőző. A szöveget hat táblázat és két ábra egészíti ki.

Dr. Kulcsár Gizella

JOHN, B. and LEVINS, K. R.: *Chromosome hierarchy. An introduction to the biology of the chromosome.* Clarendon-Press, Oxford University Press; 1975. 171 oldal. Fűzve: £ 3,50; kötve: £ 7,00

Ez a nagyon érdekes felépítésű, jól szerkesztett, kellően dokumentált könyv a kromoszómák szerkezetébe és funkciójába enged bepillantást magas szinten, de közérthetően. A szerzők a kromoszómák szerkezetének tárgyalásával kezdik és a kromoszómák aktiválásával, replikációjával (mitózis, meiózis) és inaktiválásával folytatják. E fejezetben a kémiai és fizikai felépítés egyaránt szerepel és ezt a filogenetikailag különböző fajokban — példaként kiemelve — is megadják. A következő fejezet az epigenetikus aktivitással foglalkozik, magában foglalja az amplifikációt, az inaktivációt, az eliminációt és külön — bár nem túl részletesen — foglalkozik a kromoszómáknak a

sejt differenciálódásában játszott szerepével is. Ezt a kromoszómák filogenetikai funkciójával evolúciós szerepével foglalkozó fejezet követi, majd a konklúzió, mely „a kromoszóma mint genetikai mechanizmus” címet viseli.

A könyv nem kíván többet — mint címe is mutatja —, csak bevezetést adni a kromoszómák biológiájához és ennek a feladatának messzemenően eleget tesz. Nem időzik túl sokat egy-egy területnél, de adatanyagát jól válogatja össze. Külön kiemelendő az egész könyvön végigvonuló filogenetikai — evolúciós — szemlélet. A sémás ábrák kitűnőek, a táblázatok jól áttekinthetőek. A kötet feladatának megfelelően nem ad közvetlen irodalmi idézeteket, csak ajánlott irodalmat, amely lényegében korszerű. A könyvet haszonnal forgathatják a biológusok, orvosok, hallgatók és oktatók egyaránt.

Dr. Csaba György

REINBOTH, R. (szerk.): *Intersexuality in the Animal Kingdom*. Springer-Verlag, Berlin—Heidelberg—New York. 1975. 449 oldal.

A terjedelmes kötet a gerincesek és gerinctelenek körében foglalkozik az interszexualitás problémájával. A könyv rövid összefoglalását nagyon nehéz volna megadni. Maga a szerkesztő is mentegetődzik az előszóban, mondván, hogy rendkívül heterogén a kötetben foglalt anyag, lévén, hogy ez nem más, mint egy symposium előadásainak gyűjteménye. A szerzők, akik a téma legjellemzőbb ismerősei, valóban a legkülönbözőbb oldalakról közelítették meg a kérdést, és ez nemcsak az állatfajok, vagy a módszerek változatosságában mutatkozik meg, hanem abban is, hogy van, aki részletes analitikai elemzést adott egy szűk területről, míg mások elméleti kérdésekbe is alaposan belemertek. Ettől függetlenül a könyv részletes áttekintést ad az interszexualitás problémaköréből, és, ami külön előnye, a rapid publikáció következtében — a symposium 1974 júniusában volt Mainzban és 1975-ben már meg is jelent a kötet — a legfrissebb kutatásokkal találkozhat az olvasó.

A szerkesztő — nagyon helyesen — filogenetikai rendszerbe szedte az előadásokat, így az olvasó elindulhat a Coelenteráták szex meghatározásától, és eljuthat az emlősök interszexualis programozásáig. Ha közben figyelmesen olvasott, az egész interszexualitás problémakört áttekinthette. Ehhez a kitűnő ábrák és táblázatok is segítséget nyújtanak.

Dr. Csaba György

VINK: A. P. A. *Land Use in Advancing Agriculture* (Advanced Series in Agricultural Sciences 1.) Springer-Verlag, Berlin—Heidelberg—New York, 1975. 394 oldal. 115 táblázat, 94 ábra.

Vink professzor könyve egy olyan sorozat megindítója, melyről a kiadó azt írja, hogy célja a legkorszerűbb tudományos és gyakorlati eredmények összefoglalása a gyors ütemben fejlődő mezőgazdaság igényeinek kielégítése céljából. A sorozat előreláthatólag foglalkozni fog a mezőgazdasági ökológia, mezőgazdasági kémia és fizika, növénytan és növénytermesztés, állattenyésztés, élelmiszer-technológia, mezőgazdasági gépesítés stb. aktuális kérdéseivel.

A sorozat első kötete a talaj és a talajjal kapcsolatos, a mezőgazdasági termelésben fontos természeti erőforrások integrált tanulmányozását tűzi ki céljává, melyet az is lehetővé tesz, hogy a szerző évtizedek óta nemzetközileg elismert szakértője ennek a kérdésnek. A könyv hét fejezete valóban felöleli a talajok és környezeti viszonyok, a talajhasznosítás különböző típusai, a talajnak a klímával, talajvizekkel, egyéb környezeti faktorokkal való összefüggésének, valamint a talajok vizsgálatának értékelésének az egész ökoszisztémára kiterjedő módszereinek problematikáját. A záró fejezetben a szerző előretételek a kérdés várható fejlődése irányában, különösen figyelembe véve a fejlődő mezőgazdaság igényeit.

Nagy figyelmet fordít a könyv, különösen az első fejezetekben annak az új tudományágnak a pontos meghatározására és kialakulási körülményeire, melyet nem utolsósorban Vink professzor nyomán világszerte „landscape ecology”-nak neveznek.

A földkérslet használatának tárgyalásánál a bevezető fejezetben szabatos meghatározást nyert a mezőgazdaság számára használható talajok, valamint a természeti erőforrások fogalma és kapcsolata. Ugyancsak ez a fejezet foglalkozik a jelenlegi talajhasznosítással, valamint a perspektivikus talajhasznosítás lehetőségeivel. Már itt is, mint mindenütt a könyvben, szerző nagy figyelmet fordít arra, hogy a talajok és vizek hatását és tulajdonságait az élővilággal, különösen a növényekkel szoros kapcsolatba hozza, egyaránt figyelmet fordítva a természetes növényzetre, valamint a mezőgazdaságban termelt növényekre.

A talajok optimális hasznosítását célzó felvételezési és vizsgálati módszerek rövid elvi áttekintése szerepel a könyv második fejezetében, amelyben néhány egymástól különböző természeti viszonyok között levő ország tapasztalatait is ismerteti szerző. Ez a gondolatmenet folytatódik a harmadik feje-

zetben is, ahol a különböző talajhasznosítási típusokat, azok sajátosságait, infrastruktúráját tárgyalja részletekben.

A negyedik fejezet a legszélesebb értelemben vett földtartalékok kérdésével foglalkozik, és ezen belül megkülönbözteti a stabil és kevésbé stabil állapotokat, továbbá az ún. nem stabil állapotot. Részletesen foglalkozik osztályozási kérdésekkel is, felhasználva több ország, ill. nemzetközi szervezet ilyen irányú eredményeit. Ugyanebben a fejezetben szerepelnek a geológiai viszonyok, víz- és talajviszonyok kapcsolatban a földtartalékokkal és a szerző részletesen elemzi, különösen a termékenységre gyakorolt hatásukat. E fejezetben kerülnek ismertetésre: szikesedés, túlnedvesedés, eróziós és más, a termékenységre veszélyes talajtani folyamatok is.

Terjedelmében is egyik legnagyobb fejezet az ökológiai viszonyokkal foglalkozó ötödik fejezet, amelyben a talajoknak és a talajhasznosításnak az ökoszisztémában való helyzetét és ilyen irányú összefüggéseit tárgyalja a szerző. E fejezetben már túlmenően a természeti viszonyokon tervezés, közgazdasági értékelés és egyéb témák is szerepelnek.

E fejezetben foglalkozik a szerző részletesen a talaj degradációjával, az öntözés egyes kérdéseivel, éppúgy mint a talajoknak a kultúrkörnyezetben, üdülő- és pihenőhelyekre való felhasználásának lehetőségeivel.

A hatodik fejezet azokat az általános és specifikus módszereket tárgyalja, amelyek a talajok mezőgazdasági szempontból való értékelésére vonatkoznak. A szerző itt ugyancsak ötvözi a természeti viszonyokon alapuló és a közgazdasági osztályozási rendszereket. Számos nemzeti és nemzetközi tapasztalattal, példával teszi gazdagabbá ezt a fejezetet, ahol gyakorlatilag is alkalmazható semikvantitatív és kvantitatív értékelési módszereket is ismertet.

Az utolsó fejezet a tematika jövőbeni perspektíváit foglalja össze különböző fejlettségű mezőgazdasággal rendelkező, más és más természeti viszonyok közt található területek hasznosításánál.

Mint a könyv bevezetőjében szerepel, a kiadványsorozat célja, hogy azt az oktatásban éppúgy felhasználják, mint a kutatásban és gyakorlatban. Vink professzor könyve figyelemre méltó ebben a vonatkozásban és nem kétséges, hogy komoly hozzájárulást jelent nemcsak a téma eddigi eredményeinek összefoglalásához, hanem annak továbbfejlesztéséhez is.

Dr. Szabolcs István

CONRAD, M., GÜTINGER, W. and DAL CIN, M.: *Physics and Mathematics of the Nervous System*. Springer-Verlag, Berlin—Heidelberg—New York, 1974.

Az 584 oldalas kötet a kiadó „Lecture Notes in Biomathematics” elnevezésű sorozatának negyedik tagja. A triezti Nemzetközi Elméleti Fizikai Központ és a tübingeni egyetem információelméleti intézetének közös szervezésében, 1973. aug. 21 és 31 között Triestben rendezett nyári iskola 34 előadását tartalmazza. Az előadások ennek megfelelően részben bevezető ismereteket, részben eredeti eredményeket közölnek. Bár a kötet olvasása nem igényel minden helyen nagy matematikai felkészültséget, de a gondolatmenetek követéséhez széles körű tájékozottság az automata-elméletben, a differenciálegyenletek elméletében és egyéb témákban is hasznos. Ugyanez mondható a szükséges neurofiziológiai és neuroanatómiai ismeretekről is. A könyvet haszonnal forgathatják mindazok, akik az elméleti neurobiológia mai fő áramlataiban tájékozódni akarnak. A kötetet a szerkesztők 8 részre osztották. A fejezetek címei azonban egyáltalán nem jelentenek egymással össze nem függő témákat. A 8 téma az alábbi: 1. Fizika és matematika a biológiában; 2. Molekulák és az agy; 3. Sejtek és szenzoros rendszerek biofizikája; 4. Hálózatok fiziológiája; 5. Mesterséges intelligencia és természetes magatartás; 6. Molekuláris és módosítható automaták; 7. Az információelméleti megközelítés; 8. Dinamikus és kémiai rendszerek. A figyelmes olvasó e beosztásból következtethet annak nehezen elkerülhető önkényességére.

Az alábbiakban néhány érdekesebbnek vélt előadás egy-egy jellemző állításának kiemelésével tekintjük át a terjedelmes anyagot.

1. *Güttinger, W.* a „katasztrófa-geometria” fizikai és biológiai alkalmazhatóságáról ír. A szokatlanul hangzó cím mögött a rendszerek magatartásában fellépő hirtelen változásokra találok, matematikai szempontból pedig a kritikus jelenségek, szingularitások, instabilitások egységes, topológiai tárgyalhatóságának lehetőségét fejtí ki a szerző. Gazdag példatára és a szerző jó didaktikai érzéke miatt is figyelemre érdemes anyag. — 2. *Livingstone, R. B.* a fizika és matematika biológiában, speciálisan a neurobiológiában való alkalmazhatóságának korlátairól elmélkedik. Egyet lehet érteni azzal a megállapításával, melynek a szerző nem egyedüli hangoztatója, hogy e tudományágak kölcsönhatásában a matematika és fizika nemcsak a „donor”, hanem a „recipiens” szerepét is játssza, azaz új matematika és új fizika (pontosabban szólva ezeknek új ágai)

kell hogy kialakuljon. — 3. *E. Conrad* a központi idegrendszer információ-kezelésében szerepet játszó molekuláris folyamatokról fejti ki érdekes gondolatait. Egyik modellje lényegében szekvenciális, molekuláris automata. Másik témaköre: molekulárisan tárolt adatok struktúrájának kérdése. Számos érdekes megállapítása ellenére érződik az emlékezet molekuláris hátterére vonatkozó kísérletes tényanyag pillanatnyilag bizonytalan volta. — 4. *Pattee, H. H.* a jól ismert „diszkrét vagy folytonos modellek írják le megfelelően az agyműködést” problémát elemzi. Hasonlóan, újra felveti a régi kérdést: „szekvenciális” vagy „paralel” számítás jellemzi-e az agyműködést. Utóbbi nem tartja alapvető problémának. Fő kérdésére, hogyan lehet a mai számítógépeknél „intelligensebb” eszközöket tervezni, melyek egyúttal a gyakorlatban is kivitelezhetőek, adós marad a válaszzal. — 5. *Fatt, P.* a szinaptikus potenciálokra vonatkozó korszerű kísérletes adatok kitűnő, rövid összefoglalását adja. — 6. *Falk, G.* és *Fatt, P.* előadásában igen érdekes adatokat és fejtegetést találhatunk az egy, ill. néhány fotonra érzékeny, élő látórendszer retinális folyamatairól. A szerző bizonyos retinális elemek nem-szokványos (nem spike-kisüléssel járó) ingerületi folyamataira vonatkozó elektrofiziológiai mérési eredmények és a pszichofizikai kísérletekre alapozott „egy-foton-érzékenység” között próbálja szűkíteni a meglévő szakadékot, bár bevallottan korlátozott sikerrel. — 7. *Barlow, H. H.* ugyan csak a látórendszer érzékenységének témakörében mint legfontosabb állítást, azt hangsúlyozza, hogy szemben az idegrendszer számos neuronjának „nem megbízható” választulajdonságaival, a retina ganglionsejtjei magas megbízhatósági fokkal működő egységek. — 8. *Roederer, J., G.* a hallórendszer működésének korszerű, bevezető ismertetését adja elő helyenkint érdekesítően. — 9. és 10. *Legédy C., R.* és *Braitenberg, V.* az agyi „objektum-reprezentáció” kérdését vizsgálják. Legédy élesen veti fel a kérdést: képesek-e egyes neuronok „objektumokra” specifikus módon válaszolni? Véleménye szerint az agy általában nem genetikusan tervezett huzalozásában vannak genetikusan determinált huzalozások és „object-responsive” neuronok is. Braitenberg érdeme, hogy megkísérli az „objektum” egyébként homályos fogalmát legalábbis definiálni, majd ennek alapján veti fel a kérdést, mit is reprezentálnak az egyes neuronok az agy valamely részében, pl. a cortexben. 11. *Bremermann, H.* az automaták, a magatartás „komplexitásának” problematikáját adja elő, visszavezetvén ezeket az „aritmetikai”

és „tabuláris” komplexitás kialakultabb fogalmaira. — 12. *Rössler, O. E.* egy absztrakt organizmus absztrakt környezetben történő „adekvát lokomóciós stratégiáival” foglalkozik. Egyszerűsítései ellenére az általa elemzett 6 stratégia között vannak olyanok, amelyek pl. rovarok vagy gerincesek bizonyos „motivált” magatartásaira emlékeztetnek. — 13. *Merzenich, W.* a sejt-automaták Neumann J.-tól származó elméletébe vezet be. — 14. *Vollmar, R.* bizonyos tekintetben hibásan működő Turing-gépek tulajdonságait írja le. Modellje nem tekintendő valamilyen „sztochasztikus Turing-gépnek”, mert a gép „hibái” előírt módon jönnek létre. — 15. *Rössler, O. E.* és *Conrad, M.* a kémiai, ill. molekuláris automaták különböző típusainak elméletébe vezetik be az olvasót. Modelljeiknek a morfogenezisben, ill. a memória-jelenségek interpretálásában tulajdonítanak jelentőséget. — 16. *Dilger, E.* a Neumann János által 1956-ban felvetett probléma, — „megbízható számítás megbízhatatlan elemekkel” — témakörét ismerteti. — 17. *Dal Cin, M.* a módosítható, időben változó automaták egy típusát tárgyalja. A tanulás és hibajavító-mechanismusok elmélete iránt érdeklődők számára ajánlott, alaposan megírt de nem könnyű olvasmány. 18—20. A kötet „információ-elméleti oldalról közelítő” előadásai (*Barlow, Pfaffelhuber* és *Heim* írásai a kötet 7. fejezetében) matematikai szempontból korszerűen és pontosan ismertetik a kérdélemélet, a tanulás statisztikai elméletének stb. egy-egy kérdéskörét, de — valószínűleg a megközelítés jellegéből kifolyólag — kevés, a neurobiológus számára értékesíthető gondolatot nyújtanak. — 21. A kötet utolsó fejezetének előadásaira, hasonlóan az előző fejezetekhez, a neurobiológiával való kapcsolatuk közvetettsége jellemző, mert témáik a biokémiai kinetika, kémiai kinetikai modellek, enzimreakciók területét érintik. Amit a neurofiziológus hasznosíthat, az inkább metodikai jellegű: a szingularitások elmélete, a stabilitás-elmélet, a közönséges és parciális differenciálegyenletek elméletének egy-egy módszerét láthatjuk „munka közben”, azaz konkrét alkalmazásban.

A konferencia zárószavában *Taylor, J. G.* nem túlságosan derűlátó. Az elért eredmények elégtelenségének fő okai szerinte az alkalmas matematikai diszciplínák kialakulatlanóságában és az adatok (tények) elhanyagolásában keresendők. Taylornak ehhez az észrevételéhez az olvasó bizonyára újabbakat tud majd hozzátenni.

Dr. Lábos Elemér

MAGYAR
TUDOMÁNYOS AKADÉMIA
KÖNYVTÁRA

A kiadásért felel az Akadémiai Kiadó igazgatója

Műszaki szerkesztő: Agócs András

A kézirat nyomdába érkezett: 1976. VI. 25. — Terjedelem: 7 (A/5) fv

77.3312 Akadémiai Nyomda, Budapest — Felelős vezető: Bernát György

TARTALOM

GÁNTI T., BÉKÉS F. és NAGY Á.: A chemotonok evolúcióképességének és stabilitásának számítógépes vizsgálata.....	3
STARK E., KÁRTESZI M., GYÉVAI A. és BUKULYA B.: Az ACTH elválasztás radioimmunológiai és immunhisztokémiai vizsgálata dexamethasonnal kezelt patkány hypophysis tenyészetekben.	9
FAZEKAS I., RAPPAY GY., BUKULYA B., STARK E. és GÁCS G.: Emberi magzati hipofízis sejtenyészetek növekedése, finomszerkezete és STH termelése.....	19
U. NAGY Zs. és CSABA GY.: TSH és melatonin együttműködése patkány pajzsmirigy jó d turnoverének szabályozásában.	27
RICHTER T., ZALATNAY A. és CSABA GY.: A hízósejtek részvétele a pajzsmirigy melatonin és szerotonin antagonizmus által történő szabályozásában.	31
KOVÁCS P.: A hízósejtkimutatás hisztokémiai lehetőségeinek kritikai elemzése.....	35
ELEKES K., HIRIPI L., S.-RÓZSA K. és NEMCSÓK J.: Biogén monoaminok szubcelluláris lokalizációjának vizsgálata sűrűség gradiens centrifugálási módszer segítségével éticsiga (<i>Helix pomatia</i> L.) központi idegrendszerében és szívében.	45
REX-KISS B. és SZABÓ L.: Adatok az ahaptoglobinaemia (hypohaptoglobinaemia) előfordulásához és keletkezéséhez.	53

Vitarovat

TELEGDI L.: Matematikai modellek a biológiában.	63
GÁNTI T.: Néhány gondolat a biológiai modellezésről.....	69

Könyvismertetések

HEITEFUSS, R.: Pflanzenschutz (<i>Verzárné dr. Petri G.</i>)	73
Current Topics in Microbiology and Immunology, 70, 1975 (<i>Dr. Kulcsár G.</i>)	73
JOHN, B. and LEVIS, K. R.: Chromosome hierarchy. (<i>Dr. Csaba Gy.</i>)	74
REINBOTH, R. (szerk.): Intersexuality in the Animal Kingdom. (<i>Dr. Csaba Gy.</i>).....	75
VINK, A. P. A.: Land Use in Advancing Agriculture. (<i>Dr. Szabolcs I.</i>)	75
CONRAD, M., GÜTTINGER, W. and DAL CIN, M.: Physics and Mathematics of the Nervous System. (<i>Dr. Lábos E.</i>)	76

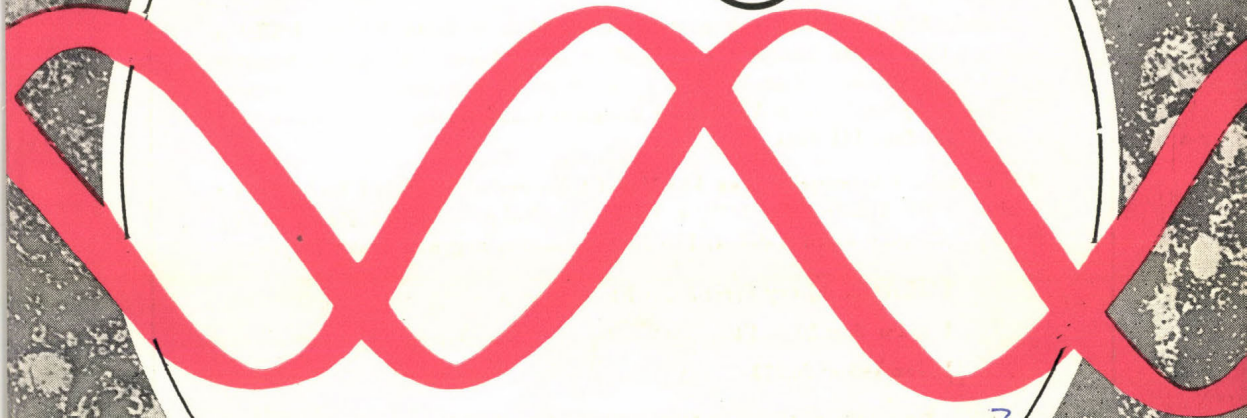
INDEX

GÁNTI, T., BÉKÉS, F. and NAGY, A.: A computer study on the stability and evolution of chemotons.	3
STARK, E., KÁRTESZI, M., GYÉVAY, A. and BUKULYA, B.: Radioimmunological and immunohistochemical study of the effect of dexamethasone on the basic ACTH release in rat hypophysis cultures.	9
FAZEKAS, I., RAPPAY, GY., BUKULYA, B., STARK, E. and GÁCS, G.: Growth, fine structure and STH production of human foetal hypophyseal cell cultures.	19
U. NAGY, Zs. and CSABA, GY.: TSH and melatonin collaboration in the regulation of iodine turnover in the rat thyroid.	27
RICHTER, T., ZALATNAY, A. and CSABA, GY.: Participation of mast cells in the regulation of the thyroid by the antagonism of melatonin and serotonin.	31
KOVÁCS, P.: Critical analysis of histochemical possibilities for detecting mast cells. ...	35
ELEKES, K., HIRIPI, L. K., RÓZSA, S. and NEMCSÓK, J.: Investigation of subcellular localization of biogenic monoamines with density gradient centrifugation method in the central nervous system and the heart of the snail (<i>Helix pomatia</i> L.).	45
REX-KISS, B. and SZABÓ, L.: Data on the occurrence and formation of ahaptoglobinaemia (hypohaptoglobinaemia).	53
 Free discussion	
TELEGDI, L.: Mathematical models in biology.	63
GÁNTI, T.: Some comments on biological modelling.	69

304.441

VI
11

biológia



24, 1976/2

AKADÉMIAI KIADÓ, BUDAPEST

2

SZERZŐINK SZÍVES FIGYELMÉBE:

1974-től a BIOLÓGIA (korábban: *Biológiai Közlemények*) tartalmilag és technikailag korszerűsített alakban jelenik meg. Kötetszámozása folyamatos (1974: 22. kötet), évente 2 füzetet tartalmaz. Elsősorban az *elméleti és molekuláris biológia, a sejttan, örökléstan, kísérletes onto- és filogenetika* tárgyköréből közöl cikkeket.

A dolgozatok következő típusait részesítjük előnyben:

1. *teoretikus* cikkek;
2. a molekuláris biológia valamely részterületének legújabb irodalmát összegező (*review*) munkák;
3. az adott formában másutt nem publikált eredeti *kísérleti* beszámolók.

A lap ezenkívül vitákat indító, vagy azokhoz hozzászóló cikkeket, *könyvismertetéseket* és *kongresszusi beszámolókat* is közöl.

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.*

Szerzőinket az Akadémiai Kiadó által szabályozott ívhonorárium illeti meg a beküldött cikkekért, és — amennyiben előzetesen nem rendelkeznek másként — térítés ellenében 100—100 különnyomatot bocsátunk rendelkezésükre.

Terjeszti a Magyar Posta

Előfizethető a hírlapkézbesítő postahivataloknál és a Posta Központi Hírlap Irodánál (KHI 1900 Budapest V., József nádor tér 1.) közvetlenül, vagy postautalványon, valamint átutalással a KHI 215-96162 pénzforgalmi jelzőszámra. Előfizetés bejelenthető az Akadémiai Kiadónál (1363 Budapest V., Alkotmány utca 21. Telefon: 111-010).

Példányonként beszerezhető: az Akadémiai Könyvesboltban; (1368 Budapest V., Váci utca 22. Telefon: 185-881), a KHI Hírlapboltjában (1055 Budapest V., Bajcsy-Zsilinszky út 76. Telefon: 116-269) és minden nagyobb árusítóhelyen.

Előfizetési díj egy évre: 30,— Ft

1 szám ára: 20,— Ft

Index szám: 26.073

Külföldön terjeszti a KULTURA Külkereskedelmi Vállalat,
H-1389 Budapest, Pf. 149.

BIOLÓGIA

ELMÉLETI ÉS KÍSÉRLETI BIOLÓGIAI
FOLYÓIRAT

Főszerkesztő:

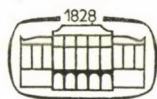
CSABA GYÖRGY

Szerkesztő bizottság:

CSÁNYI VILMOS
GUBA FERENC
KISZELY GYÖRGY
TÖRÖK LÁSZLÓ
VIDA GÁBOR

Szerkesztő:

BALÁZS ANDRÁS



AKADÉMIAI KIADÓ, BUDAPEST

MAGYAR
TUDOMÁNYOS AKADEMIÁ
KÖNYVTÁRA

A TERMÉSZETES POLIAMINOK BIOLÓGIÁJA

MENYHÁRT JÁNOS, GRÓF JÓZSEF
 Semmelweis Orvostudományi Egyetem
 Urológiai Klinika, MTA Kutató Laboratórium

Beérkezett: 1976. június 21-én

Kulcsszavak: sejtanyagcsere, poliamin, proliferáció, enzimaktivitás, szabályzás

1. Bevezetés

300 éves irodalmi adatok feltehetően (88,159), 100 évesek pedig biztosan (137) a különféle biológiai anyagok olyan összetevőiről emlékeznek már meg amelyek mai némenklatúrával poliaminoknak nevezhetők. E vegyület-család egyes tagjai nevüket is közel 100 éve kapták (137). Mindezek ellenére, a poliaminok anyagcserejére és biológiai szerepére irányuló érdeklődés kezdete csak jóval újabbkeletű és mindössze alig tekint 10 évre vissza. Erre az utolsó 10 évre esnek ugyanis azok a megfigyelések, amelyek felvetették, majd egyre erősítették a gyanút, hogy a poliaminok esszenciális szerepet játszanak a sejt-anyagcsere szabályozásában.

A poliaminok sejtbiológiai szerepét feltételező kísérleti adatok számának újabbkori, már már riasztó növekedésével szemben zavaró ellenpólust képez az a tény, hogy e vegyületek fiziológiai szerepére vonatkozó ismereteink ma még gyermekcipőben járnak. Ezzel összhangban a poliaminok biológiai jelentőségét támogató mai bizonyítékaink is csak elvétve haladják meg a „post hoc ergo propter hoc” típusú, kielégítőnek semmiképpen nem mondható érvelés szintjét.

2. A poliaminok anyagcsereje

2.1. A természetes poliaminok némenklatúrája: A természetes poliaminok szubsztituált alifás szénláncú vegyületek, ún. polibázikus aminok és mint ilyenek, organikus polikationoknak tekinthetők. Ez utóbbinak a hatásmechanizmus értelmezésében van figyelemre méltó jelentősége. A különféle élő organizmusokban előforduló, legismertebb természetes poliaminok a következők:

Képlet	Kémiai elnevezés	Közönséges név
1. $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$	1,3-diaminopropán	—
2. $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_4\text{NH}_2$	1,4-diaminobután	putrescín ⁺
3. $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_5\text{NH}_2$	1,5-diaminopentán	cadaverin
4. $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_4\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$	N ¹ propilamino-1,4-diaminobután	spermidin ⁺
5. $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_4\text{NH}(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2$	N ¹ N ⁴ propilamino-1,4-diaminobután	spermin ⁺
6. $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_4\text{NH}(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$	—	putreanin
7. $\text{HOOC}(\text{CH}_2)_2\text{NH}(\text{CH}_2)\text{NH}(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$	—	spermin-sav

Egyes poliaminok elnevezése (putrescin, cadaverin) azt a nem rég múltat idézi amikor ezeket a vegyületeket fölbomló szervezetekben keletkező, bakteriális bomlástermékeknek „hullamérgeknek” (ptomainok!) tekintették. Másoké (spermin, spermidin) az ondófolydékban való előfordulásukra utal. Van biokémiai tankönyv (163), amely ma is mint a fehérvék bomlástermékeit ismerteti ezt a vegyületesoportot.

Ezzel szemben ma már teljesen egyértelmű, hogy a poliaminok az élő organizmusokban található, önálló anyagcserével rendelkező és a sejt életfolyamatai szabályozásában valószínűleg fontos szerepet játszó anyagok. Előfordulásuk ubiquiter. Nemesak abban az értelemben, hogy a filogenezis különböző fokán álló, állati és növényi organizmusokban egyaránt előfordulnak, hanem abban is, hogy egyes organizmusokon belül, azok majdnem valamennyi szövetségében, sejtjében megtalálhatók.

Az állati szervezetekben csaknem kizárólagosan három poliamin feleség fordul elő: az aránylag nagy mennyiségben jelenlevő spermidin és spermin mellett, jóval kisebb mennyiségben található a putrescin. A képletekből leolvasható, hogy az 1–3 vegyületek tulajdonképpen diaminok. Konvencionálisan ezeket a vegyületeket is a poliaminok családjába sorolják. A cadaverin a lizin dekarboxilációs terméke. Mennyisége és jelentősége az állati szervezetekben, mai ismereteink szerint elhanyagolható. A putreanint és a spermin-savat újabban izolálták emlősök központi idegrendszeréből (64, 73). Valószínűleg a spermidin és a spermin metabolitjai.

2.2. A poliaminok intracelluláris (i. c.) lokalizációja.: A poliaminok i. c. lokalizációjának pontos ismerete segítséget nyújthatna biológiai szerepük tisztázásában. Az i. c. lokalizáció pontos föltérképezésének azonban súlyos metodikai nehézségei vannak. Ez mindenek előtt azzal áll kapcsolatban, hogy a poliaminok mint organikus polikationok erős affinitással rendelkeznek polianionokkal szemben. Ezért a konvencionálisan használt sejt- és szövet szeparációs eljárások (ultracentrifuga) során a poliaminok szekunder redisztribúciója következhet be: más anionos természetű anyagokkal lépnek kapcsolatba mint amilyenekhez eredetileg in vivo körülmények között kötve voltak. Nem vizes médiumban végzett szeparáció csökkentheti a szekunder redisztribúció lehetőségét. Ilyen médium használata mellett Stevens (148) nem talált különbséget borjú timusz- és májsejtekben a poliaminok intra- és extranukleáris megoszlásában. Ez ellentmond annak a régebben hangoztatott véleménynek, hogy a poliaminok preferenciálisan a DNS-hez kötődnének.

2.3. A poliaminok bioszintézise.: Az állati szervezetekben legelterjedtebb három poliamin a putrescin, a spermidin és spermin bioszintézise az alábbiak szerint megy végbe (l. 1. ábra).

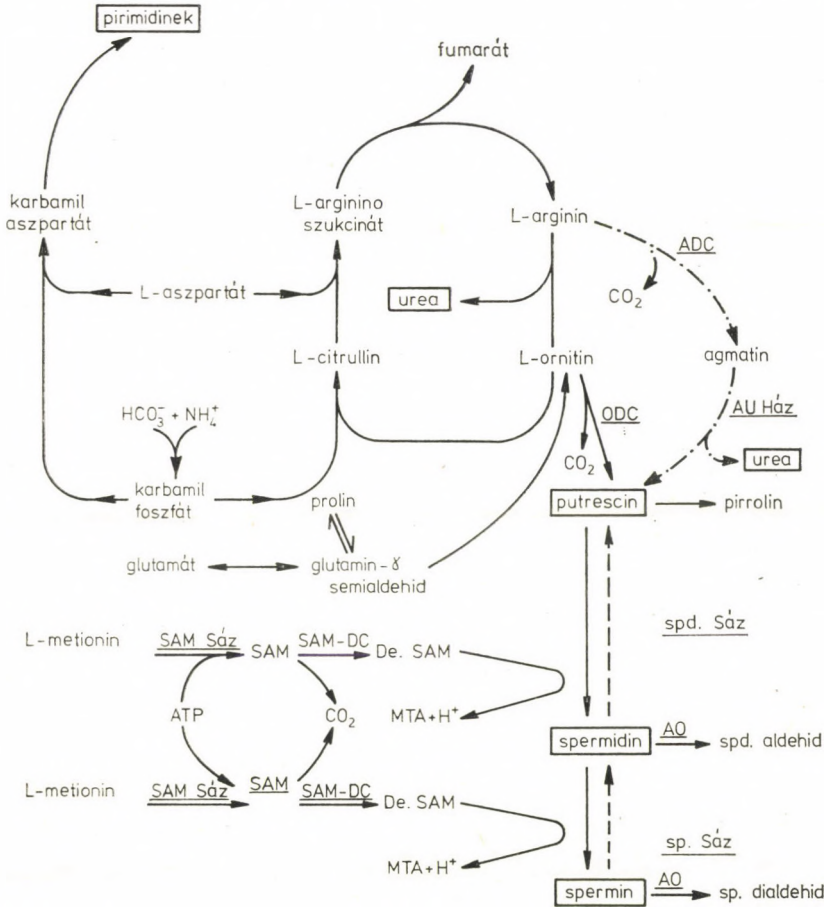
Amint az 1. ábrából látható, az ornitin ciklus (ureakör) — azon túlmenően, hogy résztvesz az urea valamint a pirimidinek szintézisében — központi szerepet játszik a poliaminok bioszintézisében is. A túlnyomórészben az ornitin cikluson belül képződő l-ornitin molekula ugyanis szubsztrátuma a putrescin képződését katalizáló enzimnek s a képződő putrescinen keresztül kiinduló anyaga a spermidinnek és sperminnek is.

Amíg állati szervezetekben a putrescin kizárólagosan az l-ornitin molekula dekarboxilációjával szintetizálódik, addig baktériumokban (pl. *E. coli*) argininből két lépésben történő putrescin szintézis is ismeretes. Ilyenkor első lépésként az arginin dekarboxilálódik (arginin-dekarboxiláz) majd a dekar-

boxilált argininből az ún. agmatinból, urea lehasítása mellett az agmatin-ureidohidroláz putrescint képez.

Az alábbiakban az állati szervezetekben végbemenő poliamin bioszintézis egyes lépéseit és az azokat katalizáló enzimeket ismertetjük.

a) *Ornitin-dekarboxiláz = ODC* (L-ornitin-carboxi-liáz; EC 4.1.1.17). Szolubilis, citoplazmatikus lokalizációjú enzim, amely az ornitin dekarboxi-



I. ábra. A poliaminok bioszintézisében és lebontásában résztvevő — és kapcsolódó — anyagcsere utak és enzimek. — állati szervezetekben; - - - - baktériumokban lejátszódó reakciók; kérdésem anyagcsere utak. A bekeretezett vegyületek végtermékek. A rövidítések jegyzékében az enzimek aláhúzva szerepelnek.

Rövidítések:

ADC = arginindekarboxiláz; *AO* = aminoxidáz; *AUHáz* = agmatinureidohidroláz; *De-SAM* = dekarboxilált S-adenosilmethionin; *MTA* = metiltioadenozin; *ODC* = ornitindekarboxiláz; *SAM* = S-adenosilmethionin; *SAM-DC* = S-adenosilmethionindekarboxiláz; *SAM Sáz* = S-adenosilmethioninszintetáz; *spd. Sáz* = spermidin szintetáz; *sp. Sáz* = spermin szintetáz

Fig. 1.: Metabolic pathways and enzymes connected to biosynthesis and decomposition of polyamines. — in animal organisms; - - - - reactions in bacteria; metabolic pathways presumed. Framed compounds are end products. In list of abbreviations enzymes are cursive.

lálásával a putrescin képződését katalizálja. A legtöbb dekarboxilázhoz hasonlóan az ODC is piridoxál-foszfát igényes enzim. Molsúlya kb. 70 000. Emlős szervezetekből származó ODC tiolokat is igényel működéséhez. Ezek nélkül az enzim-fehérje, enzimatikusan hatástalan molekulává polimerizál. Az enzim kifejezett szubsztrát specificitást mutat l-ornitinnel szemben.

Az ODC, más emlős szervezetekből származó enzimektől eltérő, egyedülálló tulajdonsága extrém rövid biológiai felezési ideje ($T_{1/2}$): 10–20 perc (46,132). A rövid $T_{1/2}$ az enzimaktivitás szabályozásának döntő tényezője, mivel az aktivitás-szabályozás elsősorban az enzim szintézis és/vagy degradáció rendkívül gyors fluktuálásán keresztül történik. Az enzimaktivitás növekedése mindenkor de novo enzim-fehérje szintézis alapján valósul meg (a fehérje és RNS szintézis inhibitorai jelenlétében elmarad a stimuláló tényezők hatására egyébként jelentkező enzimaktivitás növekedés).

A szabályozás másik fontos tényezője a putrescin és a spermidin koncentráció. Mindkét anyag, koncentrációjától függő mértékben képes megelőzni a különféle stimulusok által kiváltott enzimaktivitás növekedést. Egyes adatok szerint a putrescin és a spermidin ilyen hatása részben post-transzkripcionális szinten érvényesül.

b) *S-adenozil-l-metionin dekarboxiláz = SAM-DC* (s-adenozil-l-methionin karboxi-liáz; EC 4.1.1.50) szintén szolubilis, citoplazmatikus lokalizációjú enzim, amely az s-adenozil-l-metionint (SAM) dekarboxilálja dekarboxilált s-adenozil-metioninná (de SAM, másnéven s-metiladenozilhomociszteamin). Nem régen még úgy vélték, hogy a spermidin és a spermin szintézisét is ez az enzim katalizálja. Később azonban sikerült a SAM-DC aktivitással rendelkező fehérjét elkülöníteni a spermidin és a spermin szintézisét katalizáló fehérjéktől (45, 71). Az enzim molsúlya 68 000 körül van, aktivitásához karbonil csoport jelenléte szükséges, de a csoport pontos természete még tisztázatlan. Nagyon valószínű az enzim piridoxál-foszfát igénye is.

Az enzimaktivitás szabályozásában van jelentősége annak a megfigyelésnek, hogy a putrescin nagyon kifejezetten, a spermidin, cadaverin és diaminopropán (I. I. táblázat) pedig kisebb mértékben stimulálni képes az enzim aktivitását.

A poliáminok feltételezett molekuláris hatásai

Hatás	Irodalmi hivatkozás
a) <i>Hatás a nukleinsavakra</i>	
1. stabilizáló hatás	34, 38, 72, 80, 99, 100, 152, 153
2. DNS szintézis stimulálás	18, 26, 164
3. RNS szintézis stimulálás	2, 19, 32, 100, 102, 108, 115, 123, 148
4. tRNS metilációt fokozó hatás	85, 86
5. tRNS aminoacilációt fokozó hatás	2, 5, 19, 59
b) <i>Hatás a riboszómákra</i>	
1. stabilizáló hatás	21, 78
c) <i>Hatás a fehérjeanyagcserére</i>	
1. fehérje-szintézis stimulálás	17, 37, 53, 61, 108, 171
2. nem-hisztón nukleáris fehérje foszforiláció stimulálás	63

A putrescin stimuláló hatása az eukariota sejtekből származó SAM-DC-ra egyértelmű. Egyes prokariótákból (*E. coli*) izolált enzim putrescinre érzéketlen és egyértelműen Mg^{2+} igényes. További különbség az eukariótákból és prokariótákból származó enzimek között abban mutatkozik, hogy az eukariótákból származó enzim deSAM-al sokkal erőteljesebben gátlható, mint a prokariótákból származó.

Eukarióták össz SAM-DC aktivitása lényegesen alatta marad a spermidin-szintáz (l. később) össz aktivitásának. A spermidin szintézis ráta-limitáló lépése tehát valószínűleg a SAM-DC által katalizált lépés. Ebből viszont az következik, hogy — ismerve a putrescinnek a SAM-DC-ra kifejtett hatását (l. fentebb) — a spermidin szintézis főleg, ha nem kizárólagosan a celluláris putrescin szint kontrollja alatt áll.

Megjegyzendő, hogy az emlős SAM-DC $T_{1/2}$ -je is meglehetősen rövid: 20–60 perc (134).

c) *Spermidin-szintáz* = *spd-Sáz* (s-metiladenozilhomociszteamin: putrescin aminopropil transzferáz; EC 2.5.1.16) a de-SAM propilamino csoportját viszi át putrescinre, miközben spermidin, metiltioadenozin (MTA) és egy proton képződik (l. 1. ábra). Az enzim közelebbi jellemzése még nem történt meg. Molsúlya kb. azonos a SAM-DC molsúlyával. Kofaktor szükséglete ismeretlen. Szemben a fent említett két enzimmel a *spd-Sáz* $T_{1/2}$ -je hosszú, több órára tehető.

d) *Spermin-szintáz* = *sp-Sáz* (s-metilhomociszteamin: spermidin aminopropil transzferáz). Ugyanazt a reakciót ugyanúgy katalizálja mint a *spd-Sáz*, azzal a különbséggel, hogy ebben az esetben a propilamin csoport akceptor a spermidin és így a reakció végtermékeként spermin képződik (l. 1. ábra). Az enzim tulajdonságait részleteiben még nem ismerjük.

A poliaminok bioszintézisében résztvevő enzimek néhány közös tulajdonsággal rendelkeznek: a) molsúlyuk közel azonos (kb. 70 000) b) mind a négy enzim enyhén savanyú jellegű fehérje molekula c) a dekarboxilázok (ODC, SAM-DC) $T_{1/2}$ -je rövid, a transzferázoké (*spd-Sáz*, *sp-Sáz*) viszont hosszú d) a putrescin vagy szubsztrátumként szerepel vagy befolyásolja a reakciók rátáját.

A putrescin központi szerepét a poliamin anyagcserében a következő funkciói húzzák alá. A putrescin a) terméke és gyenge végtermék gátlója az ODC katalizálta reakciónak; b) a SAM-DC (valószínűleg alloszterikus) aktivátora; c) a *spd-Sáz* által katalizált reakció egyik szubsztrátja (l. 1. ábra) d) a spermidin kompetitív inhibitora a *sp-Sáz* reakcióban; e) feltehetően represszora vagy korepresszora az ODC szintézisnek.

2.4. *A poliaminok biodegradációja.* Aránylag keveset tudunk a poliaminok sorsáról — katabolizmusokról, kiválasztásokról az állati szervezetekben. Patkányoknak i. v. adagolt putrescin kb. 1/3 része és a spermidin valamint spermin jóval kisebb hányada, 2 órán belül jelzett CO_2 formájában a kilégzett levegővel távozik. Nyommennyiségben történő adagolás után a vizeletben nem jelenik meg szabad poliamin. Ezzel szemben jelzett spermidin és spermin adagolását követően a vizeletben olyan kiválasztási termékek találhatók, amelyekről hidrolízis hatására szabad poliaminok hasadnak le.

A poliaminok biodegradációjában résztvevő enzimek és anyagcsereutak javarésze mindmáig ismeretlen. Számos adat ismeretes azonban, amely szerint amino-oxidázok (mono- és diamino-oxidázok) valamint az ún. spermin-oxidáz szubsztrátként poliaminokat is felhasználhatnak.

a) *Diamino-oxidáz* (amino: oxigén oxido-reduktáz; EC 1.4.3.6.) nemcsak a hisztamin és a cadaverin oxidatív dezaminálását katalizálja, hanem — emlős szövetekben — a putrescint is (8, 74). A diamino-oxidázok azonban a legtöbb emlősben csak szórványosan, azok nem minden szövetében fordulnak elő (pl. patkány májban és vesében gyakorlatilag nincs). A diamino-oxidáz szerepe a putrescin anyagcserében nyitott és erősen vitatott kérdés, a spermidin és spermin anyagcserében játszott szerepük vizsgálata pedig nagyon hiányos. Újabb adatok szerint emberi ondófolysadék magas diamino-oxidáz aktivitással rendelkezik (66). Ennek hatására a spermidinből és sperminből, oxidatív úton labilis imino-aldehidek keletkeznek (56).

b) *Spermin oxidáz*; Kérdőzók vérében mutatták ki. A hosszabb szénláncú poliaminokat (spermidint és spermint is) oxidálja. A spermidin oxidáció terméke iminomonaldehid, a sperminé iminodialdehid. Az iminoaldehidek azért érdemelnek figyelmet, mert különböző állati és tumor-sejteken rendkívül toxikusnak bizonyultak (2).

2.5. *A poliaminok interkonverziója*. Radioaktív spermin adagolás után jelzett spermidin jelenik meg a patkány szöveiteiben (141). Hasonló megfigyelést tettek Ehrlich ascites sejteken is (142). Speciális in vivo körülmények között az exogén eredetű spermidin putrescinné alakulhat (58, 141). Sejtmentes rendszerekben azonban ilyenfajta interkonverziókat valamint a reakciókat katalizáló enzimeket nem sikerült kimutatni.

2.6. *A poliamin szintézis hormonális szabályozása*. A poliamin anyagcsere — a bioszintézis, a szöveti szint stb. — erőteljes hormonális szabályozásnak van alávetve.

a) *Növekedési hormon = NH*. Hipofizektomizált patkányokon a máj-szövet spermidin koncentrációja erőteljesen csökken. Az állapot NH kezeléssel normalizálható (81). Az NH hatás hátterében az ODC aktivitás hatalmas mértékű fokozódása húzódik meg (68, 70, 113). A fokozott ODC aktivitás eredményeként úgy a májban mint a vesében putrescin akkumulálódik és ez vezet a spermidin szintézis fokozódásához és a következményes spermidin akkumulációhoz.

b) *Adrenokortikotrop hormon = ACTH*. Az ACTH gyorsan és erőteljesen stimulálja a mellékvesekéreg ODC aktivitását (124). A célszerven kívül azonban a máj és a vese ODC aktivitása is fokozódik. A mellékvesére irányuló hatás az ACTH molekula steroidogén részletével (1–24 peptid) is kiváltható (87).

c) *Gonadotrop hormon*. A poliamin anyagcsere hormonális kontrollja egyik legjobb példája a petefészek ODC aktivitásának az ösztroz ciklustól függő ingadozása (79). Patkány ovarium ODC aktivitása a késői pro-ösztrozban — az ovuláció időpontjában — meredeken emelkedik. Az ovarialis ODC aktivitás fokozódás luteinizáló hormon (LH) vagy humán koriogonadotrop (HCG) hatására is bekövetkezik. Patkányok késői pro-ösztrozában mutatózó ovarialis ODC aktivitás fokozódás előzetes anti LH adagolással kivédhető (79).

A poliamin anyagcsere jellegzetes változásai figyelhetők meg a patkányherében is a spermatogenezis folyamán (92). Ez arra mutat, hogy a poliamin anyagcsere a hereszövetben a hipofízis mellső lebeny gonadotrop hormonjának ellenőrzése alatt áll.

d) *Glukokortikoidok*. A NH mellett (68) a glukokortikoidok is stimulálják rágszálók májának ODC aktivitását (124). A hatás mechanizmusára némi

felvilágosítást nyújt az a megfigyelés, hogy dexametazon hatására a csecsemőmirigyben és más limfoid szervekben az ODC aktivitás gyors és kifejezett csökkenése jelentkezett.

e) *Ösztrogének és progeszteron.* Ösztrogén adagolással éretlen patkányok méhének ODC aktivitása a kontroll érték többszörösére (76), csirke petevezeték ODC aktivitása pedig közel harmincszorosára emelkedett (22). Stilbösztrollal a petevezeték ODC aktivitása in vitro szervtenyészetben is fokozható. Progeszteron ugyanilyen hatású (22).

Az uterus ODC aktivitása ugyanúgy változik, ingadozik az ösztrozus ciklus alatt mint az ovariális enzimé. Legmagasabb aktivitás található proösztrozsban (52).

f) *Androgének.* Patkányok kasztrálása a ventrális prostata ODC, SAM-DC aktivitásainak és a poliaminok szöveti koncentrációinak erőteljes csökkenését idézi elő (168). Tesztoszteron kezelés hatására mind az enzimaktivitás mind a szöveti poliamin szint helyreáll. Analóg változások következnek be ondómirigyben is hereirtást követően (101).

3. A poliamin anyagcsere változásainak kapcsolata különböző biológiai folyamatokhoz.

A poliaminok fiziológiai szerepének részletei tisztázatlanok. Az utóbbi években felhalmozódott, idevonatkozó adathalmaz rendszerezésének hiánya e vegyületsalád biológiai szerepének egzakt körülírását ma még nem teszi lehetővé. A következő fejezetekben azokat az irodalmi adatokat foglaljuk össze amelyek a poliaminok szerepét igyekeztek tisztázni az egyes biológiai vagy patológiai folyamatokban.

3.1. *Poliaminok mint növekedési faktorok.* 1949 óta ismeretes, hogy a poliaminok *Haemophylus parainfluenzae* tenyészetekben obligát növekedési tényezőként szereplnek (51). Azóta számos mikrobiális törzsre nézve bizonyosodott be, hogy növekedésük — fakultatív vagy obligát módon — poliaminok jelenlétéhez kötött (2). Putrescín szintézisükben defektív *E. coli* mutáns tenyészetek nem növekednek; exogén putrescín, spermidin vagy spermin adagolásra azonban a növekedés megindult (91). Hasonló megfigyelést tettek *Aspergillus nidulans* mutánsokon is (144). Prokariota organizmusokon kívül eukariota állati (44) és növényi (7) sejttenyészetekben valamint fokozott proliferációt mutató állati szövetekben (13) is összefüggést mutattak ki a növekedési folyamatok és a poliaminok mennyisége között. Humán fibroblaszt tenyészetek médiumában megjelenő, növekedést stimuláló anyagot putrescinként azonosították (109). Ugyancsak növekedési faktornak bizonyultak a poliaminok rovaroknál is (24, 25). A poliaminok fentemlített hatásainak mechanizmusa ismeretlen. Az észlelt hatás sok esetben aspecifikus, sőkkel helyettesíthető.

3.2. *A poliamin anyagcsere változásának kapcsolata a sejtproliferációs folyamatokhoz.* Bár a természetes poliaminok fiziológiai szerepe tisztázatlan, csaknem biztosra vehető, hogy a poliamin anyagcsere kitüntetett szerepet játszik a sejtproliferációs folyamatokban, mindenekelőtt és nagy valószínűséggel az RNS anyagcsereére irányuló hatásokon keresztül. Nyomatékos hangsúlyozást igényel az a sokoldalról megerősített tény, hogy a fokozott osztódási aktivitást mutató, nagy proliferációs aktivitással rendelkező szövetek, csaknem kivétel nélkül magas koncentrációban tartalmaznak poliaminokat. Abban a néhány

esetben amikor a poliaminok — szövettenyészetekben — növekedést gátló hatásának bizonyultak, a tenyésztő médiumhoz rutinszerűen adagolt szérumban jelenlevő enzimek hatására a poliaminokból keletkező toxikus metabolitok (l. fentebb) hatására joggal gyanakodhatunk.

3.2.1. Poliamin anyagcsere az embrionális szövetekben; Az embrionális fejlődés különböző — nem egyszer specifikus — fázisait kísérő celluláris poliamin-szint változások arra utalnak, hogy az embrionális fejlődés említett szakaszait a poliamin anyagcsere jellegzetes változásai kísérik. Maga az embrió illetve az embrionális szövetek ideális kísérleti rendszernek bizonyultak a növekedési folyamatok, azok egyes fázisai és a poliamin anyagcsere közötti kapcsolat tanulmányozásra. Az a megfigyelés, hogy a poliaminok jelentős mennyiségben vannak jelen mind az embrionális mind a nem embrionális de fokozott fehérjeszintézist végző szövetekben, hamar azt a gyanút ébresztette, hogy oki kapcsolat létezik a növekedési folyamatokat, a sejtproliferációt kísérő nukleinsav és fehérjeanyagcsere valamint a polikationos természetű poliaminok anyagcseréje között. A csirke-embrió különösen jó szolgálatokat tett a fent említett kapcsolat tanulmányozásában. Az inkubátlan tojás ugyanis még nem tartalmaz poliaminokat. Megjelenésük azonban az embrionális fejlődés igen korai szakaszában már kimutatható, a keltetés 48. órájában pedig már hatalmas mennyiségben található a tojásban (15).

Sorozatos megfigyelések bizonyítják, hogy a poliaminok és a nukleinsavak — elsősorban az RNS — koncentrációja párhuzamosan változik az embrionális fejlődés különböző szakaszaiban. A poliaminok degradációjában szerepet játszó amino-oxidáz (l. fentebb) gátlása a szöveti poliamin szint növekedésére vezet, amit a nukleinsavak — ezen belül legjellegzetesebben az RNS-szöveti szintjének párhuzamos emelkedése kísér (14, 98).

Szoros párhuzam volt kimutatható a *Bufo bufo* embriogenezis minden stádiumában a poliaminok és a nukleinsavak mennyiségi változása között is (15). *Xenopus laevis* megtermékenyítetlen petéje már tartalmaz poliaminokat, de azok szöveti koncentrációja a gasztrulációs stádiumig alacsony. A fejlődés későbbi szakaszában a poliamin koncentráció gyors emelkedése tapasztalható — mégpedig pontosan az RNS szintézis megindulása idején (11). Ugyanekkor új típusú fehérjék gyorsütemű szintézise is megfigyelhető és kifejezettebbek lesznek a celluláris differenciáció jelei is.

A poliamin és nukleinsav koncentrációk párhuzamos változását figyelték meg *Drosophila melanogaster* különböző fejlődési stádiumában is. A változások időbeli szekvenciájából és jellegéből arra lehetett következtetni, hogy a poliamin szintek változásai a növekedési folyamatokkal állnak kapcsolatban (27).

A poliaminok koncentrációjának és a szintézisükben részt vevő enzimek aktivitásának jellegzetes változásait írták le patkány magzatok intrauterin fejlődésének stádiumában is (125).

3.2.2. Poliamin anyagcsere kompenzatórikus hipertrófiában (szöveti regenerációs folyamatokban), A kompenzatórikus hipertrófia a szöveti proliferáció jellegzetes formája, és kedvelt kísérleti modellje a proliferációs folyamatok és a poliaminok anyagcsere összefüggésének vizsgálatával foglalkozó kutatóknak. Különösen kiterjedt irodalma van a poliamin anyagcsere és a részleges májirtást (parciális hepatektómia) követő szöveti hipertrófia (májregeneráció) összefüggését elemző vizsgálatoknak. Az indukált májregeneráció folyamata ugyanis kitűnő modellnek bizonyult a poliaminok anyagcseréjének a szöveti

proliferációhoz és az ezt kísérő, makromolekuláris szintetikus folyamatokhoz való kapcsolata tanulmányozásában.

Nagyszámú irodalmi adat egybehangzó tanúsága szerint a parciális hepatektómiát követő igen rövid időn belül az ODC aktivitás hatalmas méretű — a kontroll érték akár 50-szeresét is meghaladó — fokozódása és a szöveti putrescin tartalom ennek megfelelő emelkedése tapasztalható (32, 67, 131, 138). Ezzel csaknem egyidőben a spermidin szintézis és akkumuláció jelentős fokozódása is kimutatható, a párhuzamosan jelentkező RNS akkumulációval együtt (120, 121). Az ODC aktivitás már 1 órával a parciális hepatektómia után emelkedni kezd. Maximumát a 16. órában éri el. Ezt követően csökkenés tapasztalható, de az aktivitás még a részleges májirtást követő 96. órában is magasabb a kontroll értéknél (145). Az ODC aktivitás változása meglepő párhuzamosságot mutat az RNS szintézis változásával. Ezzel kapcsolatban figyelemre méltó, hogy számos, a patkány májszövet proliferációját előidéző kísérleti behatásra növekedési hormon (68) és tioacetamid (115) adagolás vagy részleges májirtással indukált májregeneráció (32) alkalmával a szöveti ODC és RNS-polimeráz aktivitások párhuzamos változását észlelték.

Úgy tűnik, hogy a regeneráló májszövetben tapasztalható fokozott spermidin szintézis és akkumuláció hátterében a megnövekedett ODC aktivitásnak köszönhető fokozott putrescin produkció áll (67). A spermidin és RNS akkumuláció párhuzamos voltának bizonyítéka, hogy regeneráció során a poliamin-N/RNS-P aránya mindvégig változatlan (121).

A májregeneráció folyamán a SAM-DC aktivitás fokozódása csak jóval később következik be mint az ODC aktivitásé és az emelkedés mértéke is jelentősen elmarad az ODC esetében észlelhetőtől (125). A SAM-DC aktivitás csúcsértéke, amely a műtétet követő 48. órában következik be mindössze a kontroll érték háromszorosát éri el. Ezt követően az aktivitás csökkeni kezd, de még két hét után is emelkedett aktivitás szinteket tapasztaltak. A SAM-DC aktivitás változás specifikus voltát kérdőjelezi meg az az észlelet, hogy 4 hónaposnál idősebb patkányokon parciális hepatektómiát követően nem észlelték az aktivitás fokozódását. Megjegyezzük, hogy nyugvó (nem osztódó) májszövet ODC aktivitása rendkívül alacsony, alig mérhető. Az SAM-DC aktivitás ezzel szemben nyugvó májban is jelentékeny mértékű. Feltehető tehát, hogy a SAM-DC aktivitás a nyugvó májszövet konstans spermidin pool-ja fenntartásáért felelős és ilyen feltételek mellett az ODC a ráta limitáló lépés.

A SAM-DC, a spd-Sáz és sp-Sáz aktivitásoknak a májregeneráció során bekövetkező aktivitás változásainak szimultán regisztrálása (46) azt mutatta, hogy a) a SAM-DC aktivitás a 48. posthepatektómiás időpontban van a maximumon, majd ezt követően viszonylag gyorsan csökken (l. fentebb); b) a spd-Sáz aktivitás plátó-szerű csúcsértéket mutat a 96. posthepatektómiás időpont körül, majd lassan csökken, de még a hepatektómiát követő 8. napon is jelentősen magasabb a kontroll értéknél; c) a sp-Sáz aktivitás a 48. óra körül elért maximumát követően lassan csökken és a 4—5. napon kontroll értéket mutat (46). A fent ismertetett enzimek aktivitás csökkenésében — a hatás lecsöngésében — mutatkozó különbségek, legalábbis részben a $T_{1/2}$ időkből fennálló különbségekkel magyarázhatók. A vizsgált három enzim közül legrövidebb $T_{1/2}$ -vel rendelkezik a SAM-DC (20—60 perc), 5 órát jóval meghaladó $T_{1/2}$ -je van a spd-Sáz-nak és ennél is hosszabb a sp-Sáz-nak. Emlékeztetünk arra, hogy a putrescin központi szerepet játszik a poliaminok anyagcseréjében (l. fentebb). Ismeretes, hogy a putrescin már nagyon alacsony kon-

centrációban is befolyásolja a SAM-DC aktivitását (45, 107). Valószínű, hogy a spermin szintézisre is hasonló hatású (112, 118).

A proliferáló szövetekben jelentkező ODC aktivitás fokozódás mechanizmusára vonatkozóan csak indirekt adatokkal rendelkezünk. Közölték, hogy Aktinomicin-D kezelés kivédi mind a növekedési hormon adagolására bekövetkező (70, 132) mind a parciális hepatektómiát követő (32, 138) ODC aktivitás növekedést. α -amanitin, a nukleoplazmatikus RNS polimeráz specifikus gátlója (36) és ugyanakkor blokkolja a növekedési hormon hatására bekövetkező ODC aktivitás fokozódást is (113). A legkülönbézetőbb stimuluskkal indukált ODC aktivitás fokozódást a fehérjeszintézis inhibitorai is kivédik (32, 68, 70, 132, 138). Egyértelműnek tűnik tehát, hogy a stimulált ODC aktivitás fokozódás de novo enzim szintézisen alapul.

Ismeretes, hogy hipofízis irtás késlelteti a májregenerációt (162). Növekedési hormon adagolás viszont növeli a parciális hepatektómia hatására bekövetkező mitotikus válasz intenzitását (16). Hipofízis irtás késlelteti a részleges májirtás során tapasztalható ODC aktivitás fokozódást is és siettetí az enzim-aktivitás normalizálódását, a válasz lecsöngését is. Az ODC aktivitás fokozódás ilyenkor észlelt késleltetése párhuzamosan halad a regenerációs folyamat késleltetésével (162).

Hipofízis irtott állatokon a parciális hepatektómiát követő kisebb ODC aktivitás növekedés trijodtrioninnal kismértékben, növekedési hormonnal erőteljesebben fokozható volt, de az enzim aktivitás ekkor sem érte el a kontroll szintet. A két hormon együttes adagolása azonban a szokásos nagyságú ODC aktivitás megjelenését eredményezte (145). Ez arra mutatna, hogy elsősorban a növekedési hormon felelős a hipofízisnek a regeneráció folyamatára gyakorolt hatásáért. A pajzsmirigy szerepe nem egészen világos. Mindenesetre a trijodtrionin és a növekedési hormon hatása addicionálisnak tűnik. A két hormon hasonló addicionális hatást gyakorol a DNS függő RNS polimeráz aktivitására is (169).

Az ODC aktivitás unilaterális nefrektómiával indukált kompenzatórikus vese hipertrófia („vese-regeneráció”) alkalmával is jellegzetes változásokat mutat (10). A jellegzetesség bifázikus aktivitás emelkedésben jut kifejezésre, 18 órával az egyoldali veseirtás után az enzim aktivitás az alapérték 4–5-szörösére emelkedik, majd a 30. óra táján észlelhető normalizálódás után az alapérték 3-szorosát éri el. Hasonló bifázikus aktivitás változásról májregenerációban is beszámoltak. Az első két nap folyamán a vese szövet putrescin, spermidin és spermin tartalma emelkedett. Ugyanebben a periódusban az RNS anyagszere fokozódása tapasztalható (93).

3.2.3 Poliamin anyagcsere a rosszindulatú daganatokban. Az előzőekben láttuk, hogy a proliferáció, gyorsan növekvő szövetek magas koncentrációban tartalmaznak poliaminokat. Ugyanez érvényes a rosszindulatú daganatokra is. A vonatkozó irodalom áttekintése azt a gyanút ébreszti, hogy a poliaminok a proliferációra, fokozott osztódásra készülő szövetekben a folyamat „beindítását” végző tényezők. Ezt a „beindító” szerepet az esetek többségében az ODC aktivitás nem egyszer elképesztő méretű fokozódása játsza. Ismételten hangsúlyozzuk, hogy nem proliferáló, statikus, nyugvó szövetekben az ODC aktivitás elenyésző, alig mérhető. A fokozott ODC aktivitást általában a putrescin szint emelkedése kíséri. Emlékeztetünk arra hogy a putrescin regulatív szerepet játszik a poliaminok bioszintézisében. Úgy tűnik, hogy a

fokozott putrescin bioszintézis első jele a bekövetkező proliferációnak, fokozott sejtosztódásnak (129).

A rosszindulatú experimentális tumorok, poliamin anyagcseréjüket illetően a gyorsan növekvő valamint a kompenzatórikus szöveti hipertrofia (elsősorban májregeneráció) korai fázisában levő szövetekhez hasonlóan viselkednek. Az egyes tumorok növekedési rátájával (1, 4, 49, 50, 82, 83, 131) illetve — Morris hepatomáknál — a deviáltság fokával párhuzamosan változik e tumorok ODC aktivitása, valamint putrescin és spermidin koncentrációja (54, 129, 167). Ugyanakkor a SAM-DC aktivitása — bár a kontroll értékhez képest növekszik — a tumornövekedés során nem változik. A tumorok intracelluláris spermin koncentrációja, néhány eset kivételével nem változik (49, 129, 166). Ezzel összhangban, tumorszövetekben az ODC/SAM-DC és a spermidin/spermin hányados értéke nagymértékben nő (49, 129, 166).

Érdeemes rámutatni, hogy néhány hepatoma esetében az ODC aktivitás fokozódással párhuzamosan az ugyancsak ornitin szubsztrátumot igényő ornitin-transzkarbamiláz (OTC; EC 2.1.3.3.) aktivitása csökken (161, 167). Gyorsan növekvő hepatomák esetében az ODC/OTC hányados értéke akár a kontroll érték 10 000-szeresét is elérheti (161, 166). Az eddig vizsgált tumorok esetében az ODC aktivitás fokozódásával és a poliaminok celluláris koncentrációjának növekedésével párhuzamosan növekszik a szövetek nukleinsav, elsősorban RNS koncentrációja (161).

A fent elmondottak és azokhoz hasonló észleletek alapján feltehető, hogy a poliaminoknak esszenciális szerepe van a tumornövekedés folyamatában is, ami azonban nem feltétlenül jelenti azt, hogy e vegyületek funkciója közvetlenül sejtosztódási folyamatokkal áll kapcsolatban (50). Egérből származó agy-tumor sejtek paraszinkron tenyészetekben például nem sikerült időbeli összefüggést kimutatni a poliaminok szintézise és a sejtciklus egyes fázisai között (50). A fokozott poliamin szintézis proliferáció-specifikus volta ellen szól az az adat is, hogy vírus transzformái de nem proliferáló sejtekben is fokozódott a celluláris putrescin szint (4).

Az eddigi vizsgálatok arra mutatnak, hogy a tumorok poliamin anyagcseréjének karakterisztikus paraméterei a szöveti ODC/SAM-DC valamint a spermidin/spermin hányados.

A fent említett megfigyelések valamint a különböző, malignus növekedést indukáló ágensekkel végzett vizsgálatok (49, 103) támogatják azt az elképzelést, hogy a poliaminok valamilyen, eddig nem tisztázott szerepet játszanak a malignus transzformáció, a malignus proliferáció folyamataiban.

Azt a számos esetben megerősített tényt, hogy különféle humán daganatok esetében a vizelettel ürített poliaminok mennyisége növekszik, ma már a klinikai gyakorlatban ishasznosítani igyekeznek (28, 95, 126, 128, 135, 160).

A poliaminok daganatos proliferációban játszott szerepének továbbtanulmányozását az alábbi három tényező indokolja: 1. az emlős tumorok fejlődésének különböző fázisaiban szoros, pozitív korreláció van a poliaminok és a nukleinsavak (RNS !) celluláris koncentrációja között (1, 19, 165, 167); 2. számos rosszindulatú tumor esetében a vizelettel ürített poliaminok mennyisége — sokszor hatalmasan — növekszik (3, 28, 95, 126, 128, 135, 160); 3. daganatnövekedést gátló farmakonok hatására a poliaminok szöveti koncentrációja és a vizelettel ürített mennyisége egyaránt csökken. Ezt a tényt a daganat terápia hatékonyságának megítélésére használják a klinikumban (128).

4. Molekuláris hatásmechanizmus

4.1. *A poliaminok és a nukleinsavak interakciója.* A természetes poliaminok mint alifás polibázikus vegyületek lényegében organikus polikationok. E tulajdonságuk jórészt megszabja és meg is magyarázza molekulári hatásmechanizmusukat. Különösen a hosszabb szénláncú — a putrescinnél több kationos csoporttal rendelkező — spermidin és spermin (mint erős bázisok) mutatnak nagy affinitást és kötődnek erősen a polianionokhoz, mindenekelőtt nukleinsavakhoz, nukleinsav tartalmú sejtpartikulumokhoz, nukleotidokhoz, foszfolipidekhez (membrán!) stb. Nagy valószínűséggel állíthatjuk, hogy a poliaminok fiziológiai funkciói is, jórészt a közöttük és organikus polianionok között kialakuló kölcsönhatásokon alapulnak. DNS, RNS valamint poliaminok között *in vitro* létrejövő komplexképződés számos példája ismeretes az irodalomból. Nagyon valószínű, hogy a celluláris poliaminok jelentős hányada, *in vivo* körülmények között is nukleinsavakhoz kötődik. Oldékonysági vizsgálatok tanúsága szerint azonban a sejtben levő összes poliamin már csak azért sem lehet nukleinsavkötésben, mert ez lehetetlenné tenné a nukleinsavak oldott állapotát. A poliaminok és nukleinsavak közötti interakció fiziológias voltát támasztják alá azok a megfigyelések, amelyek szerint a poliaminok mind DNS mind pedig RNS vírusokban jelentős mennyiségben találhatóak (2).

Poliaminokat találtak bakteriális, állati és növényi vírusokban egyaránt. A *T-even coli* fág és a Herpes simplex vírusokra vonatkozó adatok megbízhatóságát növeli az a tény, hogy ezeket olyan feltételek között nyerték amelyek kizárták azt a lehetőséget, hogy a poliaminok szekunder redisztribúció eredményeként kerültek nukleinsav kötésbe (2, 41, 153). E két vírusban annyi poliamin asszociálódik a vírus DNS-al amennyi a nukleinsav foszfát csoportjai mintegy 40 %-ának neutralizálására elegendő. Az RNS vírusok csoportjába tartozó myxo-vírusoknál hasonló eredményeket kaptak az RNS-hez kötött poliaminok mennyiségére vonatkozóan (5).

A poliaminok és a nukleinsavak közötti interakció általában a nukleinsavak valamint nukleinsav tartalmú sejtpartikulumok (pl. riboszómák) struktúrája stabilitásának növekedését, különböző behatásokkal szembeni ellenállóképességük fokozódását eredményezi. Kimutatták pl., hogy a poliamin-DNS interakció növeli a kettősszalú DNS struktúrák stabilitását hődenaturációval és nyíró erőkkel szemben egyaránt (72, 152). Röntgen-krisztallográfiás vizsgálatok szerint a kettősszalú DNS molekulával létesített interakciójuk során a spermidin és spermin, a két DNS lánc között elhelyezkedő „sekély barázda” fölött képez hidat, amikor is a szóban forgó poliamin molekulák protonált amino és imino csoportjai elektrosztatikus kötést létesítenek a DNS molekula foszfát csoportjaival. Ez az interakció nagy mértékben sztereospecifikus (89, a).

A poliaminok elősegítik a denaturált DNS szálak újraegyesülését (48). Részt vesznek a kettős helikális struktúrájú DNS molekula kondenzált konformációjának (folding és supercoiling) stabilizálásában (38).

A poliaminok és a nukleinsavak közötti interakció specifikus voltát támasztják alá azok az adatok, amelyek szerint szintetikus poliribonukleotid keverékben a spermin csak olyan poliribonukleotidokkal képez komplexet, amelyek antiparallel kettős helikális konformációval rendelkeznek (pl. poli A — poli U), nem képez viszont komplexet sem egyszálú poliribonukleotiddal, sem parallel kettős helikális konformációkkal (62).

A spermin erősen kötődik rRNS-hez, tRNS-hez és MS2 bakteriofág RNS-hez is. *E. coli*-ból, alacsony ionerősségű médiumban izolált tRNS molonként kb. 2 molnyi spermidint tartalmaz. Ez arra utal, hogy a poliaminok meghatározott számú kötőhellyel rendelkeznek a tRNS molekulán, mégpedig valószínűleg annak helikális régiójában (19). Spermidin és spermin jelenlétét eukariótákból izolált tRNS-ben egyaránt kimutatták.

4.2. *A poliaminok és a riboszómák kölcsönhatása.* Zillig és mtsai (172) észlelték a poliaminok jelenlétét először bakteriális és állati sejtek riboszómáiban. Izolált *E. coli* riboszómákban mutatták ki, hogy az össz celluláris putrescín és spermidin 12–15 %-a riboszómákhoz kötve van jelen. A spermidin hatékonyan segíti elő a 30 S és 50 S riboszomális alegységeknek 70 S monomerré történő asszociációját (21).

Alacsony ionerősségű médiumban (ez gátolja a spermin disszociációját az RNS-ről) vizsgálva a poliaminok megoszlását az egyes szubcelluláris partikulumok között kimutatták, hogy a poliaminok és az RNS megoszlása hasonló, a poliaminok és a DNS megoszlása különböző volt: a spermidin, spermin és RNS mintegy 60 %-a egyaránt a mikroszomális frakcióban volt található (122). Ezt a durva frakciót tovább tisztítva, annak poliamin és RNS tartalma nagyjából párhuzamosan csökken. Mono- és divalens kationok növekvő koncentrációinak hatására a mikroszomális frakcióból mind több és több poliamin volt „felszabadítható”, de a spermidin mintegy 50 %-a és a spermin valamivel kisebb hányada még 170 mM KCl vagy 30 mM Mg^{2+} jelenlétében is a mikroszomális frakcióhoz „kötve” maradt. Ezek az adatok, kiegészítve azokkal, amelyek a poliaminok riboszomális kötődését *in vivo* környezetet utánzó *in vitro* körülmények között vizsgálták (147) arra utalnak, hogy az állati sejtekben uralkodó *in vivo* feltételek mellett a celluláris spermin egy nagyobb és a spermidin egy kisebb hányada RNS tartalmú partikulumokhoz ionos kötéssel kötve van jelen. A spermin és etidium-bromid között, az RNS kötőhelyekért folyó kompetíció ténye arra mutat, hogy a spermin a riboszómákban kettős szálú RNS-hez kötődik (150).

Említettük már, hogy intakt sejtek feltárásakor a poliaminok — mindenekelőtt a spermin — redistribúciója következhet be (145) és hogy az izolált riboszómákban talált spermin mennyisége függ a preparálás körülményeitől, az ionerősségtől (magas ionerősség kedvez a spermin disszociációjának a riboszómákról), a pH-tól és a hőmérséklettől. Stevens és mtsai (149) bonyolult mérési és kalkulációs eljárással mutatták ki, hogy 0,1 M-os KCl jelenlétében az *i. c.* spermin 98 %-a míg 0,3 M-os KCl jelenlétében sokkal kisebb mennyisége van kötött formában jelen.

A riboszómák és az izolált rRNS spermin affinitása közel azonos. Ennek ellenére a spermin és az akridin-orange közötti kompetíció eltérő jellegű rRNS és intakt riboszómák esetében (149). Mivel az akridin-orange-ről feltételezik, hogy preferenciálisan a riboszómák felületén elhelyezkedő kettősszalú rRNS-hez kötődik (23) elképzelhető, hogy a riboszomális fehérjéknek valamilyen (indirekt) szerepe van a spermin és riboszóma között kialakuló interakcióban.

A nukleinsavakon kívül más anionos vegyületek, pl. a membránok foszfolipidjei is jelentős mennyiségű poliamint köthetnek meg. A sejten belül valószínűleg dinamikus egyensúly áll fenn a szabad és a kötött poliamin poolok között, s ez utóbbiak állapota az anionos természetű vegyületekért (nukleinsavak, nukleotid foszfátok, foszfolipidek stb.) versengő anorganikus és orga-

nikus kationok, közöttük a poliaminok koncentrációjától függ. Nincs bizonyíték arra nézve, hogy valamelyik sejtorganellum olyanformán koncentrálná a poliaminokat, hogy azok kicserélődése az intracelluláris poolokkal nem lenne lehetséges. E kérdés vizsgálatát ma még nehezíti az a körülmény, hogy a rendelkezésre álló technikák nem teszik lehetővé a szabad és a kötött poliaminok egymás melletti meghatározását.

4.3. *Poliaminok és a tRNS anyagcsere összefüggései.* A tRNS molekula metilált bázisokat is tartalmaz. A metiláció, hatásukat post-transzkripcionálisan érvényesítő, különféle metiláló enzimek működésének az eredménye. Valamennyi metiláz rendelkezik azzal a képességgel, hogy katalizálja a metil csoport átvitelét SAM-ról a tRNS molekulára. Bázis-specifitásuk azonban különböző. Manapság úgy vélik, hogy a tRNS molekula metilációjának regulációs szerepe van. Kimutatták, hogy tumorokból, vírus-fertőzött sejtekből, embrionális és más differenciálódó, valamint hormonkezelt szövetekből nyert extraktumok fokozott metilációs aktivitással rendelkeznek (9). Ezekben a rendszerekben az esetek jelentős részében a tRNS metilációs mintázatának megváltozása is bekövetkezett. A metiláz aktivitás ilyenkor észlelhető, kvantitatív és kvalitatív változásai vagy a tRNS populáció megváltozását vagy azt jelentik, hogy stimulátorok (pl. poliaminok) vagy inhibitorok koncentráció változásának hatására már létező metilázok reakciója változik meg.

A tRNS metil-szubsztitúciója és így a tRNS metizálok vitális fontosságúnak tűnnek az amino-acil-tRNS szintetáz reakció alkalmával a megfelelő aminosav kiválasztásában (140). Fontos szerepet játszhatnak a korrekt kodon felismerésben is a transláció alatt bekövetkező riboszomális kötődés során (146).

A poliaminok stimulálják a tRNS in vitro metilációját és lényeges változást indukálnak a tRNS metilációs mintázatban is (85). Spermidin vagy spermin jelenlétében nyert tRNS metilációs mintázatát összehasonlítva a Mg^{2+} jelenlétében nyert mintázattal, kiderül, hogy a poliaminok olyan új nukleotid bázisok metilációját is lehetővé teszik, amelyek Mg^{2+} jelenlétében nem metilálódnak. A hatás, nagy valószínűséggel a tRNS konformációjának megváltozásán alapul. Figyelemre méltó, hogy Mg^{2+} gátolja a poliaminok által stimulált metiláz aktivitást és az is, hogy a poliaminok teljesen helyettesíteni képesek a Mg^{2+} -ot a metilációs folyamatokban (85). A poliaminok jelenlétében in vitro metilált purinok és pirimidinek azonosak az in vivo metilációkor képződőkkel. Ezzel szemben a Mg^{2+} jelenlétében izolált bázisok in vitro nyerhető mintázata eltér az in vivo kialakuló metilációs mintázattól (86). Ezek az adatok támogatják azt az elképzelést, hogy a poliaminok in vivo is részt vesznek a tRNS metilációjában, a metilációs mintázat kialakításában. Érdeemes megjegyezni, hogy a poliaminok in vitro hatása a szöveti szinteknél alacsonyabb koncentrációknál érvényesül (86).

A spermidin és a spermin, Mg^{2+} -al szemben preferenciálisan kötődik a tRNS-hez: a poliaminok kiszorítják a tRNS-hez kötött Mg^{2+} -ot, ugyanakkor a Mg^{2+} nem képes kiszorítani a már tRNS-hez kötött poliaminokat. A poliamin-tRNS komplex tehát in vivo körülmények között is létezhet és szubsztrátként szolgálhat az amino-acil-tRNS komplex képződéshez (154).

A spermidin aktiválja a denaturált tRNS-t (40). A tRNS molekula 2–3, viszonylag szoros és 7–8 lazább kötőhelyet tartalmaz a spermidin számára (20). Az etidium struktúranalógja a spermidinnek és — amint már említett-

tük — ennek megfelelően a kötés stöchiometriája nagyon hasonló a két vegyülettípus esetében (20).

4.4. *Poliamin anyagcsere és nukleinsav szintézis.* Számos irodalmi adat utal arra, hogy a poliaminok a nukleinsavak prekursorának tekinthető pirimidinek, és az RNS valamint DNS szintézisére egyaránt hatást gyakorolnak.

a) *Hatás a pirimidinek szintézisére:* Emlősökben az extramitokondriális lokalizációjú, glutamin dependens karbamil-foszfát szintetáz II (CPS II; EC 2.1.3.2.) a pirimidin nukleotidok de novo szintézisének első lépését katalizálja és kulcsszerepet játszik e szintetikus folyamat szabályozásában (155, 157). Az enzim feed-back inhibitora, az uridintrifoszfát (UTP), alloszterikus aktivátora pedig az 5, foszforibozil-1, pirofoszfát (PRPP) (90, 157). Funkciójához szabad Mg^{2+} -ot és $MgATP^{2-}$ -t igényel (158). A poliaminok anyagcsereje és a nukleinsavak akkumulációja közötti összefüggést kimutató adatok birtokában vetődött fel az a lehetőség, hogy a poliaminok esetleg a karbamilfoszfát (CP) szintézisére gyakorolt hatásain keresztül vennének részt az RNS szintézis befolyásolásában (96).

Megállapították többek között, hogy a poliaminok fiziológias koncentráció határok között (10^{-4} – 10^{-3} M) AH 13 sejtekből, patkány májából és eger lépből izolált CPS II aktivitását gátolják. Leghatásosabb volt a spermin, ezt követte a spermidin és végül a putrescín (96). A poliaminokkal kiváltott gátló hatás szabad Mg^{2+} -al és $MgATP^{2-}$ -vel felfüggeszthető. E megfigyelés alapján arra következtettek, hogy a poliaminok az enzim Mg^{2+} -ot kötő centrumára irányuló kompetíció révén fejtik ki hatásukat (96). Ezt az elképzelést igazolta, hogy a gátlás az enzim alloszterikus aktivátorával, PRPP-vel is felfüggeszthető volt. A PRPP ugyanis fokozza az enzim látszólagos affinitását a szabad Mg^{2+} iránt (96). $MgATP^{2-}$ -t igénylő enzimeken végzett vizsgálatok alapján, mivel ezekre a poliaminok hatástalanok, elvetették azt a lehetőséget, hogy a poliaminok poliamin-ATP komplex képződésén keresztül fejtik ki hatásukat (96).

Poliaminmentes médiumban a PRPP koncentrációja széles határok között változtatható anélkül, hogy ez befolyásolná az enzim aktivitását. Poliaminmentes médiumban azonban az enzim-aktivitás PRPP dependensé válik (96). Ez a megfigyelés is támogatja azt a véleményt, hogy a poliaminok és a PRPP — in vivo körülmények között is — egymás hatását kiegészítve, a CPS II szintjén, regulatív szerepet töltenek be a pirimidin nukleotidok bioszintézisében (96).

b) *Hatás az RNS szintézisre.* A poliaminok és nukleinsavak interakciójára valamint a poliaminoknak a nukleinsavakra és riboszómákra gyakorolt stabilizáló hatására vonatkozó, in vitro megfigyelések már korán gyaníthatóvá tették, hogy a poliaminok a fentemlített makromolekuláris struktúrák in vivo hatásainak és bioszintézisük szabályozásának is fontos elemei lehetnek. Számos irodalmi adat szerint pozitív korreláció áll fenn a poliaminok és a nukleinsavak, mindenekelőtt az RNS bioszintézise és akkumulációja között. Azt az elképzelést is sok megfigyelés támogatja, hogy a poliaminok a makromolekuláris szintetikus folyamatok rátáját befolyásolni képesek. Emlékeztünk arra, hogy csirke embrionális szövetekben (111), újszülött patkány szöveiben (69), regeneráló májszövetben (29, 32, 120, 121) a poliamin és az RNS anyagcsere párhuzamos változásai figyelhetők meg. Hasonló megfigyeléseket tettek fejlődő emlős szövetekben (130), experimentális granulomákban (119) és miokardiális hipertrófia kialakulása során is (100). Mivel a foko-

zott ODC aktivitás talaján megjelenő szöveti putrescin akkumuláció (67, 131) a poliamin anyagcsere kvantitatív változásának egyik legkorábbi jele és mivel az ODC aktivitás központi helyet foglal el a poliaminok szintézisében (115, 118), számos próbálkozás történt arra, hogy az ODC aktivitás változásait hozzák kapcsolatba a nukleinsav szintézisben bekövetkező változásokkal. Az ilyen, egyetlen enzim aktivitására illetve egyetlen poliamin féleség (putrescin) akkumulációjára alapozott elképzelések realitása nagyon kicsi és nem is vezetett sok eredményre. A poliamin és a nukleinsav szintézis összefüggéseinek tanulmányozásakor a szabad és a kötött poliamin pool-ok vizsgálata nyilvánvalóan több felvilágosítással szolgálhatna. Ma még azonban az ilyen vizsgálatokhoz szükséges technikák nem állnak rendelkezésre. Azokat az adatokat amelyek szerint az ODC aktivitás kb. 50 %-át csirke embrió szöveteinek nukleáris frakciójában lokalizálva találták — és ebből a magok szerepére következtettek a poliaminok szintézisében — később megcáfolták, kimutatva, hogy az ODC aktivitás csaknem 100 %-a citoplazmatikusan található (117).

Számos, stimulált poliamin anyagcserével rendelkező biológiai rendszerben legkorábban a putrescin cellularis szintje emelkedik (ODC aktivitás), majd azt a spermidin és az RNS párhuzamos akkumulációja követi, miközben a spermin szint kezdetben akár csökkenhet is és emelkedése csak később következik be. A változások ilyen időszekvenciáját összevetve az RNS és DNS anyag csereváltozás időszekvenciájával felmerült a gyanú, hogy a spermidin akkumuláció az RNS szintézissel a spermin akkumuláció pedig a DNS szintézissel áll kapcsolatban. Ezt a tisztán spekulatív elképzelést azonban a poliaminok i. c. lokalizációjára vonatkozó észleletek (l. fentebb) már eleve valószínűtlenné tették.

A poliaminok és az RNS párhuzamos akkumulációja, a poliaminok in vivo asszociációja RNS-sel valamint az a képességük, hogy stabilizálni képesek a nukleinsavakat (153), nagyban valószínűsítik, hogy a poliaminok in vivo körülmények között elsősorban az RNS és RNS tartalmú partikulumok (pl. riboszómák) fiziológias stabilizátoraiként jönnek számításba és ezen keresztül befolyásolják azok funkcióit vagy hatnak bioszintézisükre.

Pro- és eukariota sejtenyészetekben exogén poliaminok stimulálják az RNS szintézist (19, 115). Ugyanilyen hatású a spermidin perfundált májkészítményeken (32), a spermin perfundált szív-készítményeken (100) és a putrescin patkány agyszövet tenyészetekben (123). A hatásmechanizmus ismeretlen. Annyi azonban biztosnak látszik, hogy nem a nukleotid pool-okra gyakorolt hatásról van szó (100, 116, 123). Az újonnan szintetizált RNS-t a poliaminok stabilizálják (34, 116). Moruzzi szerint (100) a spermin a hisztonok acetilációja révén fokozná az RNS szintézist, — bár a két folyamat közvetlen kapcsolatára nincs bizonyíték. Számos közlemény szerint a poliaminok fokozzák izolált sejtmagok illetve magvacskák RNS szintézisét és stimulálják mind az állati mind a bakteriális sejt eredetű DNS függő RNS polimeráz (2, 115, 148). E vizsgálatokból az alábbi általános következtetések vonhatók le: 1. a stimuláló hatás már viszonylag alacsony poliamin koncentrációknál jelentkezik; magasabb koncentrációban inkább gátló hatás érvényesül, — valószínűleg a DNS templát poliaminok — mindenek előtt spermin — által indukált precipitációja miatt. Ez utóbbi hatás az ionerősség növelésével kivédhető; 2. a stimuláló hatás sokkal kifejezettebb natív, mint denaturált DNS templát alkalmazásakor; 3. az RNS polimeráz rendszerre in vitro gyakorolt RNS gátló hatás poliaminokkal kivédhető; 4. in vitro polimeráz rendszerhez,

az RNS szintézis plátó fázisának elérése után adott exogén poliaminok hatására az RNS szintézis újra beindul; 5. a poliaminok növelik az *in vitro* transzkripció asszimetriáját: emlős RNS polimeráz rendszerben a spermidin és spermin hatékonyabb a Mn^{2+} aktiválható enzimre (RNS polimeráz II) (143, 151).

Bár a poliaminok hatásmechanizmusa a fentemlített rendszerekben nem világos, valószínűnek látszik, hogy — előző elképzelésekkel szemben — a poliamin-indukált RNS szintézis stimuláció nem a termék RNS-nek az RNS-enzim-DNS komplexről történő leválásának facilitálásán, hanem az újonnan szintetizálódó RNS lánc iniciálásán keresztül jön létre (102)

Izolált májsejt magok RNS szintézisét spermin és spermidin egyaránt fokozza (99). Ezen belül a spermidin hatékonyabb az alacsony só és α -amanitin rezisztens reakcióra, míg a spermin elsősorban a magas só és α -amanitin érzékeny reakcióra hat. A spermin-hatás 0.1 mM és 0.001 mM koncentrációknál, bifázikusan érvényesül. A nukleáris kromatinnal asszociált RNS polimeráz aktivitását csak 0.1 mM spermin fokozta. Ehhez hasonlóan 0.1 mM spermin úgy a máj mint az *E. coli* eredetű polimeráz által a deproteinizált máj DNS transzkripciójára gyakorolt hatásra is hatékonyabb volt. Ezzel szemben a spermin 0.1 és 0.001 mM-os koncentrációkban egyformán hatásos volt, ha a májeredetű kromatin transzkripcióját homológ (májeredetű) enzim végezte. Úgy tűnik, hogy a spermin — legalábbis az alacsonyabb koncentrációban (0.001 mM) — azáltal hat a transzkripcióra, hogy növeli a kromatin affinitását az enzimmel szemben. A spermin ilyenformán szabályozó szerepet játszhat a genom transzkripciójában is. Megjegyezzük, hogy a 0.1 mM-nál észlelt spermin-hatás általános és nem specifikus: tisztított magokkal és kromatinnal asszociált RNS polimerázt alkalmazva úgy a DNS mint a kromatin transzkripcióját befolyásolja tekintet nélkül arra, hogy pro-vagy eukariotákból származó enzimről van-e szó. A 0.001 mM-nál észlelt hatás viszont specifikusnak tűnik: tisztított magokon és csak akkor hatásos, ha a kromatin transzkripciója homológ enzimmel történik. A hatás mechanizmusa távolról sem tisztázott. Új, az enzim kötésére szolgáló promoter helyek megjelenése, a meglevő promoter helyeknek, a fehérje másodlagos szerkezetében bekövetkező változásain alapuló, hatékonyabb transzkripciója esetleg a hiszton és/vagy nem hiszton természetű nukleáris fehérjék reorientációja egyaránt számításba jövő lehetőség (90).

Metilizobutilxantin (MIX) adagolással, négy és fél órán belül az ODC aktivitás 50–100-szorosra növelhető. Ezzel párhuzamosan emelkedik, és az 5. órára megkétszereződik az RNS polimeráz I aktivitása. Az RNS és a fehérjeszintézis inhibitoraival kapott eredmények szerint az ODC aktivitás változása oki kapcsolatban van az α -amanitin rezisztens polimeráz I aktivitás párhuzamosan bekövetkező változásával. Részlegesen tisztított exogén ODC hozzáadása az RNS polimeráz rendszerhez növeli a polimeráz aktivitást és megnyújtja azt az időt, amely alatt az enzimaktivitás lineáris (94).

Ismeretessé vált, hogy egy nem azonosított, de biztosan nagyon rövid féléletidejű fehérje szükséges a nukleoláris gének transzkripciójához (39). Aminosavak stimulálják e fehérje szintézisét vagy lassítják degradációját. Ugyanezt teszik ODC-vel is (54). Ezért — továbbá mivel ismeretes, hogy az ODC is rövid $T_{1/2}$ -vel rendelkező, labilis fehérje — valószínűnek tűnik, hogy az ODC azonos azzal az eddig még nem azonosított, labilis fehérjével, amely az RNS polimeráz I szintjét modulálja és ezáltal szabályozza az RNS akkumuláció mintázatát és ezen a fehérje szintézist (94).

Ösztradiolbenzoát kezelésre, ivaréretlen kakasok májának spermidin és spermin tartalma emelkedik. Ugyanakkor növekszik az RNS polimeráz I aktivitása és akkumulálódik az RNS is (31).

Spermidin és spermin mintegy kétszeresére fokozza a prokariotákból (89) és emberi plazmából (136) előállított ribonukleáz aktivitását. Ezen túlmenően, a poliaminok az enzim aggregációját is jelentősen befolyásolják: a poliaminok jelenlétében izolált enzim molsúlya 32 000, míg a poliaminok távollétében izolálté 150 000 körül van.

E. coliban mutatták ki, hogy szoros korreláció áll fenn a nem acetilált spermidin mennyisége és az RNS i.e. akkumulációja között (114). Ez arra utal, hogy fiziológiásan a celluláris spermidin nagy része RNS-hez van kötve és ezért nem acetilálható.

Összefoglalva megállapíthatjuk, hogy az ionális környezet valamint a DNS templát típusa nagyban meghatározza úgy az RNS szintézis RNS polimeráz által katalizált rátáját, mindpedig a poliaminoknak a rendszerre gyakorolt hatását. Indirekt bizonyítékok szerint organikus és anorganikus kationok *in vivo* körülmények között is szerepet játszanak az RNS szintézis és proceszzió szabályozásában.

c) *Hatás a DNS szintézisre*: áttérve a poliamin és a DNS szintézis és metabolizmus kapcsolatának tárgyalására, mindjárt leszögezhetjük, hogy az idevonatkozó irodalom jóval szegényesebb, mint a poliaminok és az RNS anyagsere kapcsolatát tárgyaló irodalom.

Ami a DNS dependens DNS polimeráz aktivitására kifejtett hatásokat illeti, a poliaminok — a templát és az enzim típusától függően — gátolhatnak vagy stimulálhatnak is. (2). Poliaminok, patkány agyából izolált DNS polimeráz B-t erősen stimulálják de nem hatnak a polimeráz A aktivitására (18). Bár a poliaminok a DNS polimeráz reakcióban nem helyettesíthetik a Mg^{2+} -ot, optimális Mg^{2+} koncentráció mellett is stimuláló hatást fejtenek ki. A hatás mechanizmusa ismeretlen, de egyesek szerint az enzim-komplexek stabilizálásáról van elsősorban szó. Kimutatták, hogy spermidin erőteljesen stimulálja az θ X 174 vírus egyszerű DNS-ének a DNS polimeráz III (star) által katalizált replikációját (164). *E. coli* kromoszóma a templáton történő DNS szintézist a poliaminok nem befolyásolják, de szükségesek a kromoszóma felesavart (folded) formájának kialakításához illetve megőrzéséhez (80).

A poliaminoknak a nukleinsavak funkciójára és szintézisére gyakorolt hatásának vizsgálata szempontjából elsődleges fontosságú lenne olyan technika alkalmazása, amelynek segítségével a sejtek poliamin tartalmának teljes depléciója lenne elérhető. Bár ilyenfajta optimális rendszerekkel ma még nem rendelkezünk, bizonyos haladást jelentett a poliamin defektív *coli* mutánsok illetve a SAM—DC hatékony gátló anyagának bizonyuló metilglioxalbis guanilhidrazon = MGBG felfedezése és bevonása a kutatásokba. Kimutatták, hogy Con-A-val stimulált limfocita transzformáció során jelentkező, az RNS szintézis fokozódását éppen megelőző gyors putrescin, spermidin és spermin akkumuláció jellegzetes képe MGBG hatására jelentősen megváltozik: ilyenkor teljesen elmarad a spermidin és spermin akkumuláció, fokozódik viszont a putrescin akkumuláció mértéke, miközben a stabil RNS és fehérje szintézis üteme változatlan marad (35). Ebből az észleletből arra következtettek, hogy a limfocita transzformáció során a spermidin vagy a spermin szint emelkedése nem feltétele az RNS akkumulációnak. Tekintetbe kell venni azonban, hogy a spermidin és spermin feltételezett, de pontosan nem ismert funkcióját a

putrescin, sőt maga az MGBG is elláthatja. Annál is inkább, mivel MGBG maga is erősen bázikus karakterű vegyület. Ennek megfelelően a poliaminok és az MGBG-hez nagyon hasonló glioxalbis guanilhidrazon = GBG, a DNS szintézist hasonlóan befolyásolja.

Figyelemre méltó megfigyelés, hogy MGBG a PHA stimulált limfociták DNS szintézisét gátolja és ez a gátlás exogén spermidinnel felfüggeszthető (76). A putrescin szintézist blokkoló hidrazino-ornitin segítségével mutatták ki HTC sejtenyészeten, hogy a putrescin pool növekedése nem obligát feltétele a DNS szintézisnek ebben a rendszerben (47).

Putrescin szintézisükben defektív coli mutánsoknál, speciális növekedési feltételek mellett az endogén putrescin pool csaknem nullára redukálható, miközben a spermidin koncentráció alig változik (5). Agmatin-ureidohidrolázban defektív baktérium tenyészetekben, az exogén arginin adagolással indukált poliamin deplécio úgy a tenyészet növekedését mint a nukleinsavak szintézisét csökkentette. Exogén putrescin adagolására a tenyészet növekedése, a DNS és RNS szintézis egyaránt helyreállt. Poliamin depletált, DNS-fággal fertőzött kultúrákban úgy a fág-DNS szintézise, mint a fág érése egyaránt lelassul. A hatás exogén putrescin és spermidin adagolással revertálható (26).

RNS fággal fertőzött, poliamin depletált kultúrákban exogén poliamin adagolással a fág-specifikus fehérje szintézisének stimulációja is bekövetkezik (171). Poliamin depletált sejtekben mind a polipeptid mind az mRNS lánc elongációja jelentősen lassul (108).

Emberi fibroblast kultúrákon, exogén putrescin hatására fokozódik a sejtproliferáció. Ennek hátterében a S-fázis nagyarányú megrövidülése áll (108).

4.5. *A poliaminok és a fehérje szintézis kapcsolata.* Már az eddig elmondottak alapján is felmerült a gyanú, hogy a poliaminok jelenléte vagy hiánya a fehérje szintézis szempontjából sem közömbös.

Laktáció alatt az ODC és a SAM—DC aktivitása egyaránt fokozódik (129). Ezzel párhuzamosan nő az emlőszövet spermidin koncentrációja is (105, 129). Szekréciós tevékenységet nem mutató emlő szövettenyészetben inzulin + hidrokortizon + prolaktin együttes hatására növekszik az i.c. spermidin koncentráció és ezt követően fokozódik a tejfehérjék (α -laktalbumin, kazein) szintézise. A három hormon közül a glukokortikoid hidrokortizon spermidinnel helyettesíthető. A tenyészethez adott MGBG adására a spermidin szintézis gátlása mellett a hormon-dependens fehérjeszintézis fokozódása is elmarad. Az MGBG hatása spermidinnel kivédhető (105).

Ezek a megfigyelések arra a következtetésre vezettek, hogy a spermidinnek szerepe van a hormon dependens tejfehérjék szintézisének regulációjában. A tény, hogy a spermidin sem sperminnel sem Mg^{2+} -al sem más polikationnal (polilizin, poliarginin) nem helyettesíthető, bizonyítja, hogy a spermidin glukokortikoid szerű hatása nincs összefüggésben a molekula kationos természetével (105).

A tejfehérjék hormonális regulációja és a spermidin bioszintézise között fennálló szoros kapcsolatot támasztja alá az a megfigyelés, hogy a spermidin szintézisét katalizáló egyik enzim, a SAM—DC aktivitása szövettenyészetben inzulin és glukokortikoid hatására fokozódik (105). Ez az in vitro megfigyelés teljes összhangban van in vivo észleletekkel: laktáció alatt patkány emlőmirigyében a SAM—DC aktivitás fokozódik és ez a hatás a glukokortikoidok számlájára írható.

Nincsenek biztos ismereteink arra vonatkozóan, hogy vajon az enzimaktivitás hormonális stimulációja az enzim közvetlen aktiválásán, esetleg az enzim fehérje fokozott szintéziséén, vagy csökkent degradációján — esetleg mindhárom lehetőség együttes érvényesülésén keresztül valósul-e meg. Az viszont biztosnak látszik, hogy a glukokortikoidok fehérje szintézist stimuláló hatásában a spermidin mediator szerepet játszik.

Ugyanilyen szerep jut a spermidinnek az inzulin által stimulált fehérjeszintézisben is. Ismeretes ugyanis, hogy inzulin, emlős szövettenyészetekben fokozza az ODC aktivitását (105). Ennek eredményeként növekszik a putrescin i.c. koncentrációja. A putrescinnről viszont ismeretes, hogy — amellett, hogy a spermidin prekursorát képezi — közvetlenül stimulálja a SAM—DC aktivitását is (153). Részben ezzel magyarázható, hogy inzulin adására fokozódik a SAM—DC aktivitása is.

A hormon dependens tejfehérje-szintézis spermidin illetve poliaminok által történő regulációja bizonyítékaul hozható fel az a megfigyelés is, hogy laktáció során, a poliaminok prekursorát szolgáltató enzim, az argináz aktivitása is jelentősen növekszik (1.1. ábra). Ez az enzim-aktivitás fokozódás is hormon dependens jelenség (170). A tejfehérjék szintézisét stimuláló hormonok hatására az emlő epitel tenyésztet argináz aktivitása is erőteljesen fokozódik. A fokozott argináz aktivitás megjelenéséhez inzulinra és prolaktinra van szükség. Glukokortikoidok önmagukban nem befolyásolják a szöveti argináz aktivitást. A prolaktinnal kiváltott fokozott argináz aktivitás azonban hidrokortizonnal tovább fokozható (104).

Az argináznak a tejfehérjék szintézisében játszott szerepe mellett szól az a megfigyelés is, hogy arginin szegény mediumban tenyésztett emlőszövet nem reagál az említett három hormonra. Ha azonban a kultúrához ornitint is adnak, a három hormon hatására beindul a tejfehérjék szintézise (104). Jelzett argininnel végzett vizsgálatokban pedig igazolták, hogy az arginin ornitinen és putrescinen keresztül a spermidin biológiai prekursorának tekinthető.

Fenti megfigyelések alátámasztják azt az elképzelést, hogy a tejfehérjék szintézisének hormonális regulációja — egy közös mediátoron keresztül — a tejfehérjék szintézisében szerepet játszó hormonoknak a mediátor szintézisét katalizáló enzimekre gyakorolt, összehangolt hatásai révén valósul meg.

Számos közlemény számol be a poliaminok sejtmentes rendszerek fehérjeszintézisére gyakorolt hatásairól (2, 5, 19). Ezekből kiderül, hogy a poliaminok a polipeptid szintézis különböző lépéseit stimulálják. A stimulált lépések a következők: 1. a tRNS aminoacilációja; 2. a tRNS metilációja; 3. az amino-acil-tRNS valamint a poli U kötése a riboszómához; 4. az mRNS kötése a riboszómához; 5. a tRNS renaturációja.

A poliaminok stimuláló hatása legkifejezettebb alacsony Mg^{2+} koncentrációk mellett. Mivel a fenti reakcióban a poliaminok részlegesen helyettesíthetik az Mg^{2+} -ot — anélkül azonban, hogy az optimális Mg^{2+} koncentrációknál észlelt stimuláció határain túl is stimulálnák a reakciókat — a poliaminok Mg^{2+} -ot megtakarító hatásáról szokás beszélni. Magasabb poliamin koncentrációknál — és különösen magas spermin koncentrációnál — észlelt polipeptid szintézis gátlás oka valószínűleg a riboszómák precipitációjára vezethető vissza. Ezekben az esetekben — mint az RNS polimeráz rendszerekben is — a poliamin hatás milyensége sok tekintetben a rendszer ion-összetételétől függ.

Valószínű, hogy a poliaminoknak a már többször említett RNS-t és ri-

boszómákat stabilizáló hatása lényeges tényező a sejtmentes rendszerekben észlelt poliamin hatások tekintetében. Igarashi és Takeda (59) szerint a poliaminok Mg^{2+} távollétében is stimulálják az aminoacil-tRNS szintézist, bár a Mg^{2+} -tól való teljes függetlenség nem látszik kellően bizonyítottnak. A Mg^{2+} stimulált reakciókkal szemben, a poliaminok által stimulált reakciókban sem a pirofoszfát-ATP kicserélődési reakcióknak sem az aminoacil-tRNS-enzim komplex képződésének stimulációja nem következik be. Az sem ismeretes, hogy a tRNS Mg^{2+} és poliaminok jelenlétében végbemenő aminoacilációja mennyiben különbözik egymástól.

Morris és mtsai kiterjedten vizsgálták a poliaminok szerepét a bakteriális riboszómák struktúrájának és funkciójának fönntartásában (78). Kimutatták, hogy Mg^{2+} stöchiometrikus helyettesítése poliaminokkal mindaddig nem érinti a riboszómák in vitro polifenilalanin szintetizáló képességét, amíg a $Mg/RNS - P$ arány 0.1–0.11-nél alacsonyabb volt. A Mg^{2+} koncentráció egy kritikus szintje alatt azonban a riboszómák konformáció változást szenvednek és elvesztik biológiai aktivitásukat. Ámbár bizonyosnak látszik, hogy egy kritikus Mg^{2+} szint szükséges a riboszómák strukturális és funkcionális integritásának megőrzéséhez, in vivo körülmények között valószínű, hogy a di- vagy multivalens kation szükséglet jó részét poliaminok elégítik ki.

Egy másik olyan folyamat, ahol a poliaminok és a Mg^{2+} közös funkciókon osztozkodhatnak a riboszómák asszociációja az endoplazmatikus retikulum membránjaival (ERM) (77). Izolált patkány máj riboszómák ER-el történő asszociációját mind a Mg^{2+} mind a spermin stimulálja. E „rekonstituált mikro-szómák” hiánytalanul képesek voltak in vitro fehérjeszintézisre.

A poliaminok és a fehérje-szintézis kapcsolatával foglalkozó munkák áttekintése során az embernek könnyen támad az az érzése, hogy a poliaminok szerepe ebben a folyamatban nem esszenciális, nem is specifikus — hiszen sokszor helyettesíthetők anorganikus kationokkal. Más megfigyelések ugyanakkor ellentmondanak ennek a nézetnek. *Bacillus thuringiensis*-ből származó, sejtmentes fehérje-szintetizáló rendszer Mg^{2+} -tól és spermidintől egyaránt és abszolút mértékben függőnek bizonyult (17). Más esetben spermidin sokkal jobban stimulálta — valószínűleg transzlacionális szinten — a fág által irányított in vitro enzim szintézist, mint az optimális Mg^{2+} koncentráció (53). Hasonlóképpen *E. coli* és patkány májsejtekből származó sejtmentes rendszerek maximális polipeptid szintézise csak poliaminok jelenlétében volt elérhető (60). Úgy tűnik, hogy ezekben a rendszerekben a hatás sokkal inkább az aminoacil-tRNS riboszómához való kötésének, semmint a polipeptid kötések képződésének szintjén érvényesül.

Mielőtt a poliaminoknak e rendszerekre gyakorolt hatásával kapcsolatos kérdőjeleket megnyugtatóan feloldhatnók, elodázhatatlan feladat a sejtmentes rendszerek kation szükségletének felülvizsgálata.

Megemlítjük még, hogy poliamin depletált *coli* mutánsokban a poli-U által indukálható fenilalanin inkorporáció a polipeptidekbe erőteljesen csökken. E hatás független az RNS szintézistől és sokkal inkább a riboszómák vagy a hozzájuk kötött faktorok deficienciáján alapszik. A poliamin depletált sejtekből származó riboszóma profil poliamin suplementációra megváltozik (30).

A spermidin által *coli* sejtmentes rendszerben kiválható polipeptid szintézis fokozódás feltétele uracil jelenléte az mRNS-ben (61). Úgy tűnik tehát, hogy a poliaminok nemcsak a riboszómák konfigurációjára hatnak, hanem az mRNS-el is interakcióba lépnek.

A poliaminok dózis-függően stimulálják a nem hiszton kromoszomális fehérjék foszforilációját (63). Maximális hatás 0.2 mM sperminnel illetve 2.0 mM spermidinnel érhető el.

Spermin és spermidin, dózis-függően stimulálja a patkány agyak és kis-agyak neuronális és gliális magvainak aminosav inkorporációját. Maximális stimulációt 0.1 mM spermin és 1.0 mM spermidin okoz. Magasabb koncentrációk gátló hatásúak (37).

4.6. *A poliaminok és a ciklikus nukleotidok kapcsolata.* Mint már említettük, embrionális, regeneráló illetve a legkülönbélebb stimulusok hatására fokozott proliferációt mutató szövetekben a poliaminok bioszintézisének első lépését katalizáló enzim, az ODC aktivitása hatalmas mértékben növekszik. A ciklikus nukleotidoknak a sejtproliferáció biokémiai történéseiben való, az utóbbi években mind erőteljesebben hangoztatott részvétele vetette fel azt a lehetőséget, hogy a ciklikus nukleotidok a proliferációra jellemző fokozott poliamin szintézisben is regulatív tényezők. E feltételezés jogosultságát húzza alá az a megfigyelés, amely szerint a proliferáció G_1 fázisában bekövetkező i.e. cAMP szint növekedést közvetlenül követi az i.e. ODC aktivitás fokozódása (133). A két folyamat és rendszer kapcsolatának realitását támogató kísérleti eredmények szerint a szövetek ODC aktivitásának fokozódása ciklikus nukleotidokkal indukálható (6, 110, 124). Szövetek cAMP szintjének emelkedését kiváltó farmakonok illetve fizikai behatások az ODC aktivitás növekedését is létrehozzák. Így pl. metil-xantin származékok, amelyek a foszfodieszteráz gátlása révén növelik a szövetek cAMP szintjét, fokozzák a szövetek ODC aktivitását is (12, 13). Patkány mellékvesében kolinerg izgalmat kiváltó hűtés hatására bekövetkező szöveti cAMP szint növekedését az ODC aktivitás fokozódása követi (13).

Ezek az eredmények tovább erősítik a gyanút, hogy a sejtek cAMP szintjének gyors változása regulatív szerepet tölt be az ODC aktivitás és ezen keresztül a poliaminok bioszintézise szabályozásában. Előzetes vizsgálatok szerint a cAMP-nak a poliaminok bioszintézisében játszott regulatív szerepe a cAMP dependens protein-kináz aktiválásán keresztül valósul meg (13). Ez a nézet több lehetséges regulációs alternatíva feltételezését teszi lehetővé. Felvetődik pl. az a lehetőség, hogy az ODC molekula szintéziséért felelős mRNS transzkripcióját a riboszomális fehérjék foszforilációja teszi lehetővé. Második alternatíva szerint az ODC-specifikus mRNS transzkripciója a nukleáris hisztonok és nem-hiszton fehérjék foszforilációja révén valósul meg. Végül pedig felmerül az a lehetőség is, hogy az ODC aktivitás regulációja az enzim direkt foszforilálása révén történik (13).

A DNS dependens RNS szintézist és a fehérje szintézist befolyásoló farmakonokkal végzett vizsgálatok alapján a poliaminok cAMP szintjén történő regulációjának legvalószínűbb mechanizmusát az az elképzelés adja, amely szerint a cAMP dependens proteinkináz aktiválás révén fokozódik a fehérjék foszforilációja és ez az ODC-specifikus mRNS transzkripcióját teszi lehetővé (13).

Ez az összefoglaló is érzékelteti azt a bizonytalanságot, amely ma még a poliaminok fiziológiai szerepének megítélésében uralkodik. A biokémiai hatásmechanizmus mikéntjét feltárni igyekvő kísérletekből levonható következtetések két- vagy többértelműsége, a kísérleti adatok ellentmondásossága ma még komoly akadálya a poliaminok biológiai jelentősége egzakt fölmérhetőségének.

A poliaminok ubiquiter jelenléte az élővilágban valamint a poliamin metabolizmus — a sejttanyagszere számos és sokszor perdöntő biokémiai történést kísérő, adott esetben rendkívül markáns — változása és hajlékonysága azonban csaknem kétségtelenné teszi, hogy a poliaminok esetében a sejttanyagszere szabályozás esszenciális tényezőivel állunk szemben. E vegyületcsalád biológiai szerepének pontos körülhatárolása a közeljövő feladatát képezi.

IRODALOM

1. ANDERSON, G., and HEBY, O.: Polyamine and nucleic acid concentration in Ehrlich ascites carcinoma cells and liver of tumor bearing mice at various stages of tumor growth, *J. Nat. Cancer Inst.* 48, 165 (1972).
2. BACARACH, U.: Function of naturally occurring polyamines, Academic Press, New York and London (1973).
3. BACHRACH, U., and BEN-JOSEPH, M.: Tumor cells, polyamines and polyamine derivatives. (In: Polyamines in normal and neoplastic growth; ed.: Russel, D. H.) Raven Press, New York 1973. pp. 15.
4. BACHRACH, U., and WIENER, H.: Polyamines in normal and virus-transformed chick embryo fibroblast, *Cancer Res.* 34, 1577 (1974).
5. BACHRACH, U., DON, S., WIENER, M.: Occurrence of polyamines in myxoviruses, *J. Gen. Virol.* 22, 451 (1974).
6. BECK, W. T., and CANELLAKIS, E. S.: The in vivo chemical stimulation of hepatic ornithine decarboxylase activity: Modifications of activity at the transcriptional and post-transcriptional levels of protein synthesis. (In: Polyamines in normal and neoplastic growth; ed.: Russel, D. H.) Raven Press, New York 1973. pp. 261.
7. BERTOSI, F., BAGNI, N., MORUZZI, G., and CALDARERA, C. M.: Spermine as a new growth promoting substance for *Elianthus tuberosus* (Jerusalem artichoke) in vitro, *Experientia* 21, 80 (1965).
8. BLASCHKO, H.: The natural history of amine oxidases, *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.*, 70, 84 (1974).
9. BOREK, E.: Methylation reactions as possible control factors in protein synthesis. (In: Exploitable Molecular Mechanisms and Neoplasia) Williams and Williams, Baltimore 1969. p. 163.
10. BRANDT, J. T., PIERCE, D. A., FAUSTO, N.: Ornithine decarboxylase activity and polyamine synthesis during kidney hypertrophy, *Biochim. Biophys. Acta* 279, 184 (1972).
11. BROWN, D. D., LITNA, E.: RNA synthesis during the development of *Xenopus laevis*, the South African clawed toad, *J. Molec. Biol.* 8, 669 (1964).
12. BYUS, C. V., and RUSSEL, D. H.: Effects of methylxanthine derivatives on cyclic AMP levels and ornithine decarboxylase activity of rat tissues *Life Sci.* 15, 1991 (1974).
13. BYUS, C. V., and RUSSEL, D. H.: Ornithine decarboxylase activity: control by cyclic nucleotides, *Science* 187, 650 (1975).
14. CALDARERA, C. M., BARBIROLI, B., MORUZZI, G.: Polyamines and nucleic acids during development of the chick embryo, *Biochem. J.* 97, 84 (1965).
15. CALDARERA, C. M., MORUZZI, G.: Polyamines and nucleic acid metabolism in the chick embryo, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 171, 709 (1970).
16. CATER, D. B., HOLMES, B. E., MEE, L. K.: The effect of growth hormone upon cell division and nucleic acid synthesis in the regenerating liver of the rat, *Biochem. J.* 66, 482 (1957).
17. CHANGCHEN, L. M., ARONSON, J. N.: Spermidine requirement for *Bacillus thuringiensis*, *J. Bacteriol.* 103, 734 (1970).
18. CHIN, J. F., SUNG, S. C.: Effect of spermidine on the activity of DNA polymerases, *Biochim. Biophys. Acta* 281, 535 (1972).
19. COHEN, S. S.: Introduction to the polyamines, Prentice-Hall, Inc, Englewood Cliffs, New Jersey 1971.
20. COHEN, S. S.: Some roles of polyamines in microbial physiology, *Adv. Enzyme Regul.* 10, 207 (1972).
21. COHEN, S. S., and LICHTENSTEIN, J.: Polyamines and ribosome structure, *J. Biol. Chem.* 235, 2112 (1960).

22. COHEN, S., O'MALLEY, B. W., STASTNY, M.: Estrogenic induction of ornithine decarboxylase in vivo and in vitro, *Science* 170, 336 (1970).
23. COTTER, R. J., MCPHIE, P., GRATZER, W. B.: Internal organisation of the ribosome, *Nature* 216, 864 (1967).
24. DAVIS, G. R. F.: Putrescine and spermidine as growth-promoting substances for the saw-toothed grain beetle, *Oryzaephilus surinamensis*, *Comp. Biochem. Physiol.* 19, 619 (1966).
25. DAVIS, G. R. F.: Growth and development of prairie grain wireworm *Ctenicera destructor* Brown (Coleoptera: Elateridae), on synthetic diets, *Canad. J. Zool.* 44, 995 (1966).
26. DION, A. S., COHEN, S. S.: Polyamines in the synthesis of bacteriophage deoxyribonucleic acid, *J. Virol.* 9, 423 (1972).
27. DION, A. S., HERBST, E. J.: Polyamine changes during development of *Drosophila melanogaster*, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 171, 723 (1970).
28. DRUE DENTON, M., GLAZER, H. S., WALLE, T., ZELNER, D. C., and SMITH, F. G.: Clinical application of new methods of polyamine analysis. (In: *Polyamines in normal and neoplastic growth*; ed.: Russel, D. H.) Raven Press, New York 1973, p. 373.
29. DYKSTRA, W. G., JR. HERBST, E. J.: Spermidine in regenerating liver: Relation to rapid synthesis of RNA, *Science* 149, 428 (1965).
30. ECHANDI, G., ALGRANATI, D.: Protein synthesis and ribosomal distribution in a polyamine auxotroph of *Escherichia coli*: Studies in cell-free systems, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 62, 313 (1975).
31. ELORANTA, T. O., MAENPAA, P. H., RAINA, M.: Synthesis of hepatic polyamines, RNA and S-adenosylmethionine in normal and oestrogen-treated chickens, *biochem. J.* 154, 95 (1976).
32. FAUSTO, N.: Studies on ODC activity in normal and regenerating liver, *Biochim. Biophys. Acta* 190, 193 (1969).
33. FAUSTO, N.: RNA and amine synthesis in the liver of rats given injections of thioacetamide, *Cancer Res.* 30, 1947 (1970).
34. FAUSTO, N.: RNA metabolism in isolated perfused normal and regenerating livers: Polyamine effects, *Biochim. Biophys. Acta* 281, 543 (1972).
35. FILLINGAME, R. H., MORRIS, D. R.: Polyamine accumulation during lymphocyte transformation and its relation to the synthesis, processing and accumulation of ribonucleic acids, *Biochemistry* 12, 4479 (1973).
36. FIUME, L., WIELAND, TH.: Amanitins. Chemistry and action *FEBS Lett.* 8, 1 (1970).
37. FLEISCHER-LAMBROPOULOS, H., SARKANDER, H. I., and BRADE, W. P.: Effects of polyamines on amino acid incorporation into protein by cerebral and cerebellar as well as „neuronal” and „glial” nuclei of rat brain, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 63, 792 (1975).
38. FLIN, I., PETTIJOHN, D. E.: Polyamines stabilise DNA folds, *Nature* 253, 62 (1973).
39. FRANZE-FERNANDEZ, M., FONTANIRE, S.: Effect of amino acids on the alpha-amanitin-insensitive RNA polymerase activity in the isolated nuclei of Ehrlich ascites cells, *Biochim. Biophys. Acta* 331, 71 (1973).
40. FRESCO, J. P., ADAMS, S., ASCIONE, R., HENLEY, D., LINDEHE, T.: Tertiary structure in transfer ribonucleic acids; *Cold Spring Harbor Symp. Quart. Biol.* 31, 527 (1966).
41. GIBSON, W., ROIZMAN, B.: Compartmentalisation of spermine and spermidine in the herpes simplex virion, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 68, 2818 (1971).
42. HACKER, B.: The role of polyamines during tRNA processing in leukemic cells (In: *Polyamines in normal and neoplastic growth*; ed.: RUSSEL, D. H.) Raven Press, New York 1973, p. 55.
43. HAGER, S. E. and JONES, M. E.: Initial steps in pyrimidine synthesis in Ehrlich ascites carcinoma in vitro. The synthesis of carbamyl phosphate by a soluble, glutamine dependent carbamyl phosphate synthetase, *J. Biol. Chem.* 242, 5667 (1967).
44. HAM, R. G.: Putrescine and related amines as growth factors for a mammalian cell line, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 14, 34 (1964).
45. HANNONEN, P., JÄNNE, J., RPIINA, A.: Separation and purification of S-adenosylmethionine decarboxylase and spermidine and spermine synthase from rat liver, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 46, 341 (1972).
46. HANNONEN, P., RAINA, A., JÄNNE, J.: Polyamine synthesis in regenerating rat liver, *Biochim. Biophys. Acta* 273, 84 (1972).
47. HARIK, S. I., HOLLENBERG, M. D., SNYDER, S. H.: Alfa-hydrazinoornithine blocks net synthesis of putrescine but not of RNA and DNA, *Nature* 249, 250 (1974).
48. HEBY, O., AGRELL, I.: Observations on the affinity between polyamines and nucleic acids, *Hoppe-Seyleirs Z. Physiol. Chem.* 352, 29 (1971).

49. HEBY, O. and RUSSEL, D. H.: Changes in polyamine metabolism in tumor cells and host tissues during tumor growth and after treatment with various anticancer agents (In: Polyamines in normal and neoplastic growth; ed.: Russel, D. H.) Raven Press, New York 1973. p. 221.
50. HEBY, O., MORTON, J. L., WILSON, B. C. and MARTINER, M. H.: Polyamine metabolism in a rat brain tumor cell line: Its relationship to the growth rate, *J. Cell Physiol.* 86, 511 (1975).
51. HERBST, E. J., SNELL, E. E.: Putrescine and related compounds as growth factors for, *Hemophilus parainfluenzae* 7901, *J. Biol. Chem.* 181, 47 (1949).
52. HERNANDEZ, O., BALLESTEROS, L. M., MENDEZ, D., ROSADO, A.: Polyamine synthesis and polysome pattern in the rat uterus during the estrus cycle, *Endocrinology* 92, 1107 (1973).
53. HERRLICH, P., SCHERZINGER, E., SCHWEIGER, M.: Differential influence of spermidine on DNA directed enzyme synthesis in vitro, *Mol. Gen. Genet.* 114, 31 (1970).
54. HOGAN, B. L. M., MURDEN, S., BLACKLEDGE, A.: The effect of growth conditions on the synthesis and degradation of ornithine decarboxylase in cultured hepatoma cells, (In: Polyamines in normal and neoplastic growth; ed.: Russel, D. H.) Raven Press, New York 1973. p. 239.
55. HOGAN, B. L. M., SHIELDS, R. and CURTIS, D.: Effect of cyclic nucleotides on the induction of ornithine decarboxylase in BHK cells by serum and insulin, *Cell* 2, 229 (1974).
56. HÖLTTÄ, E. and PULKKINEN, P., ELFVING, K., JÄNNE, J.: Oxidation of polyamines by diamine oxidase from human seminal plasma, *Biochem. J.* 145, 373 (1975).
57. HÖLTTÄ, E. and RAINA, A.: Stimulation of ornithine decarboxylase and nuclear RNA polymerase activity in rat liver by glucagon and dibutyryl cyclic AMP, *Acta Endocrinol* 73, 794 (1973).
58. HÖLTTÄ, E., SINERVIRTA, R., JÄNNE, J.: Synthesis and accumulation of polyamines in rat liver regenerating after treatment with carbon tetrachloride, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 54, 350 (1973).
59. IGARASHI, K., MATSUZAKI, K., TAKEDA, Y.: Aminoacyl transfer RNA formation, *Biochim. Biophys. Acta* 262, 476 (1972).
60. IGARASHI, K., SUGAWARA, K., IZUMI, I., NAGAYAMA, C., MIROSE, S.: Effect of polyamines on polyphenylalanine synthesis by *Escherichia coli* and rat liver ribosomes, *Eur. J. Biochem.* 48, 495 (1974).
61. IGARASHI, K., WATANABE, Y., HIROSE, S.: Dependency of spermidine stimulation of polypeptide synthesis on the uracil content of mRNA, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 67, 407 (1975).
62. IKEMURA, T.: The relation between the strong binding of spermine to polynucleotides and the conformation of polynucleotides, *Biochim. Biophys. Acta* 195, 389 (1969).
63. IMAI, M., SHIMOYAMA, M., YAMAMOTO, S.: Effect of polyamines on phosphorilations of non-histone chromatin from hog liver, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 66, 856 (1975).
64. IMAOKA, N., MATSUOKA, J.: Isolation and identification of spermic acid, N,N-bis/2-carboxyethyl/-1,4-diaminobutane, from bovine brain, *J. Neurochem.* 22, 859 (1974).
65. JÄNNE, J.: Studies on the biosynthetic pathway of polyamines in rat liver, *Acta Physiol. Scand., Suppl.* 300, 1 (1967).
66. JÄNNE, J., HÖLTTÄ, E.: Regulation of ornithine decarboxylase activity by putrescine and spermidine in rat liver, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 61, 449 (1974).
67. JÄNNE, J., RAINA, A.: Stimulation of spermidine synthesis in regenerating rat liver: Relation to increased ODC activity, *Acta Chem. Scand.* 22, 1349 (1968).
68. JÄNNE, J., RAINA, A.: On the stimulation of ODC and RNA polymerase activity in rat liver after treatment with growth hormone, *Biochim. Biophys. Acta* 174, 769 (1969).
69. JÄNNE, J., RAINA, A., SIIMES, M.: Spermidine and spermine in rat tissues at different ages, *Acta Physiol. Scand.* 62, 352 (1964).
70. JÄNNE, J., RAINA, A., SIIMES, M.: Mechanism of stimulation of polyamine synthesis by growth hormone in rat liver, *Biochim. Biophys. Acta* 166, 419 (1968).
71. JÄNNE, J., SCHENONE, A., WILLIAMS-ASHMAN, H. G.: Separation of two proteins required for synthesis of spermidine from S-adenosyl-1-methionine and putrescine in rat prostate, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 42, 758 (1971).
72. KAISER, D., TABOR, H., TABOR, C. W.: Spermine protection of coliphage DNA against breakage by hydrodynamic shear, *J. Mol. Biol.* 6, 141 (1963).
73. KAKIMOTO, Y., NAKAJIMA, T., KUMON, A., MATSUOKA, Y., IMAOKA, N., SANO, I.: Putrescine, N-(4-aminobutyl)-3-aminopropionic acid. An amino acid occurring uniquely in the mammalian central nervous system, *J. Biol. Chem.* 244, 6003 (1969).

74. KAPELLER-ADLER, R.: *Amine oxydases and methods for their study*, Wiley-Interscience, New York 1970.
75. KAY, J. E., PEGG, A. E.: Effect of inhibition of spermidine formation on protein and nucleic acid synthesis during lymphocyte activation, *FEBS Lett.* 29, 301 (1973).
76. KAYE, A. M., ICEKSON, I., LINDNER, H. R.: Stimulation by estrogens of ornithine decarboxylase in the immature rat uterus, *Biochim. Biophys. Acta* 252, 150 (1971).
77. KHAWAJA, J. A., RAINA, A.: Effect of spermine on the attachment of free ribosomes to endoplasmic reticulum membranes in vitro, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 41, 512 (1970).
78. KIMES, B. W., MORRIS, D. R.: Cations and ribosome structure, *Biochemistry* 12, 442 (1973).
79. KOBAYASHI, Y., KUPELIAN, J., MAUDSLEY, D. V.: Ornithine decarboxylase stimulation in rat ovary by luteinizing hormone, *Science* 172, 379 (1971).
80. KORNBERG, T., LOCKWOOD, A., WORCEL, A.: Replication of *Escherichia coli* chromosome with a soluble enzyme system, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 71, 3189 (1974).
81. KOSTYO, J. L.: Changes in polyamine content of rat liver following hypophysectomy and treatment with growth hormone, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 23, 150 (1966).
82. KREMZNER, L. T., BARRETT, R. E., TERRANO, M. J.: Polyamine metabolism in the central and peripheral nervous system, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 171, 735 (1970).
83. KREMZNER, L. T.: Polyamine metabolism in normal and neoplastic neural tissue. (In: *Polyamines in normal and neoplastic growth*; ed.: Russel, D. H.) Raven Press, New York 1973. p. 27.
84. LADENBURG, A. and ABEL, J.: Ueber das Aethylenimin (Spermin), *Ber Deutsch. Chem. Ges.* 21, 758 (1888).
85. LEBOY, P. S.: Stimulation of soluble ribonucleic acid methylase activity by polyamines, *Biochemistry* 9, 1577 (1970).
86. LEBOY, P. S.: Influence of polyamines and salts on changing of tRNA methylation, *FEBS Lett.* 16, 117 (1971).
87. LEVINE, J. M., NICHOLSON, W. E., LIDDLE, G. W., ORTH, D. N.: Stimulation of adrenal ornithine decarboxylase by adrenocorticotrophin and growth hormon, *Endocrinology* 92, 1089 (1973).
88. LEEUWENHOEK, A.: Observation D. Anthonii Leuwenhoek, de Natis e semine genitali *Animalculis*, *Phil. Trans.* 12, 1040 (1678).
89. LEVY, C. C., HIETER, P. A., LEGENDRE, S. M.: Evidence for the direct binding of polyamines to ribonuclease that hydrolyzes ribonucleic acid at uridylic acid residues, *J. Biol. Chem.* 249, 6762 (1974).
- 89a) LIQUORI, A. M., CONTANTINO, L., CRESENZI, V., ELIA, V., GIGLIO, E., PULITI, R., DE SANTIS SAVINO, M., VITAGLIANO, V.: Complexes between DNA and polyamines: A molecular model, *J. Mol. Biol.* 24, 113 (1967).
90. MORI, M., ISHIDA, H. and TATIBANA, M.: Aggregation states and catalytic properties of the multienzyme complex catalyzing the initial steps of pyrimidine biosynthesis in rat liver, *Biochemistry* 14, 2622 (1975).
91. MAAS, W. K., LEIFER, Z., POINDEXTER, J.: Studies with mutants blocked in the synthesis of polyamines, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 171, 957 (1970).
92. MACINDOE, J. M., TURKINGTON, R. W.: Hormonal regulation of spermidine formation during spermatogenesis in the rat, *Endocrinology* 92, 595 (1973).
93. MALT, R. A.: *Compensatory renal hypertrophy*, ed.: Nowinsky, W. W. and Goss, R. J., Acad. Press New York, 1969. p. 131.
94. MANEN, C. A., RUSSEL, D. H.: Relationship of ornithine decarboxylase to RNA polymerase I activity, *Life Science* 17, 1769 (1976).
95. MARTON, J. L., VAUGHN, G. J., HAWK, I. A., LEVY, C. C., RUSSEL, D. H.: Elevated polyamine levels in serum and urine of cancer patients: Detection by a rapid automated technique utilizing an amino acid analyzer, (In: *Polyamines in normal and neoplastic growth*; ed.: Russel, D. H.) Raven Press New York 1973. p. 367.
96. MORI, M., TATIBANA, M.: Glutamine-dependent carbamoyl phosphate synthetase: Polyamines inhibit the activity and modify the activating effect of 5-phosphoribosyl 1-pyrophosphate, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 67, 287 (1975).
97. MORRIS, D. R., HANSEN, M. T.: Influence of polyamine limitation on the chain growth rates of beta-galactosidase and of its messenger ribonucleic acid, *J. Bacteriol.* 116, 588 (1973).
98. MORUZZI, G., BARBIROLI, B., CALDARERA, C. M.: Polyamines and nucleic acid metabolism in chick embryo, *Biochem. J.* 107, 609 (1968).
99. MORUZZI, G., BARBIROLI, B., MORUZZI, M. L.: The effect of spermine on transcription of

- mammalian chromatin by mammalian DNA dependent RNA polymerase, *Biochem. J.* 146, 697 (1975).
100. MORUZZI, G., CALDARERA, C. M., CATI, A.: The biological effect of polyamines on heart RNA and histone metabolism, *Mol. Cell Biochem.* 3, 153 (1974).
 101. MOULTON, B. C., LEONARD, S. L.: Hormonal effect on spermidine levels in male and female reproductive organs of the rat, *Endocrinology* 84, 1461 (1969).
 102. NUSS, D. L.: Stimulation of in vitro transcription by spermidine and KCl, *Diss. Abstr. Int.* 34, 1869 (1973).
 103. O'BRIEN, T. G., SIMSIMAN, R. C. and BOUTWELL, R. K.: Induction of the polyamine-biosynthetic enzymes in mouse epidermis by tumor-promoting agents, *Cancer Res.* 35, 1662 (1975).
 104. OKA, T., PERRY, J. W.: Arginase affects lactogenesis through its influence on the biosynthesis of spermidine, *Nature* 250, 660 (1974).
 105. OKA, T., PERRY, J. W.: Spermidine as a possible mediator of glucocorticoid effect on milk protein synthesis in mouse mammary epithelium in vitro, *J. Biol. Chem.* 249, 7647 (1974).
 106. PEGG, A. E., LOCKWOOD, D. H., WILLIAMS-ASHMAN, H. G.: Concentration of putrescine and polyamines and their enzymic synthesis during androgen induced prostatic growth, *Biochem. J.* 117, 17 (1970).
 107. PEGG, A. E., WILLIAMS-ADHMAN, H. G.: On the role of S-adenosyl-L-methionine in the biosynthesis of spermidine by rat prostate, *J. Biol. Chem.* 244, 682 (1969).
 108. POHJANPELTO, P.: Putrescine shortens the S-period in human fibroblast, *Biomedicine* 23, 350 (1975).
 109. POHJANPELTO, P., RAINA, A.: Identification of a growth factor produced by human fibroblast in vitro as putrescine, *Nature (New Biol.)* 235, 247 (1972).
 110. PRESLOCK, J. P. and HAMPTON, J. K.: Ornithine decarboxylase stimulation by 3',5'cyclic AMP in oviduct of coturnix quail, *Amer. J. Physiol.* 225, 903 (1974).
 111. RAINA, A.: Studies on the determination of spermidine and spermine and their metabolism in the developing chick embryo, *Acta Physiol. Scand. Suppl.* 60, 218 (1963).
 112. RAINA, A., HANNONEN, A. P.: Biosynthesis of spermidine and spermine in regenerating rat liver: Some properties of the enzyme systems involved, *Acta Chem. Scand.* 24, 3061 (1970).
 113. RAINA, A. and HÖLTÄ, E.: The effect of growth hormone on the synthesis and accumulation of polyamines in mammalian tissues, (In: *Growth and Growth Hormone*; eds.: Pencile, A., Müller, E. E.) *Excerpta Med. Int. Congress Series No. 244*, Amsterdam 1972, p. 145.
 114. RAINA, A., JANSEN, M., COHEN, S. S.: Polyamines and accumulation of RNA in some polyauxotrophic strains of *Escherichia coli*, *J. Bacteriol.* 94, 1684 (1967).
 115. RAINA, A., JÄNNE, J.: Polyamines and the accumulation of RNA in mammalian systems, *Fed. Proc.* 29, 1568 (1970).
 116. RAINA, A., JÄNNE, J.: Effect of polyamines on the accumulation of newly synthesised RNA in Ehrlich ascites cells in vitro, *Ann. Med. Exp. Biol. Fenn.* 46, 536 (1968).
 117. RAINA, A., JÄNNE, J.: Physiology of the natural polyamines putrescin, spermidine, spermine, *Medical Biology*, 53, 121 (1975).
 118. RAINA, A., JÄNNE, J., HANNONEN, P., HÖLTÄ, E.: Synthesis and accumulation of polyamines in regenerating rat liver, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 171, 697 (1970).
 119. RAINA, A., JANNE, J., HANNONEN, P., HÖLTÄ, E., AHONEN, J.: Polyamine synthetasing enzymes in regenerating liver and in experimental granuloma, (In: *Polyamines in normal and neoplastic growth*; ed.: Russel, D. H.) Raven Press, New York 1973, p. 167.
 120. RAINA, A., JANNE, J., SIMES, M.: Polyamines and nucleic acids in regenerating rat liver, *Abstr. 2nd. FEBS Meeting*, p. 114. Vienna 1965.
 121. RAINA, A., JANNE, J., SIMES, M.: Stimulation of polyamines synthesis in relation to nucleic acids in regenerating rat livers, *Biochim. Biophys. Acta* 123, 197 (1966).
 122. RAINA, A., TELARANTA, T.: Association of polyamines and RNA in isolated subcellular particles from rat liver, *Biochim. Biophys. Acta* 138, 200 (1967).
 123. REYNOLDS, A. F., RUSSEL, D. H.: Stimulation of (¹⁴C)-uridine incorporation into RNA by intracerebral injection of putrescine, *Brain. Res.* 61, 452 (1973).
 124. RICHMAN, R., DOBBINS, C., VOINA, S., UNDERWOOD, L., MAHAFFEE, D., GITELMAN, H. J., VAN WYK, J., NEY, R. L.: Regulation of adrenal ornithine decarboxylase by adrenocorticotrophic hormone and cyclic AMP, *J. Clin. Invest.* 52, 2007 (1973).
 125. RUSSELL, D. H.: Putrescine and spermidine biosynthesis in growth and development, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 171, 772 (1970).

126. RUSSEL, D. H.: Increased polyamine concentrations in the urine of human cancer patients, *Nature* 233, 144 (1971).
127. RUSSEL, D. H. and LEVY, C. C.: Polyamine accumulation and biosynthesis in a mouse L1210 leukemia, *Cancer Res.* 31, 248 (1971).
128. RUSSEL, D. H., LEVY, C. C., SCHIMPF, S. C., HAWK, I. A.: Urinary polyamines in cancer patients, *Cancer Res.* 31, 1555 (1971).
129. RUSSEL, D. H.: Polyamines in normal and neoplastic growth; ed.: RUSSEL, D. H., Raven Press, New York 1973.
130. RUSSEL, D. H., MCVICKER, T. A.: Polyamines in the developing rat and in supportive tissues, *Biochim. Biophys. Acta* 259, 247 (1972).
131. RUSSEL, D. H., SNYDER, S. H.: Amine synthesis in rapidly growing tissues: Ornithine decarboxylase activity in regenerating rat liver, chick embryo and various tumors, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 60, 1420 (1968).
132. RUSSEL, D. H., SNYDER, S. H.: Amine synthesis in regenerating rat liver: Extremely rapid turnover of ornithine decarboxylase, *Mol. Pharmacol.*, 5, 253 (1969).
133. RUSSEL, D. H., STAMBROAK, P. J.: Cell cycle specific fluctuation in adenosine 3',5'-cyclic monophosphate and polyamines of chinese hamster cells, *Proc. Nat. Acad. Sci.* 72, 1482 (1974).
134. RUSSEL, D. H., TAYLOR, R. L.: Polyamine synthesis and accumulation in the castrated rat uterus after estradiol stimulation, *Endocrinology* 88, 1397 (1971).
135. SANFORD, E. J., DRAGO, J. R., ROHNER, T. J., KESSLER, G. F., SHEKAN, L. and LIPTON, A.: Preliminary evaluation of urinary polyamines in diagnosis of genitourinary tract malignancy, *J. Urol.* 113, 218 (1975).
136. SCHMUKLER, M., JEWETT, P. B., LEVY, C. C.: The effect of polyamines on a residue specific human plasma ribonuclease, *J. Biol. Chem.* 250, 2205 (1975).
137. SCHREINER, P.: Ueber eine neue organische Basis in thierischen Organismen, *Liebig Ann. Chem.* 194, 68 (1878).
138. SCHROCK, T. R., OAKMAN, N. J., BUCHER, N. L. R.: ODC in relation to liver growth, *Fed. Proc.* 28, 599 (1969).
139. SEILER, N., ASHOV, A.: Beziehungen zwischen Polyaminen und Nucleinsäuren, *Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem.* 353, 623 (1972).
140. SHUGART, L., CHASTAIN, B. H., NORELLI, G. D., STULBERG, M. D.: Restoration of aminoacylation activity of undermethylated transfer RNA by in vitro methylation, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 31, 404 (1968).
141. SIMES, M.: Studies on the metabolism of 1,4 ¹⁴C spermidin and 1,4 ¹⁴C-spermine in the rat, *Acta Physiol. Scand. Suppl* 298, 1 (1967).
142. SIMES, M., JANNE, J.: Polyamines and their biosynthesis in Ehrlich ascites cells, *Acta Chem. Scand.* 21, 815 (1967).
143. SINGH, V. K., SUNG, S. C.: Studies on isolated brain nuclear DNA-dependent RNA polymerase, *Can. J. Biochem.* 50, 299 (1972).
144. SNEATH, P. H. A.: Putrescine as an essential growth factor for a mutant of *Aspergillus nidulans*, *Nature* 175, 818 (1955).
145. SNYDER, S. M., KREUZ, D. S. and MEDINA, V. J.: Polyamine synthesis and turnover in rapidly growing tissues, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 171, 749 (1970).
146. STEON, R., GONANO, F., FLEISSNER, E., LITANER, V. Z.: Coding properties of methyl-deficient phenylalanyl transfer ribonucleic acid from *Escherichia coli*, *Biochemistry* 9, 10 (1970).
147. STEVENS, L.: The binding of spermine to the ribosomes and ribosomal ribonucleic acid from *Bacillus stearothermophilus*, *Biochem. J.* 113, 117 (1969).
148. STEVENS, L.: The biochemical role of naturally occurring polyamines in nucleic acid synthesis, *Biol. Rev.* 45, 1 (1970).
149. STEVENS, L., LESLY, M., MCCARON, C.: Interaction of polyamines with ribosomes and RNA, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 171, 827 (1970).
150. STEVENS, L., PASCOE, G.: The location of spermine in bacterial ribosomes as indicated by 1,5-difluoro-2,4-dinitrobenzene and by ethidium bromide, *Biochem. J.* 128, 279 (1972).
151. STIRPE, F., NOVELLO, F.: Factors affecting the activity of RNS solubilized from rat liver nuclei, *Eur. J. Biochem.* 15, 505 (1970).
152. TABOR, M.: The protective effect of spermidine and other polyamines against heat denaturation of desoxyribonucleic acid. *Biochemistry* 1, 496 (1962).
153. TABOR, M., TABOR, C. W.: Biosynthesis and metabolism of 1,4-diaminobutane, spermidine, spermine and related amines, *Adv. Enzymol.* 36, 203 (1972).
154. TAKEDA, Y., ONISHI, T.: Binding of transfer RNA to polyamines in preference to Mg²⁺, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 63, 611 (1975).

155. TATIBANA, M. and ITO, K.: Carbamyl phosphate synthetase of the hematopoietic mouse spleen and the control of pyrimidine biosynthesis, *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 26, 221 (1967).
156. TATIBANA, M. and ITO, K.: Control of pyrimidine biosynthesis in mammalian tissues. I. Partial purification and characterization of glutamine utilizing carbamylphosphate synthetase of mouse spleen and its tissue distribution, *J. Biol. Chem.* 244, 5403 (1969).
157. TATIBANA, M. and SHIGESADA, K.: Control of pyrimidine biosynthesis in mammalian tissues. II. Regulation of glutamine-dependent carbamyl phosphate synthetase: Inhibition by uridine triphosphate, *J. Biochem (Tokyo)* 72, 549 (1972).
158. TATIBANA, M. and SHIGESADA, K.: Control of pyrimidine biosynthesis in mammalian tissue. IV. Requirements of a glutamine-dependent magnesium ion as an essential activator, *J. Biochem (Tokyo)* 72, 537 (1972).
159. VAUQUELIN, L. N.: Experiences sur le sperme human, *Ann. Chim.* 9, 64 (1791).
160. WALLE, T.: Gas chromatography — mass spectrometry of di and polyamines in human urine. Identification of monoacetyl-spermidine as a major metabolic product of spermidine in a patient with acute myelocytic leukemia, (In: Polyamines in normal and neoplastic growth; ed.: Russel, D. H.) Raven Press, New York 1973. p. 355.
161. WEBER, G., QUEENER, S. F. and MORRIS, H. P.: Imbalance in ornithine metabolism in hepatomas of different growth rates as expressed in behavior of l-ornithine carbamyl transferase activity, *Cancer Res.* 32, 1933 (1972).
162. WEINBREN, K.: Regeneration of the liver, *Gastroenterology* 37, 657 (1959).
163. WHITE, A. P., HANDLER, P. and SMITH, A. L.: Principles of biochemistry, 5th Ed. p. 673., McGraw-Hill Book Company, New York, 1973.
164. WICKBER, W., SCHEKMAN, R., GEIDER, K., KORNBER, A.: A new form of DNA polymerase III and a copolymerase replicate a long, single-stranded primer-template, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 704, 1764 (1973).
165. WILLIAMS-ASHMAN, H. G., JANNE, J., COPPOC, G. L., GEROGH, M. E., SHENONE, A.: New aspects of polyamine biosynthesis in eukaryotic organism, (In: *Adv. Enzyme Regul.* vol. 10.; ed.: WEBER, G.) Pergamon Press, New York 1972.
166. WILLIAMS-ASHMAN, H. G., COPPOC, G. L., SCHENONE, A. and WEBER, G.: Aspects of polyamine biosynthesis in normal and malignant eukaryotic cells, (In: Polyamines in normal and neoplastic growth; ed.: Russel, D. H.) Raven Press, New York 1973. p. 181.
167. WILLIAMS-ASHMAN, H. G., COPPOC, G. L., WEBER, G.: Imbalance in ornithine metabolism in hepatomas of different growth rates as expressed in formation of putrescine, spermidine and spermine, *Cancer Res.* 32, 1924 (1972).
168. WILLIAMS-ASHMAN, H. G., PEGG, A. E., LOCKWOOD, D. M. Mechanism and regulation of polyamine and putrescine biosynthesis in eukaryotic organisms (In: *Adv. Enzyme Regul.* vol. 10.; ed.: Weber, G.) Pergamon Press, New York 1972.
169. WINDELL, C. C. and TATA, J. R.: Additive effects of thyroid hormone, growth hormone and testosterone on deoxyribonucleic acid-dependent ribonucleic acid, polymerase in rat liver nuclei, *Biochem. J.* 98, 621 (1966).
170. YIP, M. C. M. and KNOX, W. E.: Function of arginase in lactating mammary gland, *J. Biochem.* 127, 893 (1972).
171. YOUNG, D. V., SRINIVASAN, P. R.: Growth of ribonucleic acid bacteriophage f2 in a conditional putrescine auxotroph of *Escherichia coli*, *J. Bacteriol.* 117, 1280 (1974).
172. ZILLIG, W., KRONE, W., ALBERS, M.: Untersuchungen zur Biosynthese der Proteine, III. Beitrag zur Kenntnis der Zusammensetzung und Structur der Ribosomen, *Hoppe Seylers Z. Physiol. Chem.* 317, 131 (1959).

A tárgyira vonatkozó fontosabb könyvek és összefoglaló közlemények

Könyvek:

1. BACHRACH, U.: Function of naturally occurring polyamines. Academic Press, New York and London 1973.
2. COHEN, S. S.: Introduction to the polyamines. Prentice-Hall, Inc, Englewood Cliffs, New Jersey 1971.
3. RUSSELL, D. H.: Polyamines in normal and neoplastic growth. Raven Press, Publishers, New York 1973.

Összefoglaló közlemények:

1. JÄNNE, J.: Studies on the biosynthetic pathway of polyamines in rat liver. *Acta Physiol. Scand., Suppl.* 300, 1—71 (1967).
2. RAINA, A. and JÄNNE, J.: Physiology of the natural polyamiamines, putrescine, spermidine and spermine. *Medical Biology* 53, 121—147 (1975).
3. SIMES, M.: Studies on the metabolism of 1,4-¹⁴C-spermidine and 1,4-¹⁴C-spermine in the rat. *Acta Physiol. Scand. Suppl.* 298, 1—66 (1967).
4. SMITH, T. A.: The occurrence, metabolism and function of amines in plants. *Biol. Rev.* 46, 201—241 (1971).
5. SYNDER, S. H., KREUTZ, D. S., MEDINA, V. J., RUSSEL, D. H.: Polyamine synthesis and turnover in rapidly growing tissues. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 171, 749—771 (1970).
6. STEVENS, L.: The biochemical role of naturally occurring polyamines in nucleic acid synthesis. *Biol. Rev.* 45, 1—27 (1970).
7. TABOR, H., TABOR, C. W.: Spermidine, spermine, and related amines. *Pharmacol. Rev.* 16, 245—300 (1964).
8. TABOR, H., TABOR, C. W.: Biosynthesis and metabolism of 1,4-diaminobutane, spermidine, spermine, and related amines. *Adv. Enzymol.* 36, 203—268 (1972).
9. WILLIAMS-ASHMAN, H. G., JÄNNE, J., COPPOC, G. L., GEROCH, M. E., SCHENONE, A.: New aspects of polyamine biosynthesis in eukaryotic organisms. In: *Adv. Enzyme Regul.* vol. 10. ed.: Weber, G. Pergamon Press, New York (1972).
10. WILLIAMS-ASHMAN, H. G., PEGG, A. E., LOCKWOOD, D. H.: Mechanisms an regulation of polyamine and putrescine biosynthesis in male genital glands and other tissues of mammals. In: *Adv. Enzyme Regul.* vol. 7. ed.: Weber, G. Pergamon Press, New York (1969).

BIOLOGY OF THE NATURAL POLYAMINES

J. Menyhárt and J. Gróf

Department of Urology, Semmelweis University of Medicine, Research Laboratory of the Hungarian Academy of Sciences, Budapest

In this survey article the authors review the most recent literature on the metabolism and biological role of polyamines. It consists of four chapters. After an introductory chapter, the second chapter summarizes the metabolism of polyamines reporting data in the biosynthesis, biodegradation, interconversion of polyamines and on the hormonal control of their synthesis. The third chapter deals with the biological role of polyamines. Here are discussed the role of polyamines in growth processes, in normal and neoplastic cell proliferation. The fourth chapter concerns problems of the mechanism of action, namely the interaction of polyamines with nucleic acids and ribosomes, the action of polyamines on RNA, DNA and protein synthesis, and the relationship between polyamines and cyclic nucleotides.

MELATONIN HATÁSA A VÉRCUKOR ÉS INZULIN SZINTRE

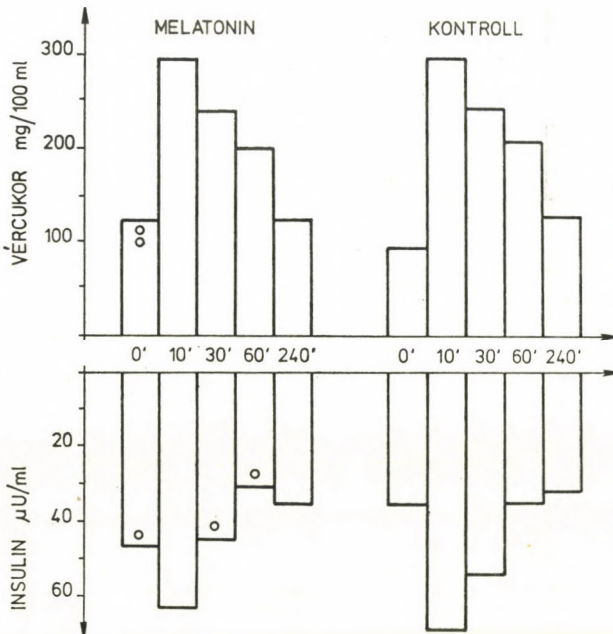
DOBOZY OTTÓ ÉS CSABA GYÖRGY

Semmelweis Orvostudományi Egyetem Biológiai Intézete,
Budapest

Beérkezett 1976. június 30-án

Kulcsszavak: corpus pineale, melatonin, vércukor, inzulin

A corpus pineale — hormonján a melatoninon keresztül — részt vesz az entodermális eredetű endocrin szervek szabályozásában (1, 2, 3). Hatása elsősorban gátló jellegű (5, 6, 8, 9), kivételt képez a parathyreoidea (7), melynek működését stimulálja. A corpus pineale eltávolításának a Langerhans szigetek aminosav felvételére való serkentő hatását és vércukorszint csökkentő hatását korábbi kísérletekben (3, 5) kimutattuk, amiből nyilvánvalóvá vált, hogy a melatonin valamilyen módon a cukor anyagcserébe is beleszól. Jelen kísérleteinkkel a hatásmechanizmus tisztázásához kívánunk adatokat szolgáltatni.



1. ábra. Melatonin hatása a vércukor és inzulin szintre.

Fig. 1. Action of melatonin on blood sugar and insulin levels.

$p < 0.05 : 00$

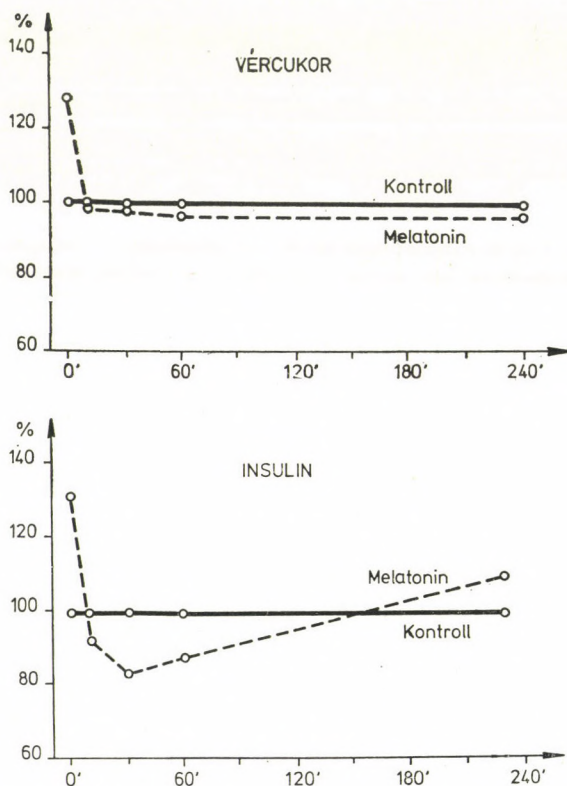
$p < 0.1 : 0$

Anyag és módszer

Kísérleteinkben 200 g súlyú Wistar CB hím patkányokon végeztünk megfigyeléseket. Az állatok a kísérletet megelőzően 16 órán keresztül éheztek, vizet ad libitum kaptak. 10 állat 100 $\mu\text{g}/100$ g testsúly melatonin (Koch-Light) kapott 3 % etanolt tartalmazó fiziológiai konyhasóban oldva i.p., míg további 10 állat csak az oldószeres kezelésben részesült. 15 perc múlva az állatokból vért vettünk, majd 40 %-os glukóz oldattal (100 mg/100 g testsúly i.v.) cukorterhelést végeztünk. Ezután 10, 30, 60 és 240 perccel újra vért vettünk és a vércukorszintet Fermognost vércukorteszttel (Germed-DDR) az inzulinszintet radioimmunoassayval (Inzulin radioimmunoassay kit. Amersham, U.K.) határoztuk meg. Az eredmények szignifikanciáját Student „t” teszt segítségével értékeltük.

Eredmények és discussio

Az eredményeket az 1. és 2. sz. ábra mutatja. A melatonin a vércukorszintet szignifikánsan növelte, azonban a cukorterhelésre a vércukorszint a kontrollnak megfelelően változott és attól sehol sem tért el szignifikánsan.



2. ábra. Melatonin hatása az inzulin és vércukor szintre, a mindenkorl értéket 100 %-nak véve.

Fig. 2. Action of melatonin on insulin and blood sugar levels, taking the corresponding control level as 100 %.

Az inzulin szint a vércukorszinttel párhuzamosan emelkedett meg, azonban cukorterhelés után a kontrollnál kisebb értékeket adott. Különösen kifejezett — bár nem szignifikáns — volt a gátlás 30 és 60 perccel a cukorterhelés kezdete után.

A kísérletekből úgy látszik, hogy a melatonin a vércukorszintet növeli, éppúgy, mint ahogy korábbi kísérleteinkben (3) a pinealectomia csökkentette azt. Feltételezhetően ez váltja ki a melatonin beadása után 15 perccel (a 0 perces időponthoz) az inzulin szint növekedését, mely elegendő ahhoz, hogy a továbbiakban csökkent inzulin szint mellett is a kontrollnak megfelelő vércukor értékeket kapjunk. A melatonin tehát kezdetben az inzulin szekréciót nem akadályozza, ugyanakkor a későbbi időpontokban az inzulin szint csökken, ez arra utal, hogy gátolt az inzulin termelődése. Bár az eltérések nem szignifikánsak, mégis elfogadhatóaknak tűnnek, mert a szignifikancia határán vannak ($p < 0.1$) és elég nagyok, és mert egybevágunk korábbi kísérleteink (5) eredményeivel, amikor is a corpus pineale eltávolítása után — tehát melatonin hiányában — fokozódott az inzulin szintéziséhez szükséges aminosav incorporációja a Langerhans szigetekben.

Összefoglalás

Melatonin hatására nő a vércukorszint és ennek megfelelően az inzulin szint is. Cukorterhelésre a vércukorszint nem tér el a kontrolltól, ugyanakkor az inzulin szint csökken. Ez valószínűsíti, hogy a melatonin az inzulin szekréciót nem gátolja, de az inzulin újratemelődését csökkenti.

IRODALOM

1. CSABA, G.: Az endokrinológia perifériája (1974.) *Biológia*, **22**, 3—16.
2. CSABA, G., KISS, J., BODOKY, M.: Uptake of radioactive iodine by the thyroid after pinealectomy. (1968.) *Acta biol. Acad. Sci. hung.* **19**, 35—41.
3. CSABA, G., BARÁTH, P.: Are Langerhans islets influenced by pineal body (1971.) *Experientia* **27**, 962.
4. CSABA, G., BERNÁD, I.: In vitro modell of feed-back mechanism between different endocrine glands and rat pineal in tissue culture. (1971.) *Acta. Biol. Acad. Sci. hung.* **23**, 91—93.
5. CSABA, G., NAGY, S. U.: The regulatory role of the pineal gland on the thyroid gland, adrenal medulla and the islets of Langerhans. *Acta biol. med. germ.* (1973.) **31**, 617—619.
6. CSABA, G., NAGY, S. U.: Role of biogenic amines in regulating the thyroid function. (1974.) *Acta biol. med. germ.* **33**, 241—244.
7. KISS, J., BÁNHEGYI, D., CSABA, G.: The endocrine regulation of blood calcium II. Interactions between the parathyroid and pineal gland. (1969.) *Acta med. Acad. Sci. hung.* **26**, 363—370.
8. ISHIBASHI, T., HAHN, D. W., SRIVASTAWA, L., KUMARESAN P., TURNER, C. W.: Effect of pinealectomy and melatonin on feed consumption and thyroid hormone secretion rate. (1966.) *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **122**, 644—647.
9. SINGH, D. V., TURNER, C. W.: Effect of melatonin upon thyroid hormone secretion rate in female hamsters and male rats. (1972.) *Acta Endocrin.* **69**, 35—40.

THE ACTION OF MELATONIN ON THE BLOOD SUGAR AND INSULIN LEVELS

O. Dobozy and G. Csaba

Institute of Biology, Semmelweis University of Medicine, Budapest

Melatonin action increases the blood sugar level and, correspondingly, the insulin level. After sugar loading the blood sugar level does not differ from the control but the insulin level decreases. On this basis it is probable that melatonin does not inhibit insulin secretion but decreases the resynthesis of insulin.

BENZPYRÉNNEL ÉS CORTISONNAL KEZELT PATKÁNYOK THYMUSÁNAK HÍZÓSEJTES REAKCIÓJA

ifj. BÓKAY JÁNOS

Semmelweis OTE Biológiai Intézete, Budapest

Beérkezett: 1976. június 18-án

Kulcsszavak: thymus, hízósejt benzpyrén cortison

A hízósejt az emlős szervezet egyedülálló, különleges sejtje, amely biológiaiailag igen fontos anyagok előállítására, tárolására, és felszabadítására képes, amely anyagok legtöbbször hormon, vagy hormon előanyag. Ezek alapján a hízósejtet egysejtű endokrin mirigynek (9, 11) foghatjuk fel, amely mozgási képességénél fogva (1) tartalmát lokálisan, így célzottan, és nagy koncentrációban, tehát hatékonyan tudja felszabadítani.

Az elmúlt néhány évtizedben kiterjedten vizsgálták a különböző hormonok, köztük a glucocorticoidok hízósejtre gyakorolt hatását (1). Megállapítást nyert (5), hogy a prolongált glucocorticoid kezelés hatására a thymus kiürül, és nagyarányú hízósejtképződés jön létre, elsősorban a hypergranulált alakok felszaporodásával. A steroid hormonok induktor anyagok, amelyek hatásukat a génnek közvetlen aktiválásán keresztül fejtik ki. A sejtmembránon áthaladva a cytoplazmában egy cytosol receptorhoz kapcsolódnak (10), majd ezután a hormonreceptor komplex bekerül a sejtmagba, ahol derepresszáló hatást fejt ki. Kezdetben a komplexet főleg a hisztonok arginin-gazdag csoportja köti (12, 16) hosszabb expozíciós idő, és nagyobb koncentrációk alkalmazása esetén azonban a lysin gazdag hiszton csoportokkal is megtörténik a kapcsolódás, azokkal, amelyek mai tudásunk szerint az információk mélységben való blokkolásáért felelősek (17). Mivel az utóbbi időben hasonló hatásmechanizmust figyeltek meg egyes cancerogén anyagok esetében is (18) ezen aspecifikus induktoroknak hatása a hízósejt korrelációban szintén érdeklődésre tarthat számot.

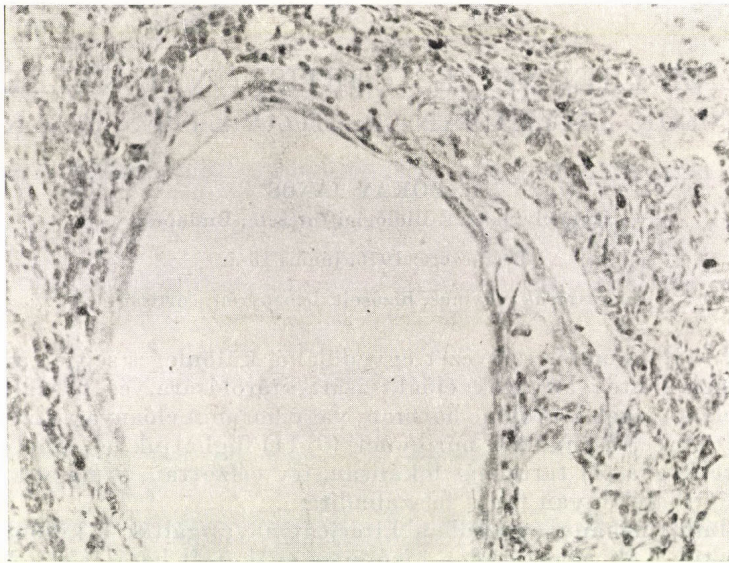
Kísérleteinkben a benzpyrén egyedüli, illetve cortisonnal való együttes hatását vizsgáltuk a thymus hízósejtjeire. Célunk egyrészt annak megállapítása volt, vajon a prolongált cortison kezelés megváltoztatja-e valamilyen formában a benzpyrén hatását, másrészt pedig vizsgálni kívántuk, hogy mutatkozik-e különbség a hatásban fiatal, illetve felnőtt állat thymusának hízósejtjein.

Anyag és módszer

Kísérleteinket saját tenyésztésű, vegyes nemű 16 db felnőtt Wistar CB (180—220 ts.g.) és 16 db fiatal (20—30 ts.g.) patkányokon végeztük.

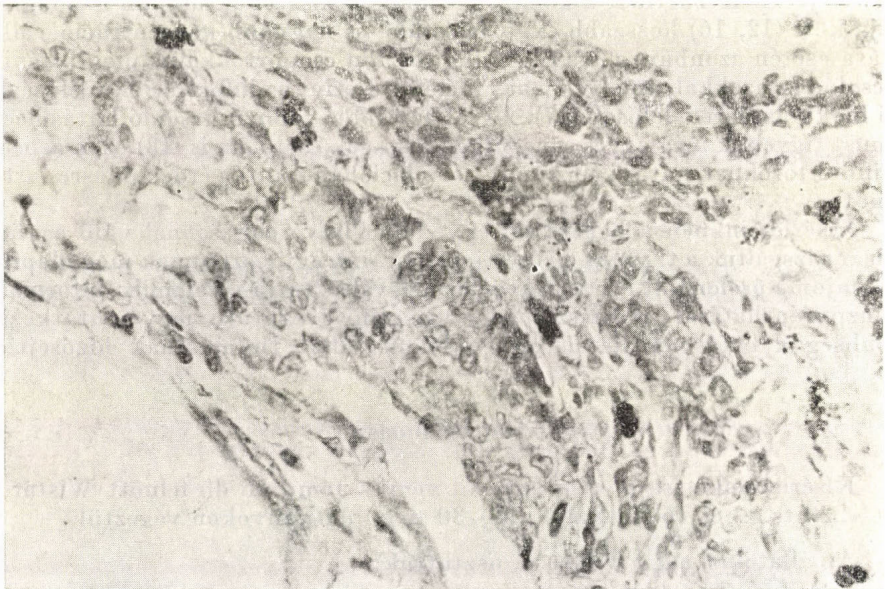
Az állatokat négy csoportra osztottuk:

I. csoport: Felnőtt állatok, amelyek thymusába egyszeri alkalommal egy csepp (kb. 0,01 ml) steril napraforgóolajban szuszpendált 3,4, benzpyrén (10 mg/ml) injiciáltunk, hexobarbital altatásban.



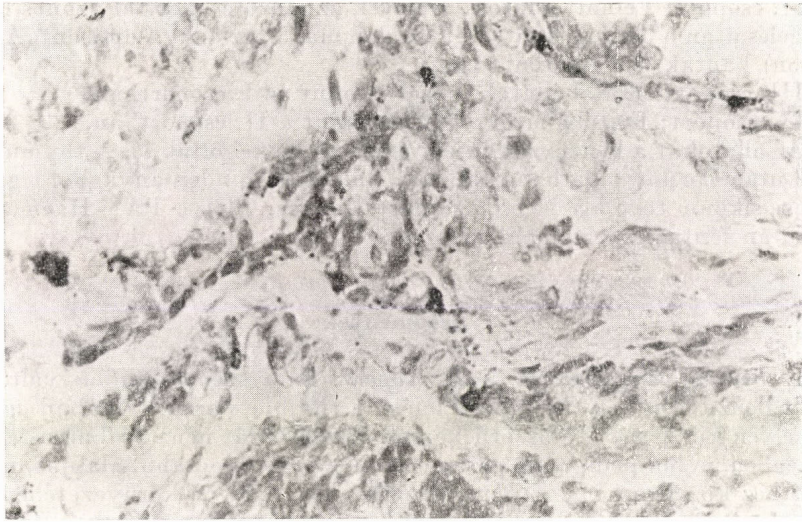
1. ábra. A benzpyrén hatására kialakult cysta körül a hízósejtek felszaporodnak (I. csoport).
16-szoros nagyítás.

Fig. 1. Mast cells grouped around a cyst induced by benzpyren (Group I.) x 16



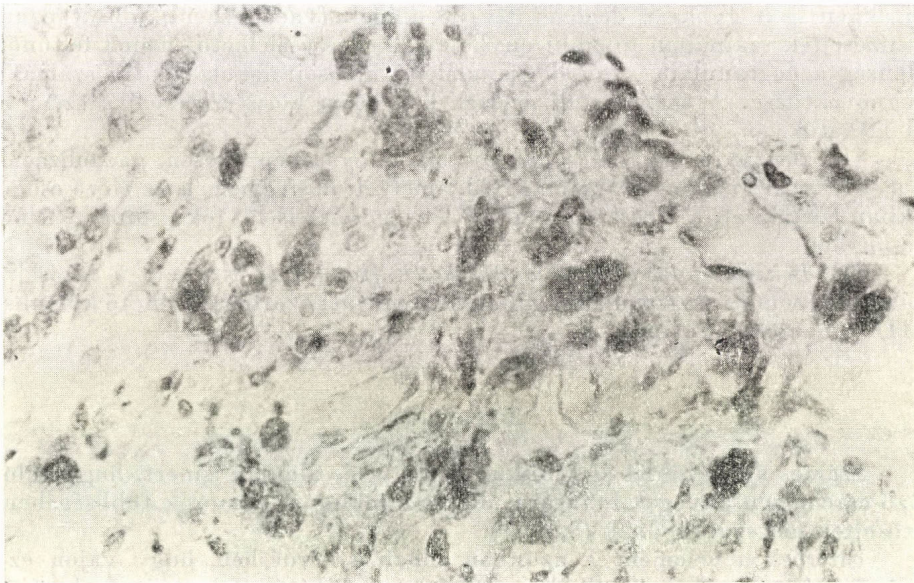
2. ábra. A cysta körül felszaporodott hízósejtek némelyike degranulációt mutat (I. csoport).
40-szeres nagyítás.

Fig. 2. Some of the mast cells agglomerated around the cyst are degranulated (Group I.) x 40



3. ábra. A II. csoportban a cysta körül tömörülő hízósejtek nagymértékben degranulálódtak.
40-szeres nagyítás.

Fig. 3. In group II. the mast cells agglomerated around the cyst are highly degranulated. x 40



4. ábra. A II. csoportban a hízósejtek felszaporodása a legkifejezettebb az areoláris kötő-
szövetben. 63-szoros nagyítás.

Fig. 4. The agglomeration of the mast cells in group II. is most striking in the areolar connective tissue. x 63

II. csoport: Felnőtt állatok, amelyek az előző csoporttal azonos benzpyrén kezelés után 6 hétig, hetente két alkalommal 5 mg/ts.kg. cortisont (Adreson-Organon) kaptak intramuscularisan.

III. csoport: Fiatal állatok, kezelése mint az I. csoportban.

IV. csoport: Fiatal állatok, kezelése mint a II. csoportban.

Az állatokat a benzpyrén injectió után 6 héttel öltük le. A thymusokat a kivétel után Carnoy oldatban fixáltuk, a metszés minden anyagból legalább 8 metszési síkban történt. A metszeteket Giemsa, illetve PAS Haematoxylin festés után fénymikroszkóppal vizsgáltuk.

Eredmények

I. *Felnőtt benzpyrénnel kezelt csoport*: A legszembetűnőbb változás az injiciált benzpyrén helyének megfelelően a thymus parenchymában egy vagy több helyen kialakult cystaszerű képlet. Ennek falát néha szabályos egyetlen sejtrétegben, néhol pedig több sejtsorban lap, vagy laposabb, alakjában a köbhámsejthez közelítő hengerhámsejtek alkotják. A cysta környezetében intenzív kereksejtes reakciót lehet látni. A hízósejtek mennyisége egészében megszorodott, részben a csepp helyének közelében tömörülnek, de kifejezettebb megsokszorozódásuk az areoláris és subcapsuláris kötőszövetben, elsősorban az erek körül. A hízósejtek többségükben erősen granuláltak, helyenként degranulálódtak.

II. *Felnőtt benzpyrénnel és cortisonnal kezelt csoport*: Az előzőekben leírt elváltozásokon kívül több helyen az alapszövet nagy fokú destrukcióját, és üregek keletkezését lehet megfigyelni. Az üregek környezetében elhelyezkedő sejtekben igen gyakran degeneratív jelenségek (vacuolizáció) mutatkoznak. A hízósejtek számában további enyhe emelkedés észlelhető. Ennél feltűnőbb jelenség a degranulált, vagy degranulálódó hízósejtalakok relatív számának megnövekedése. A szétesett hízósejtek közvetlen környezetében a szemcsék jól láthatók.

III. *Benzpyrénnel kezelt fiatal csoport*: A cystaképződésen, vacuolizáción, és a kereksejtes izgalmi reakción kívül, amelyek megegyeznek az előző csoportokban leírtakkal, a hízósejtes reakció lényegesen kisebb fokú, mint a felnőtt csoportban.

IV. *Benzpyrénnel és cortisonnal kezelt fiatal csoport*: Sem a hízósejtek számában, sem azok granuláltságában nem mutatkozott értékelhető különbség a III. csoporttal szemben.

Megvitatás

Számos állatkísérlet és klinikai megfigyelés alapján ismert, hogy különböző carcinogén anyagok hatására, illetve a malignus tumorok többségében a hízósejtek megszaporodnak (3, 4, 7).

Eltérőek a vélemények azonban abban a kérdésben, hogy vajon ez a hízósejt felszaporodás azáltal jön-e létre, hogy a hízósejtek az inger hatására odavándorolnak a tumoros proliferáció helyére (15), vagy pedig helyben, de novo keletkeznek más, látszólag indifferens sejtekből (7). Az utóbbi theóriát látszik igazolni, hogy a carcinogenetikus hízósejt reakció a megfigyelés szerint

legtöbbször szegényesen granulált, orthochromatikus sejtekkel kezdődik, és a proliferációval párhuzamosan növekszik számuk, méretük és granuláltságuk egyaránt (3, 14). Ha a hízósejtek keletkezésének indukciós teóriáját elfogadjuk (6, 8), akkor mindazon gének működését, amelyek az egyes szemcsekomponensek szintéziséhez szükséges enzimek képződését megindítják, represszorok gátolják. Tehát a derepresszió megindításához valamilyen induktor jelenléte szükséges. Ha ezt összevetjük azokkal a bevezetőben már említett felfedezésekkel, amelyek szerint a benzpyrén a steroid hormonokhoz hasonlóan hisztonmolekulákkal kötődni képes *in vitro* (18), valamint cytoplazmatikus és mag-lokalizációja autoradiographiával kimutatható (13), akkor a carcinogenikus hízósejt reakcióban a benzpyrén a megfelelő potenciával rendelkező sejtbe bejutva kötődik egy cytosol receptorral, és ezután bekerülve a magba ott az acceptorhoz kapcsolódik, (amely Sluysen kísérletek szerint (18) azonos a steroid molekula acceptorával) és azt leválasztja a DNS-ről. Így megindul a serotonin szintézise, amely a továbbiakban egy önszabályozó rendszer beindulását indukálja, és megindítja a többi szemcsekomponens, a heparin és a hisztamin szintézisét. Mivel gyakorlatilag ugyanezt a hatásmechanizmust tétélezhetjük fel a steroid hormonokra nézve, kísérleteinkben többek között éppen arra voltunk kíváncsiak, vajon észlelhető-e valamilyen különbség a benzpyrén hatásában, ha azt cortison kezeléssel kombináljuk. Eredményeinket áttekintve azt mondhatjuk, hogy a cortison semmiféle minőségbeli különbséget nem okozott, csak erősítette a benzpyrén hatását, ami a tovább emelkedő hízósejtszámokban, és a fokozódó degranulációban mutatkozott meg. Azonos, kevésbé specifikus kötőhelyeket feltételezve lehetséges, hogy a cortison a benzpyrén által szabadon hagyott kötőhelyekhez kapcsolódva képes a hatás fokozására.

Meg kell azonban jegyeznünk, hogy amennyiben igaznak fogadjuk is el, hogy a carcinogenesis során felszaporodó hízósejtek helyben, *de novo* keletkeznek, valószínű, hogy felszaporodásukban nem ez az egyetlen tényező. Szerepet kell tulajdonítanunk a hízósejtek mozgási képességével kapcsolatos bevándorlásnak is. Erre utal, hogy sok esetben kifejezettebb hízósejtes reakciót lehetett megfigyelni az areolaris és subcapsuláris kötőszövetben, mint a parenchymában, a csepp közvetlen környezetében.

Kísérleteink második részében megfigyelt azon jelenséget, hogy a felnőtt állatok thymusa a benzpyrén hatására sokkal intenzívebb hízósejtes reakcióval válaszolt, mint ahogyan ezt az újszülött állatban észleltük, azzal magyarázhatjuk, hogy az újszülöttkori thymusban az immunológiai funkciók dominálnak. A hízósejtképzési funkció, és nyilvánvalóan ezzel a különböző behatásokkal indukálható hízósejtes válasz lehetősége is, csak később kerül előtérbe, amikor a thymus immunválaszban játszott szerepe fokozatosan háttérbe szorul.

Összefoglalás

Felnőtt és újszülött patkányok thymusába implantált benzpyrén hízósejtképződésre kifejtett hatását vizsgáltuk utólagos cortison kezeléssel, illetve anélkül. Megállapítható, hogy benzpyrén hatására a hízósejtek száma megnő, és a cortison kezelés minőségileg nem változtatja meg a hatást, de erősíti azt. A hízósejtszám tovább nő, sok a degranulálódó alak. A fiatal állat thymusa sokkal enyhébb hízósejtes reakciót mutat, és az utólagos cortison kezelés sem okoz értékelhető különbséget a benzpyrén hatásában.

IRODALOM

1. BURTON, A. L.: (1960) The fate of normal mast cell studied in tissue culture by means of time lapse cinephotomicrography. *Anat. Rec.* **136**, 407.
2. BUTCHER R. W., ROBINSON G. A., SUTHERLAND E. W.: (1972) Cyclic AMP and hormone action (in LITWACK G.: *Biochemical actions of hormones.*) Acad. Press. New York.
3. CRAMER W., SIMPSON W. L.: (1944) Mast cell in experimental skin carcinogenesis. *Cancer Res.* **4**, 601—616.
4. CSABA G., ÁCS T., HORVÁTH C., MOLD K.: (1961) Genesis and function of mast cells. Mast cell and plasmocyte reaction to induced, homologous and heterologous tumours. *Brit. J. Cancer* **15**, 327—335
5. CSABA G., MOLD K.: (1962) Über die Wirkung von Hormonbetrachtungen auf die Mastzellenbildung im Thymus der Ratte. *Z. mikr. anat. Forsch.* **68**, 163.
6. CSABA G.: (1969) Mechanism of the formation of mast cell granules. III. Self regulating system of granulopoiesis. *Acta biol. Acad. Sci. Hung.* **20**, 211—218.
7. CSABA G., FORGÁCS A.: (1970) Behaviour of mast cells in the skin of mice treated with benzpyrene. *Acta morph. Acad. Sci. Hung.* **18**, 17—22.
8. CSABA G., KISS J., OLÁH I.: (1970) Induction mechanism of mast cell degranulation. Electronmicroscopic-autoradiographic examination with 3H-hydrocortison. *Acta biol. Acad. Sci. Hung.* **21**, 85—90.
9. FULTON G. P., MAYNARD F. L.: (1953) Effect of cortisone on tissue mast cells in the hamster cheek pouch. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **84**, 259.
10. GRANNER D., CHOSE L. R., AUERBACH G. D., TOMKINS G. M.: (1968) Thyrosine aminotransferase: enzyme induction independent of adenosine 3,5, monophosphate. *Science* **162**, 1018.
11. JAQUES L. B.: (1961) Heparin and mast cell. *Can. J. Biochem. Physiol.* **39**, 643.
12. LIAO S., LIANG T., THYMOZKO L.: (1973) Ribonuclein binding of steroid „receptor” complexes. *Nature New Biol.* **241**, 211.
13. OEHLERT W.: (1969) Regeneration, Hyperplasie und Cancerisierung am Beispiel der epithelialen Weichgewebe. In *handbuch der allg. Pathologie Entwicklung — Wachstum.* 2. pp. 244. 374, Springer. Berlin.
14. RILEY J. F.: (1968) Mast cells, Co-carcinogenesis and anti-carcinogenesis in the skin of mice. *Experientia* **15**, 237.
15. SELYE H.: (1965) *The mast cells.* Butterworths. Washington.
16. SLUYSER M.: (1966) Binding of testosterone and hydrocortisone on rat tissue histones. *J. Mol. Biol.* **22**, 411.
17. SLUYSER M.: (1966) Binding of hydrocortisone to rat liver histones. *J. Mol. Biol.* **19**, 591.
18. SLUYSER M.: (1968) Interactions of carcinogens with histones in vitro. *Biochem. Biophys. Acta:* **154**, 608—609.

MAST CELL REACTION IN THE THYMUS OF RATS TREATED WITH BENZPYREN AND CORTISON

J. Bókay jr.

Institute of Biology, Semmelweis University of Medicine, Budapest

The action of benzpyren implanted into the thymus of adult and newborn rats with or without subsequent cortison treatment on the mast cell production was studied. After benzpyren administration the number of mast cells increases; cortison treatment does not alter this action in a qualitative sense but enhances it. I. e. the number of mast cells increases further with many degranulated forms. The mast cell reaction in the thymus of the young animals is much weaker and the subsequent cortison treatment does not effect significantly the benzpyren action.

NÖVÉNYI HORMON — GIBBERELLIN — ÚJSZÜLÖTTKORI ALKALMAZÁSÁNAK HATÁSA PATKÁNYRA

CSABA GYÖRGY, DARVAS ZSUZSA ÉS LÁSZLÓ VALÉRIA
Simmelweis Orvostudományi Egyetem Biológiai Intézete, Budapest

Beérkezett: 1976. június 25-én

Kulcsszavak: gibberellin, receptor, thymus, gonádok, testsúly

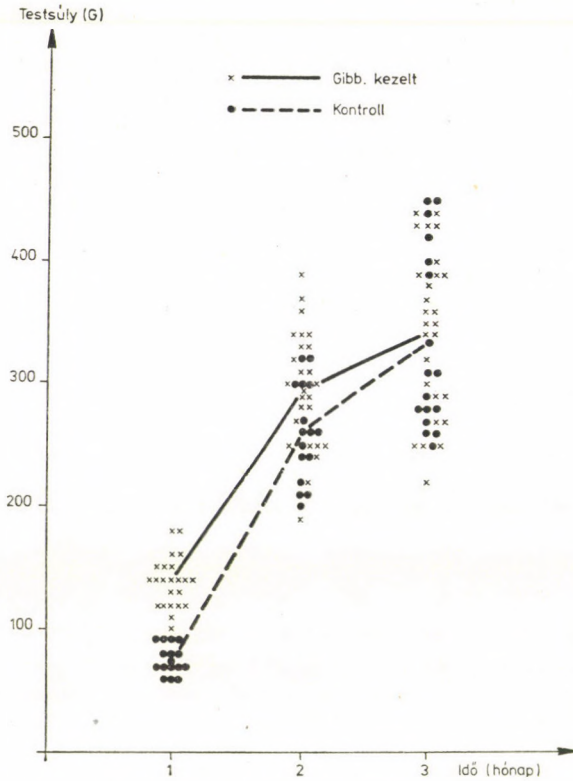
Korábbi kísérleteinkben (8) a hormonreceptorok ontogenezisét vizsgálva megállapítottuk, hogy az újszülötteknek adott gonadotrop hormon — LH — felnőttkori vizsgálatokban nagy mértékben csökkenti a pajzsmirigy receptorainak TSH érzékenységét. Mivel az LH és TSH kémiaiilag hasonló molekulák (15) arra gondoltunk, hogy az LH az újszülött kor kritikus periódusában a TSH receptorok deformálására képes, ami a receptorok képlékenységét tételezi fel. E kísérletek alapján felmerült annak lehetősége, hogy az állati szervezetben nem honos, de hormonszerű molekulával is befolyásolni lehet a kritikus periódusban a hormonreceptorokat. A kérdés tisztázására indítottuk el jelen vizsgálatainkat.

Anyag és módszer

32 újszülött, saját zárt tenyésztésű vegyes nemű Wistar CB patkány szigorúan az első 24 órán belül 1 mg/patkány gibberellin A₃-at (Phylaxia-Budapest) kapott subcutan, mélyen a tarkó bőre alá. 26 újszülött a fenti körülményeknek megfelelően a gibberellin oldószerét, 3 % etilalkoholt tartalmazó desztvizet kapott, 0.1 ml mennyiségben. A fészekaljszám az egyes családokban megközelítőleg azonos volt, a jelentéktelen mértékben kisebb fészekaljszám a kontrollokra volt jellemző. A patkányokat anyjuk táplálta, majd elválasztásuk után standard patkánytápot (LATI — Gödöllő) kaptak. Az állatokat egy hónapos korukig hetente, utána havonta mértük, négy hónapos korukig. Ekkor éter narkózisban mellkasukat megnyitottuk, és a jobb pitvar átmetszése után vért vettünk, majd a következő szerveket mértük: thymus, pajzsmirigy, mellékvese, here, ovárium. A vérből spektrofotometriás módszerekkel meghatároztuk a Ca⁺⁺ szintet Joó (10) szerint, a Mg⁺⁺ szintet Merckotesttel (E. Merck, Darmstadt) az anorganikus foszfátot Richterich (1965) szerint, és a vércukrot Fermognost (Germed-DDR) vércukorkeszttel. Az eredmények szignificanciáját Student „t” teszt segítségével értékeltük.

Eredmények

A kontroll patkányok súlya egy hónappal a születés után 75 g, a gibberellinnel kezeltké 139 g. Az eltérés igen erősen szignifikáns ($p < 0.01$). A második hónap végén a súlyok 260, illetve 294 g. Az eredmény szignifikáns ($0.05 < p < 0.02$). 3 hónapos korban az átlagsúlyok 334, ill. 342 g. Az eltérés nem szignifikáns, ugyanígy a 4. hónap végén sem, amikor az átlagsúlyok 365, ill. 366 g-nak felelnek meg (1. sz. ábra).



1. ábra. Kontroll és gibberellinnel újszülött korban kezelt patkányok testsúlyának alakulása.
Fig. 1. Time course of the body weight of control rats and rats neonatally treated with gibberellin.

A szervsúly, ill. a fotometriás mérések eredményeit az 1. sz. táblázat mutatja. Szignifikáns eltérés van a nőstény állatok thymus súlyában (+58 %!), a petefészek súlyában (+24 %), a szignifikancia határán van a hím állatok thymus súlyában mutatkozó eltérés, és nem szignifikáns, de számottevő eltérés van a nőstény állatok pajzsmirigy és mellékvese súlyában. Nem számottevő a különbség a hím állatok pajzsmirigy és mellékvese súlyában.

Szignifikáns eltérés van a kísérleti és kontroll csoportok között a kísérletiek javára a Mg és anorganikus foszforszintben (+17,8, ill. 26,5 %) és a szignifikancia határán van az eltérés a Ca^{++} szintben (+9,4 %). Nincs szignifikáns eltérés a vércukorszintben.

Discussio

A kísérletek eredményeiből kiderül, hogy a gibberellin újszülöttkori alkalmazása mélyreható elváltozásokat hozott létre a patkányok növekedésében és a vizsgált endokrin paraméterekben. A kísérletek eredményeinek értékelésekor alapvető annak figyelembevétele, hogy 1. egyetlen dózis hatását

1. sz. táblázat

Szervsúly (mg) és vérszint (mg/100 ml) értékek kontroll és gibberellinnel kezelt állatokban

Csoport	Index	Érték mg vagy mg/100 ml	Szign. (kontroll- hoz visz.)	Különbség % (kontrollhoz visz.)
Kontroll	Thymus súly	556,44		
Kísérleti	Thymus súly	415,60	p < 0,1	+21,85
Kontroll	Pajzsmirigy súly	678,0		
Kísérleti	Pajzsmirigy súly	656,56	p < 0,01	+58,0
Kontroll	Pajzsmirigy súly	10,43		
Kísérleti	Pajzsmirigy súly	7,90	—	+1,51
Kontroll	Mellékvese súly	10,59		
Kísérleti	Mellékvese súly	9,50	—	+20,25
Kontroll	Mellékvese súly	25,17		
Kísérleti	Mellékvese súly	25,33	—	+3,7
Kontroll	Here súly	24,23		
Kísérleti	Here súly	30,75	—	+21,40
Kontroll	Petefészek súly	2070,0		
Kísérleti	Petefészek súly	1740,0	p < 0,01	-15,4
Kontroll	Ca ⁺⁺	44,5		
Kísérleti	Ca ⁺⁺	55,14	p < 0,05	+24,0
Kontroll	Mg ⁺⁺	7,56		
Kísérleti	Mg ⁺⁺	8,27	p < 0,1	+9,4
Kontroll	anorganikus P	2,13		
Kísérleti	anorganikus P	2,51	p < 0,02	+17,8
Kontroll	vércukor	6,29		
Kísérleti	vércukor	7,97	p < 0,02	+26,5
Kontroll		105,14		
Kísérleti		96,77	—	-7,96

mértük négy hónappal a kezelés után, és, hogy 2. a hatás az esetek túlnyomó többségében pozitív volt. Ezen tényezőket azért volt fontos kiemelni, mert ezek látszanak bizonyítani, hogy nem toxikus hatásról van szó. Ha ugyanis az állatok növekedése visszamaradt volna, elképzelhető lett volna az idegen anyag toxikus hatása, és ha mindjárt a beadás után mértük volna az indexeket, akkor feltételezhető lett volna, hogy ez az anyag jelenlétének következménye. Ezek a tényezők azonban kizárhatók.

A gibberellin növényi hormon, a növények növekedési sebességét fokozza (9), genetikailag törpe fajták törpeségét normalizálja (13). A patkányban sem vezetett alkalmazása óriásnövéssre, azonban a kezelt állatok növekedési sebes-

sége fokozódott, a növekedés előrehozódott, és egy hónapos korban szinte megduplázódott, majd 3–4 hónapos korra kiegyenlítődt. Ebben az időpontban — amikor szervsúly és endokrin index méréseink történtek — is jelentős eltérés van azonban az újszülöttkorban gibberellinnel kezelt és kontroll állatok között. Különösen megmutatkozik ez a thymus súlyának növekedésében, mely a mellékvese súlyának szignifikáns változása nélkül, tehát attól függetlenül jött létre. Lényegében ez a helyzet a gonádokkal kapcsolatban is, aholis nem látszik összefüggés a gonádok súlyváltozása és a thymus súlyának alakulása között.

A hím és női gonádok súlya *ellentélesen* — és mindkét esetben szignifikánsan — változott. Ez önmagában is a hatás specificitására utal. A gibbán váz szerkezetében van bizonyos hasonlóság a szterán vázhéhoz (11), azonban jelen pillanatban lehetetlen volna azt állítani, hogy a hatás ennek volna köszönhető.

A Ca^{++} , Mg^{++} és foszfor szintet a kezelés egyaránt és egyirányban befolyásolja. A hatás történhet a parathyroidán keresztül, és közvetett úton; erre vonatkozólag a jelen kísérletekből semmiféle következtetés nem vonható le.

A gibberellin növényi hormon, a patkány számára eddigi ismereteink szerint jelentése nincs. Kísérleteinkben tehát egy növényi hormon magasrendű állatban való hatása mutatkozott meg. Hogy mennyiben sikerült a gibberellin hatására legjellemzőbb indexeket megtalálni nem tudjuk. Nagyon nehéz helyzetben van a kutató, amikor egy, az állati szervezetben jelen nem levő, idegen — nonszensz — hormon molekula vizsgálatába kezd és keresi az indexeket, melyek a molekula hatását legjobban jelzik. Jelen kísérleteinkben a majdnem taláalomra kiválasztott — elsősorban a növényi hatást figyelembe vevő — indexek jelentős részében eltérés volt tapasztalható. Mindez természetesen nem jelenti azt, hogy más index vizsgálata esetleg nem adhat a jelenleginél is jellegzetesebb eltéréseket.

Eddigi vizsgálatainkból (1, 2, 4, 5, 6, 7) is ismeretes volt, hogy a filogenezis különböző alacsonyabb szintjein meg lehet találni a magasabbrendűekre jellemző, és ezek hormonjaira reagáló receptorokat. E vizsgálatokat figyelembe véve Legros és munkatársai (12) beigazolták, hogy a magasabbrendű hormon insulin a növényi egyséjtű, Acetabularia sejtmembránjához specifikusan kötődik. Végső soron tehát nem meglepő az, hogy megfordítva, egy növényi hormon hatni tud magasabbrendű állatra. Korábbi eredményeinket is figyelembe véve jelenlegi vizsgálataink tehát vagy a receptorok széles körű univerzalizálására utalnak, vagy arra, hogy a receptoroknak ontogenezise van (3), és az ontogenezis kritikus periódusaiban — ilyen pl. az újszülött kor — nemcsak saját, hanem idegen — nonszensz — molekulák is befolyásolhatják a receptorokat. E befolyás eredményeként a receptorok a normálistól eltérhetnek, ami a saját később kialakuló szabályozás eltéréseihez vezethet.

Összefoglalás

Egy növényi hormon, a gibberellin egyszeri újszülöttkori alkalmazása előrehozta a patkányok növekedését — egy hónapos korban megkéttszerezte azt — és számos endocrin szervet befolyásolt. Így szingifikánsan növelte a thymus és petefészkek súlyát, csökkentette a heréét, növelte a vér Ca^{++} , Mg^{++} foszfor szintet. A pajzsmirigy és mellékvese súlyra, valamint a vércukorszintre nem volt hatása. A kísérletek valószínűsítik a hormonreceptorok ontogenetikus változásait és újszülöttkori deformálhatóságát.

IRODALOM

1. CSABA, G., LANTOS, T.: (1973) Effect of hormones on Protozoa. Studies on the phagocytotic effect of histamine, 5-hydroxytryptamine and indole acetic acid in *Tetrahymena pyriformis*. *Cytobiologie* **7**, 361—365.
2. CSABA, G., BIERBAUER, J.: (1974) Investigation on the specificity of hormone receptors in Planarians. *Gen. Comp. Endocrinol.* **22**, 132—134.
3. CSABA, G.: (1975) Néhány gondolat a hormonreceptorok filo- és ontogeneziséhez. *Biológia (Budapest)* **23**, 37—44.
4. CSABA, G., BIERBAUER, J.: (1975) Universality of gonadotropic hormone effect. A study of FSH effect on the gonads of the snail. *Acta biol. med. germ.* **34**, 269—273.
5. CSABA, G., LANTOS, T.: (1975) Effect of insulin on the glucose uptake of Protozoa. *Experientia*. **31**, 1097—1098.
6. CSABA, G., LANTOS, T.: (1975) Specificity of hormone receptors in *Tetrahymena*. Experiments with serotonin and histamine antagonists. *Cytobiologie*. **11**, 44—49.
7. CSABA, G., LANTOS, T.: (1975) Effect of amino acid and polypeptide hormones on the phagocytosis of *Tetrahymena pyriformis*. *Acta Protozool.* **37**, 409—413
8. CSABA, G., NAGY, S. U.: (1976) Plasticity of hormone receptors and possibility of their deformation in neonatal age. *Experientia*. **32**, 651
9. FARKAS, G.: (1977) Hormonális szabályozás a növényvilágban. In: CSABA, G. (ed.) *A biológiai szabályozás*. Medicina. Budapest. **32**, 651
10. JOÓ, I.: A szérum és vizelet Ca-tartalmának meghatározása spektrofotometriás mikromódszerrel. *Kísérl. Orvostud.* **27**, 316—320.
11. LANG, A.: (1970) Gibberelline structure and metabolism. *Ann. Rev. Plant. Physiol.* **21**, 537—570.
12. LEGROS, G., UYDENTHOEF, P., DUMONT, I., HANSON, B., JEANMART, J., MASSANT, B., CONARD, V.: (1975) Specific binding of insulin to the unicellular alga *Acetabularia mediterranea*. *Protoplasma* **86**, 119—134.
13. PHINNEY, B. O.: (1956) Growth response of single-gene dwarf mutants in maize to gibberellic acid. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* **42**, 185—189.
14. RICHTERICH R.: (1965) *Klinische Chemie*. Akademische Verlagsgesellschaft, Frankfurt a. M.
15. WARD, D. N.: (1974) Correlation of hormonal structures with hormonal function in mammalian tissues. In: BURDETTE W. J. (ed.) *Invertebrate endocrinology and hormonal heterophylly*. Springer, Berlin.

NEONATAL ADMINISTRATION OF THE PLANT HORMONE *GIBBERELLIN* IN RAT

*G. Csaba*², *Zs. Darvas* and *V. László*

Institute of Biology Semmelweis University of Medicine, Budapest

A single neonatal dose of a plant hormone the gibberellin advanced the growth of the rats increasing it twice up to the age of one month and influenced a number of endocrine organs. Hence it increased significantly the weight of thymus and ovary it decreased the weight of testis increased the Ca⁺⁺, Mg⁺⁺ and phosphorus level in the blood. No effect was found on thyroid and adrenal weight or the blood sugar level. These experiments render probable the ontogenetic changes and neonatal deformability of hormone receptors.

NÖVÉNYI HORMON — GIBBERELLIN — POSTANTÁLIS ÉS FELNŐTTKORI ALKALMAZÁSÁNAK HATÁSA PATKÁNYOKBAN

CSABA GYÖRGY, LÁSZLÓ VALÉRIA ÉS DARVAS ZSUZSA
Simmelweis Orvostudományi Egyetem Biológiai Intézete, Budapest

Beérkezett: 1976. június 25-én

Kulcsszavak: gibberellin, receptor, mellékvese, gonád, pajzsmirigy, Ca.

A hormonreceptorok a sejtmembrán mintázatának részét képezik. Ez a mintázat dinamikus, tehát adott időpontban különböző mennyiségű receptor lehet jelen, de a receptor minősége meghatározza a sejtet, illetve annak reakcióját a hormonra. A receptor mintázat azonban olyan sejteken is jelen lehet, melyek az adott hormonnal nem találkozhatnak (2, 4, 8). Így kimutatható, hogy a magasabbrendűekre jellemző hormonok egyesjtűekben is típusos és specifikus választ hoznak létre, mint pl. az inzulin és adrenalin (5, 10), mely a Tetrahymena glukóz anyagcseréjét befolyásolja, vagy a hisztamin és szerotonin (1, 6), melyek fagocita képességét serkentik. Feltételezve, hogy a receptor mintázat megjelenése a ma élő egyesjtűekben fejlődés eredménye volt (3), arra a konklúzióra jutottunk, hogy a receptorok a magasabbrendűek ontogenezise folyamán is változhatnak. Ennek bizonyítására a thyreotrop hormon (TSH) kémiai rokonával a luteinizáló hormonnal (LH) kezelve újszülött patkányokat, felnőtt korban vizsgáltuk a TSH-ra adott reakciójukat (9). Ez a reakció a kontroll állatokhoz képest csökkent mértékű volt. Valószínűnek látszott tehát, hogy a receptorok újszülött korban képlékenyek és a receptorokhoz illő, de azokat nem ingerlő anyag ezeket deformálni képes, így az eredeti hormonnal való reakciójuk tartósan megváltozik.

A magasabbrendűekre jellemző receptorok a növényi sejtben is megtalálhatók. Legros és munkatársai (14) például inzulin receptorokat mutattak ki Acetabuláriában. A gibberellin növényi hormon (11), mely molekula szerkezetében némileg rokon a sztereooidokkal (13). E hormon újszülöttkori alkalmazásának hatását nyomon követve (7) azt találtuk, hogy a patkányok növekedését jelentősen fokozza, és általában növeli endocrin paramétereiket, kivéve a here súlyát, melyre csökkentőleg hat. Ezen jelenséget úgy értelmeztük, hogy a gibberellin az újszülött receptoraira hatva, azokat deformálja és az endocrin változások is ennek köszönhetőek. Nem volt tisztázott azonban, hogy hasonló indexeket vizsgálva hat-e a gibberellin, ha csak felnőtt korban adjuk (tehát van-e receptora rá a patkány sejtjeinek), illetve, hogy az újszülöttkori kezelés a deformáláson kívül képes-e arra, hogy a receptort tartósan a saját képére formálja. E kérdések tisztázására végeztük el jelen kísérleteinket.

Anyag és módszer

47 Wistar CB vegyes nemű saját, zárt tenyészetünkből származó patkányon végeztünk megfigyeléseket. Az állatok újszülött korban — szigorúan a születés utáni 24 órán belül — 5 mg/állat gibberellin A₃-at (Phylaxia, Budapest) kaptak, 0.1 ml 10 % alkoholt tartalmazó deszt. vízben, vagy csak az oldószert

I. sz. táblázat

A vizsgált indexek eltérései %-ban a különböző csoportokban és egymáshoz viszonyított szignifikanciájuk

Indexek	K/K—K/G	K/K—G/K	K/K—G/G	K/G—G/G	G/K—G/G	
Pajzsmirigys. /tests.	nem szign. +14,5 %	0,02 > p > 0,01 65 %	0,1 > p > 0,05 +54 %	0,2 > p > 0,1 +34,6 %	nem szign. -6,7 %	
	♀	♂	0,2 > p > 0,1 +62,3 %	0,02 > p > 0,01 +36,7 %	0,02 > p > 0,01 +72,5 %	nem szign. +6,3 %
Gonáds./tests.	nem szign. +4,5 %	0,1 > p > 0,05 +17,8 %	nem szign. 3,6 %	nem szign. -0,8 %	nem szign. -12 %	
	♀	♂	0,3 > p > 0,2 -12,4 %	0,02 > p > 0,01 -24,7 %	0,01 > p -28,6 %	0,01 > p -18,6 %
Mellékveses./tests.	0,05 > p > 0,02 +14,7 %	0,1 > p > 0,05 +12,4 %	0,2 > p > 0,1 +14 %	nem szign. -0,7 %	nem szign. +1,4 %	
	♀	♂	0,05 > p > 0,02 +43,1 %	0,3 > p > 0,2 +13,2 %	0,01 > p +40,3 %	nem szign. -1,9 %
Ca ⁺⁺ értékek	nem szign. +5,8 %	0,01 > p +48,5 %	0,01 > p +25,2 %	nem szign. +18,4 %	nem szign. -15,6 %	

önmagában. Az egyes csoportok a következők voltak: GK — újszülött korban gibberellinnel kezelt, felnőtt (4 hónapos) korban oldószert kapott (11 db); G/G = újszülött korban gibberellint kapott, felnőtt korban egymás utáni 3 napon át 10 mg/állat gibberellint kapott 1 ml oldatban (13 db); K/K = újszülött korban oldószert kapott, felnőtt korban ugyancsak oldószert kapott, K/G = újszülött korban oldószert, felnőtt korban 3 napon át 10–10 mg/állat gibberellint kapott. Az utolsó kezelés után 2 órával az állatok súlyát megmértük, éternarcosisban megnyitottuk mellkasukat és a jobb pitvar felvágásával vért vettünk. A vérsavóból a Ca értéket Joó (12) módszerével határoztuk meg. A vérvétellel egyidejűleg kivettük az állatok mellékveséjét, gonádjait és pajzsmirigyét és ezek súlyát lemértük. A szervsúlyokat a testsúlyra vonatkoztattuk. A kapott eredmények szignifikanciáját Student „t” teszttel értékeltük.

Eredmények és discussio

A kísérletek eredményeit — a változás %-ában kifejezve — és azok szignifikanciáját az 1. sz. táblázat mutatja.

A jelen kísérletek eredményei alátámasztották korábbi (7) észleléseinket, melyek szerint az újszülött korban adott egyetlen gibberellin kezelés hatása a felnőtt korban is mérhető és az endocrin szervek súlyát, illetve az egyes endocrin indexeket megváltoztatja. Így a jelenlegi eredmények szerint szignifikánsan csökken a here súlya, a szignifikancia határán nő az ovárium és a mellékvese súlya és szignifikánsan nő a Ca szint. Az utóbbi a korábbi kísérletekben (7) szintén növekedett, de szignifikáns eredményt nem adott.

A csak felnőtt korban végzett gibberellin kezelés csak a mellékvese súlyra hatott szignifikánsan. Különösen kifejezett volt a hím állatok mellékvese súlyának gyarapodása (43,1 %). Ez felveti azt a lehetőséget, hogy

1. a patkány egyes sejtjeinek van receptora a gibberellinre,
2. az állatok ontogenezise folyamán az újszülöttkorban még több szervben meglévő receptorok felnőtt korra csak a mellékvesére korlátozódnak,
3. a gibberellin aspecifikusan hat, és ennek eredménye a mellékvese súlynövekedése.

Jelen kísérleteink alapján nem lehet eldönteni, hogy a három lehetőség közül melyik a reális. Mindenesetre ténynek látszik az, hogy *a felnőttkori háromszori kezelés azonnal mért eredménye messze elmarad az újszülöttkori egyszeri kezelés felnőtt korban regisztrált széles körű hatásától.*

Az újszülött és felnőttkorban egyaránt gibberellinnel kezelt állatok értékei az ovárium súlyától eltekintve még nagyobb mértékben és szignifikánsan térnek el a kontrolloktól, mint a csak újszülött korban kezelték. Ez arra utal, hogy a felnőttkori kezelés ráakódik az újszülöttkorira. Ez az eltérés azonban nem olyan nagyfokú — különösen, ha figyelembe vesszük a csak felnőtt korban gibberellinnel kezeltéktől való eltérés nem szignifikáns voltát — hogy ebből a receptor gibberellin-szerű idomulására lehetne következtetni.

Külön problémát jelent a jelenség receptor szinten történő értékelése. Ha ugyanis feltételezzük, hogy a receptor az újszülöttkori gibberellin kezelés hatására megváltozik, akkor azt is fel kell tételeznünk, hogy az újszülöttkorban jelen levő mirigysejtek utódsejtjei ezt a receptor mintázatot öröklik. Ez akár a membránreceptorok, akár a cytosol receptor esetében csak akkor volna érthető, ha 1. a sejt az újszülött kortól a felnőtt korig azonos, (tehát nem új

osztódás révén jött létre), vagy 2. a receptor fehérjében történő változás mélyreható és visszahat az RNS ill. a DNS szintre. 3. a membrán receptor esetében elképzelhető, hogy az osztódáskor létrejövő membrán folytonosság biztosítja a receptor átörökítését. E kérdés tisztázására további kísérletek szükségesek.

Összefoglalás

Az újszülött korban adott egyszeri gibberellin kezelés — a korábbi kísérleteknek megfelelően — számottevően befolyásolt egyes endocrin indexeket felnőtt korban. Növelte a pajzsmirigy, az ovárium, a mellékvese súlyát, illetve a vér Ca szintet és csökkentette a here súlyát. A kezelés megismétlése felnőttkorban az eltéréseket még kifejezettebbé tette. A csak felnőttkori kezelés egyedül a mellékvese súlyát változtatta meg — növelte — szignifikánsan, különösen a hím állatok esetében.

IRODALOM

1. CSABA, G., LANTOS, T.: (1973) Effect of hormones on Protozoa. Studies on the phagocytotic effect of histamine, 5-hydroxytryptamine and indole acetic acid in *Tetrahymena pyriformis*. *Cytobiologie* **7**, 361—365.
2. CSABA, G., BIERBAUER, J.: (1974) Investigation on the specificity of hormone receptors in Planarians. *Gen. Comp. Endocrinol.* **22**, 132—134.
3. CSABA, G.: (1975) Néhány gondolat a hormonreceptorok filo- és ontogeneziséről. *Biológia*. **23**, 37—44.
4. CSABA, G., BIERBAUER, J.: (1975) Universality of gonadotropic hormone effect. Effect of mammalian FSH on the ovotestis of the snail *Helix pomatia*. *Acta biol. med. germ.* **34**, 269—273.
5. CSABA, G., LANTOS, T.: (1975) Effect of insulin on the glucose uptake of Protozoa. *Experientia*. **31**, 1097—1098.
6. CSABA, G., LANTOS, T.: Specificity of hormone receptors in *Tetrahymena*. Experiments with serotonin and histamine antagonists. *Cytobiologie* **11**, 44—49.
7. CSABA, G., DARVAS, S., LÁSZLÓ, V.: (1976) Növényi hormon — gibberellin — újszülöttkori alkalmazásának hatása patkányban. *Biológia*. **24**, 121—125
8. CSABA, G., LANTOS, T.: (1976) Effect of amino acid and polypeptide hormones on the phagocytosis of *Tetrahymena pyriformis*. *Acta Protozool.* **37**, 409—431
9. CSABA, G., NAGY, S. U.: (1976) Plasticity of hormone receptors and possibility of their deformation in neonatal age. *Experientia*, **32**, 651
10. CSABA, G., LANTOS, T.: (1976) Effect of epinephrine on the glucose intake of *Tetrahymena*. *Endocrinologie* **68**, 239—240
11. FARKAS, G.: (1977) Hormonális szabályozás a növényvilágban. In: CSABA G. (ed.) *A biológiai szabályozás*. Medicina. Budapest.
12. JOÓ, I.: (1975) A vér és vizelet Ca tartalmának meghatározása spektrofotometriás mikromódszerrel. *Kísérl. Orvostud.* **27**, 316—320.
13. LANG, A.: (1970) Gibberellin: structure and metabolism. *Ann. Rev. Plant. Physiol.* **21**, 537—570.
14. LEGROS, F., UYDENTHOEF, P., DUMONT, I., HANAN, B., JEANMART, J., MASSONT, B., CONARD, V.: (1975) Specific binding of insulin to the unicellular alga *Acetabularia mediterranea*. **86**, 119—134.

**ACTION OF THE PLANT HORMONE *GIBBERELLIN* ADMINISTERED IN POSTNATAL
OR ADULT AGE IN RATS.**

G. Csaba, V. László and Zs. Darvas

Institute of Biology, Semmelweis University of Medicine, Budapest

In agreement with earlier experiments, one single dose of gibberellin given to the newborn influenced significantly some endocrine indices in the adult age. It increased the weight of the thyroid gland, of the ovary and of the adrenal glands as well as the Ca level in the blood while decreasing the weight of the testis. Repeating the treatment in adult age made the differences even sharper. The administration of the hormone only in adult age altered, significantly, namely increased, the adrenal weight exclusively, first of all in males.

A MEMBRÁN-SZERKEZET, VALAMINT A KÉT FOTOKÉMIAI RENDSZER AKTIVITÁSÁNAK ÖSSZEFÜGGÉSE NORMÁLIS ÉS MUTÁNS TRADESCANTIA KLOROPLASZTISZOKBAN

KERESZTES ÁRON, MIKE R. DAVEY és LÁNG FERENC

ELTE Növény szervezettani Tanszék, Budapest
Department of Botany, University of Nottingham, Nottingham, England
ELTE Növényélettani Tanszék, Budapest

Beérkezett: 1976. április 8-án

Kulcsszavak: kloroplasztisz, membrán, fotoszintézis, ultrastruktúra

1. Bevezetés

A fotoszintetikus membrán finomszerkezete, ezen belül is főként a fagyasztva maratás után látható különböző membrán-partikulumok elrendeződése és funkciója, jelenleg is élénk vita tárgyát képezi az irodalomban. ARNTZEN DILLEY és CRANE (2) a tilakoid-membrán belső rétegéhez tartozó kb. 170 Å méretű partikulumokat a 2. fotokémiai rendszer (PSII.) „markereinek”, a külső réteghez tartozó kb. 110 Å-ös partikulumokat az 1. fotokémiai rendszer (PSI.) „markereinek” tekinti. SANE, GOODCHILD és PARK (28) kimutatja, hogy a sztróma-membránok és a terminális gránum-membránok csak 110 Å-ös partikulumokat tartalmaznak, a gránumban az összekapcsolódott membrán-régiók (partitionok) membránjai viszont mind a 170 Å, mind a 110 Å méretű partikulumokat tartalmazták. Nevezett szerzők — ARNTZEN és munkatársai eredményeit megerősítve — megállapítják továbbá, hogy a partitionokban mindkét fotorendszer működik, a sztrómalamellákban és a terminális gránum-membránokban ellenben csak a PSI., mely itt főként a ciklikus fényfoszforilációt végezheti.

Ennek az összefüggő koncepciónak ellentmondanak HALL, EDGE és KALINA (12) vizsgálatai, melyek fentiekhez hasonlóan szintén spenót-kloroplasztiszokon történtek. Idézett szerzők elektronmikroszkópos festési eljárás alapján arra következtetnek, hogy a PSII. aktivitás nem korlátozódik a gránumokra. GOODENOUGH és STAEHELIN (9) *Chlamydomonas* mutánsokkal dolgozva azt találták, hogy a 160 ± 10 Å partikulumok hiánya nem jelenti a PSII. aktivitás kiesését, de együtt jár a membrán-kapcsolódás elmaradásával.

Fenti probléma tisztázásához kívántunk hozzájárulni a *Tradescantia albiflora* cv. *aureo-vittata* mutáns plasztiszainak finomszerkezeti és fiziológiai vizsgálatával.

2. Anyag és módszerek

2.1. Anyag és mintavétel

Vizsgálatainkat a *Tradescantia albiflora* cv. *aureo-vittata* Kunth em. Brückn. (7) variegált levelein, illetve izolált normális és mutáns plasztiszain végeztük. Olyan esetben, amikor a plasztiszokat egyedileg vizsgálhattuk

(fagyasztva maratásos elektronmikroszkópia), csak fiatal levelekkel dolgoztunk, minthogy ezek mutáns szegmentjeiből mind makrogránumos, mind makrogránum nélküli plasztiszok nyerhetők (18, 19). Levéldarabok, vagy homogenátumok globális vizsgálata esetén (alacsony hőmérsékletű fluoreszcencia, O_2 -fejlesztés, P_{700} fotooxidáció, $^{14}CO_2$ -beépítés) összehasonlítás céljából szükség volt idősebb levelekre is, melyek mutáns szegmentjeiben a makrogránumos plasztisz-típus hiányzik.

2.2. Fagyasztva maratásos elektronmikroszkópia

A normális levéldarabokat NOBEL (26) gyors módszere szerint hideg mozsárban eldörzsöltük kevés 0,01 M Tris—HCl (pH 7,9) pufferrel, mely 0,25 M szaharózt tartalmazott. Mutáns plasztiszokhoz az izolációs médium 0,5 M Tris—HCl (pH 8,0) puffer volt, mely 0,5 M szaharózt, 0,001 M $MgCl_2$ -ot és 0,2 % szérum albumint tartalmazott (17). A homogenátumot asztali centrifugán frakcionáltuk, majd a plasztisz üledéket a Tris kiküszöbölése céljából az izolációs médiumhoz alkalmazott összetételű foszfát-pufferrel reszuszpendáltuk (6). Fixálás azonos térfogatú 2 %-os glutáraldehid oldattal (GA 0,1 M foszfát-pufferben, melynek összetétele az előbbiekhöz igazodik) minimum 30 percig szobahőmérsékleten. Kétszeri mosás tiszta 0,1 M foszfát-pufferben, majd azonos térfogatú 50 %-os glicerint adtunk a szuszpenzióhoz.

A fagyasztva maratásos replikákat MOOR és MÜHLETHALER (24) szerint készítettük Balzers BA 360 M készülékben, 1 perces maratást alkalmazva, $-100\text{ }^\circ\text{C}$ -on. A platina réteget QSG 201 kvarckristály monitor segítségével 20 Å vastagságúra állítottuk be. A replikákat 5 %-os hipoklorit oldatban és 70 %-os kénsavban tisztítottuk 3—3 óráig, majd AEI Corinth 275 elektronmikroszkópban vizsgáltuk.

A méréseket nagyított fényképmásolatokon végeztük 2 mm-es osztásvonalú objektív-mikrométer segítségével Zeiss sztereo-mikroszkópban. A partikulumok szélességét az árnyékvonalnál mértük, kétes esetben a minimális értéket vettük.

2.3. Alacsony hőmérsékletű fluoreszcencia

A leveleket két transzparens műanyaglap közé helyeztük, melyek folyékony nitrogént tartalmazó foncsorozatlan Dewar-edénybe merültek. A gerjesztő fényforrás 200 W-os nagynyomású higanygőzlámpa volt. A fluoreszcencia gerjesztésére a higany 435 nm-es vonalát használtuk (BG 7, BG 12 szűrők közbeiktatásával). A fluoreszcencia fényt RG 1 filteren keresztül Hilger-Watts D 330 rácsos monokromátor bemenő részére fókuszáltuk és fotoelektron-sokszorozóval (FEU-38) detektáltuk. A fotoelektron-sokszorozóról a kimenő jelet egy erősítőre, majd egy Kipp-Zonen Micrograph BD-5 típusú regisztrálóra vittük.

2.4. O_2 -fejlesztés

Az oxigénfejlődés sebességét oxigén elektróddal mértük, áramoltatásos módszerrel. A méréshez platina és ezüst-ezüstklorid elektródot használtunk, az áramoltató folyadék 0,1 N KCl oldat volt (22). Az elektródokról a jelet KUTESZ 170 típusú kompenzográfra vittük.

2.5. P_{700} fotooxidáció

A plasztiszok izolálásához a levéldarabokat az AVRON (3) által ajánlott médiumban eldörzsöltük (0,05 M pH 7,8 Tris-HCl, 0,4 M szaharóz, 0,01 M NaCl, 0,02 M Na-aszkorbát, melyet MIFLIN és HAGEMANN (23) szerint 0,005 M cisztein HCl-el egészítettünk ki). A műanyag szöveten átszűrt homogenátumból kiülepítettük a kristályokat és a törmeléket, majd 1500 g-vel 20 perc alatt előállítottuk a plasztisz-üledéket. Ezt az ANDERSON és BOARDMAN (1) által megadott médiumban (0,05 M pH 7,4 foszfát-puffer, 0,3 M szaharóz, 0,01 M KCl) felszuszpendáltuk, majd 3,5 ml szuszpenzióhoz hozzáadtunk 1 ml AVRON-médiumot (hogy annak aszkorbát-tartalma redukálja az oxidált P_{700} -at), valamint 0,5 ml 0,6 %-os digitonin oldatot. A P_{700} fotooxidációt Aminco DW-2 UV/VIS spektrofotométeren mértük 700 nm-nél, „split beam” beállításban. Hogy az egyik küvettában levő szuszpenziót a gerjesztő kék fényvel megvilágíthassuk, a küvetta-házat nyílással láttuk el.

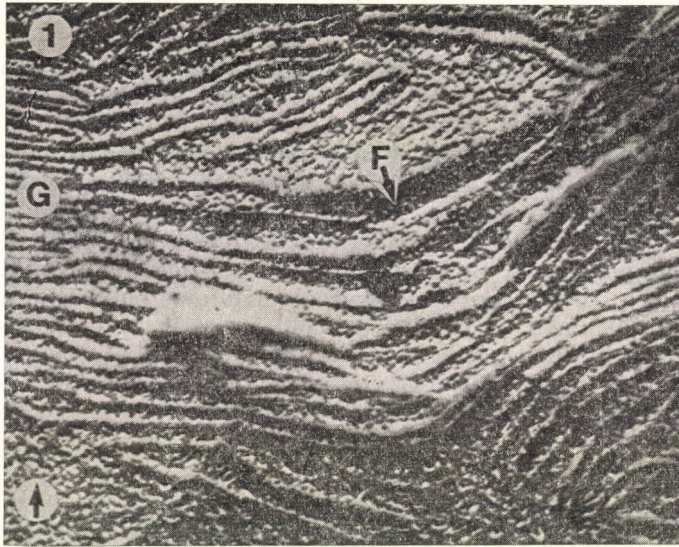
2.6. CO_2 -beépítés

A mérés izotóp jelzéses módszerrel történt. Zárt térben $Ba^{14}CO_3$ -ból $HClO_4$ -val $^{14}CO_2$ -t szabadítottunk fel. A gáztérben a CO_2 koncentrációja 0,5 térfogat-% volt, a specifikus aktivitása pedig 100 $\mu Ci/ml$. Expozíció előtt a leveleket normális és mutáns szegmentekre vágtuk, ezeket műanyaglapra helyeztük és műanyagháloval rögzítettük. Néhány szegmentet fekete papírral letakartunk a sötétfixálás meghatározása céljából. A műanyaglapot higanyzáron keresztül juttattuk az izotópos gáztérbe. Az expozíció ideje 15 perc volt 5000 lux megvilágítás mellett. A szegmentekből azonos méretű korongokat vágunk ki, ezeket vasalással kiszárítottuk, majd aktivitásukat Beckmann LS-100C folyadékszcintillációs berendezéssel mértük.

3. Eredmények

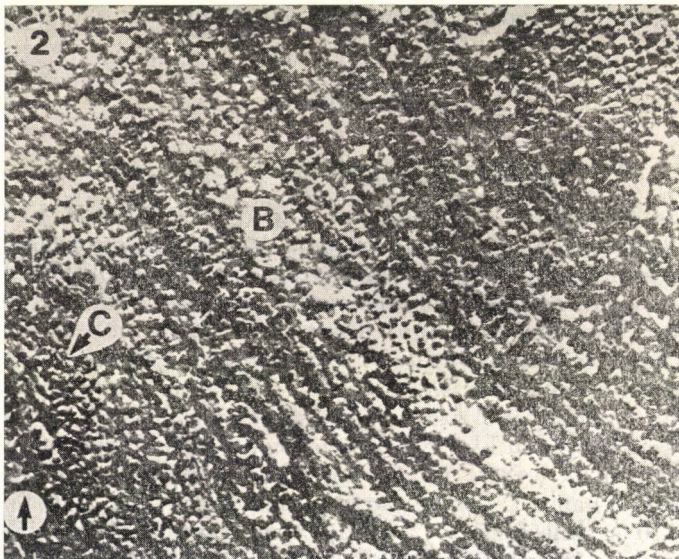
3.1. Fagyasztva maratásos elektronmikroszkópia

Normális kloroplasztiszok: Jóllehet nagyobbrészt sérült határhártyájú plasztiszokat kaptunk, a gránum és sztróma régiók világosan elkülöníthetők, a tilakoidok a gránumokban együtt maradtak. A partitionok középvonalaiban keskeny árnyékvonal húzódik, elkülönítve a partition 2 rétegét, és jelezve a két réteg közötti állomány nagyobb víztartalmát (1. ábra). A membrán felszínüket — BRANTON és PARK (5) általánosan elfogadott koncepciója szerint — hasadás útján felszínre került belső törési síkként értelmeztük. Bizonyíthatóan sztróma — lamellából származó felszínt csak néhány esetben sikerült kapnunk, ezeken átlagosan kb. 110 Å szélességű partikulumokat találtunk (1. ábra). A partikulumok mérete viszonylag itt a legváltozatosabb (I. táblázat). A gránum-lamellákban a C felszín partikulumai kb. 110 Å, a B felszín partikulumai kb. 170 Å szélességűek (2. ábra). A minták egy csoportjában (amely a legrövidebb ideig, kb. 12 óráig volt glicerinnel infiltrálva) erős jégkristályképződés történt. Az ebből származó membrán-törési felszíneken a partikulumok 15–20 %-kal kisebbek, mint egyebütt. Ezeket nem vettük tekintetbe a felszínnek jellemzésénél.



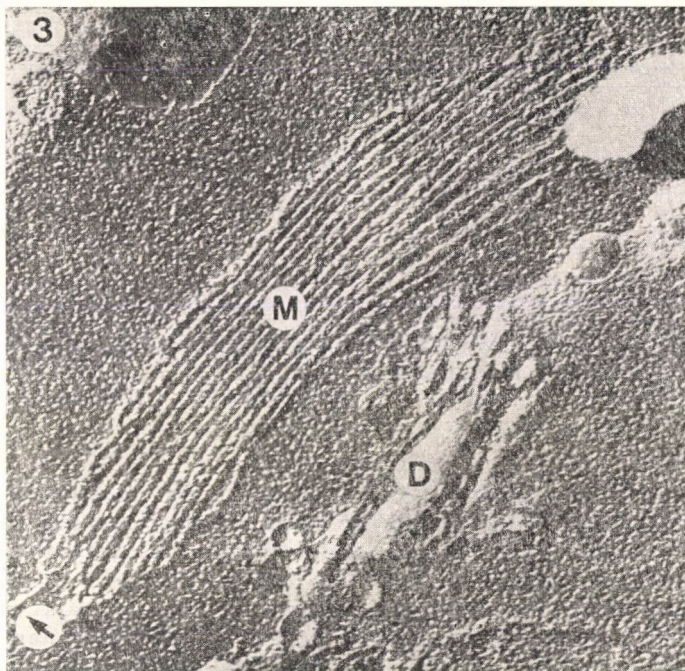
1. ábra. Részlet normális kloroplasztiszból. G = keresztbe tört gránum, F = sztróma-lamella. Ezen és a következő felvételeken a bal alsó sarokban levő nyíl a platina-szén árnyékolás irányát jelzi. 71 400 x.

Fig. 1. Part of a normal chloroplast. G = cross-fractured granum, F = fret membrane. In this and the following micrographs arrow in lower left corner indicates direction of platinum-carbon shadowing. 71 400 x.

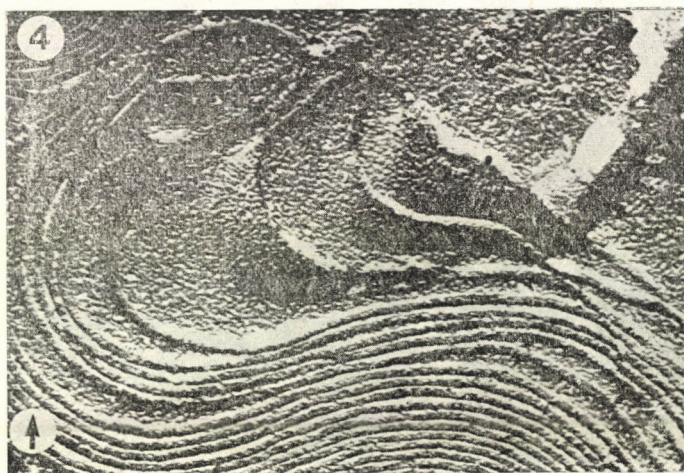


2. ábra. Részlet normális kloroplasztisz gránumából. Ezen és a további felvételeken B = B felszín, C = C felszín. 107 000 x.

Fig. 2. Part of a granum in a normal chloroplast. In this and the following micrographs B = B face, C = C face. 107 000 x.



3. ábra. Keresztbe tört makrogránum (M) és diktioszóma (D). 71 400 \times .
Fig. 3. Cross-fractured macrogranum (M) and dictyosome (D). 71 400 \times

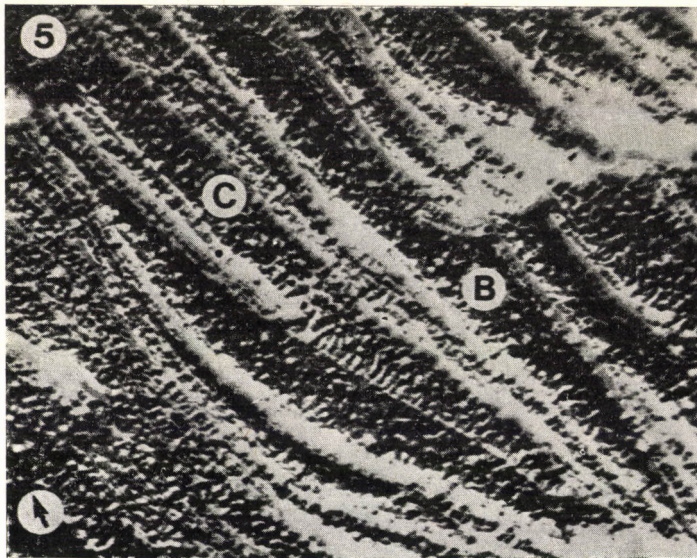


4. ábra. Részben dilatált makrogránum részlete, 71 400 \times
Fig. 4. Partly dilated macrogranum, 71 400 \times

I. Táblázat. Membrán-partikulum méretek

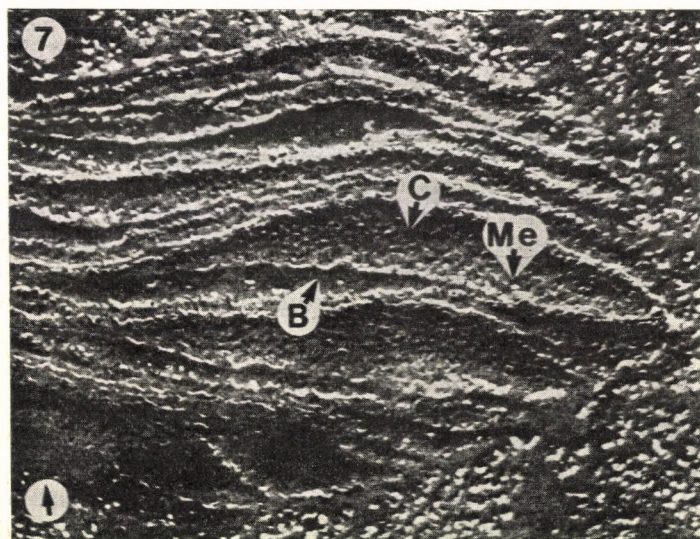
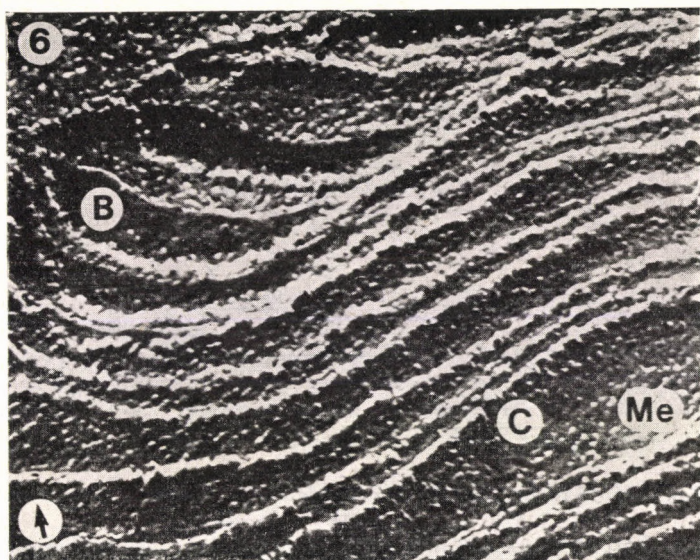
Szegment	Membrán	Partikulum (lyuk*) méret Å-ben	
Normális	Gránum	B felszín	$171 \pm 4,8$
		C felszín	$111 \pm 5,6$
	Sztróma	C felszín	$106 \pm 7,7$
		B felszín	$144 \pm 6,6$
Mutáns	Intakt makrogránum	C felszín	$113 \pm 5,1$
		B felszín	$110 \pm 6,9^*$
	Dilatált makrogránum	C felszín	$89 \pm 3,4$

Mutáns kloroplasztiszok: Gyakorlatilag tiszta makrogránumfrakciót izoláltunk, a ritkán előforduló szennyeződés (pl. diktioszóma) mindig világosan felismerhető volt (3. ábra). A makrogránumokban a tilakoidok belső tere általában teljesen redukálódott, így a partitionok szorosan egymás mellett fekszenek. Belsejükben árnyékvonal általában nem látható. Saját vastagságuk árnyékuk miatt pontosan nem mérhető ugyan, de nem lehet nagyobb, mint 3/5-e a normálisnak. Több esetben megfigyeltünk dilatált tilakoidokat is, főként a makrogránumok szélén (4. ábra). Korábbi elektronmikroszkópos vizsgálataink (19) alapján úgy véljük, hogy ezek nem preparatív műtermékek, hanem a makrogránumok kezdődő destrukcióját jelzik.



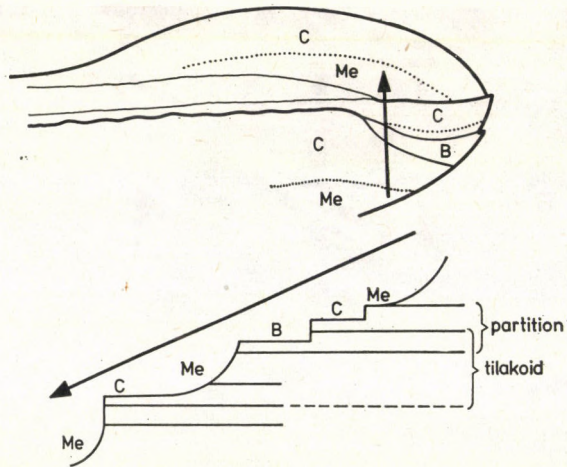
5. ábra. Részlet intakt makrogránumból. 107 000 ×

Fig. 5. Part of an intact macrogranum. 107 000 ×



6-7. ábra. Részletek dilatált makrogránumokból. Me = médium. 107 000 ×
 Figs. 6-7. Parts of dilated macrograna. Me = medium. 107 000 ×

A kétféle törési felszín a makrogránumokban is világosan megkülönböztethető. Intakt makrogránumban (5. ábra) a C felszín képe megegyezik a normálissal, a B felszín partikulumai ellenben kb. 30 Å-gel kisebbek, mint a normális gránumban (I. táblázat). Dilatált makrogránumokban (6. és 7. ábra) mindkét törési felszínen szignifikánsan csökken a partikulumok mérete (I.



8. ábra. A 7. ábra középső részének vázlatrajza részletesebb jelöléssel. A törési síkok pozíciója a nyíl mentén felvett átmetszetben

Fig. 8. The central part of Fig. 7 in drawing, with more detailed labelling. Position of fracture faces in cross section along the arrow

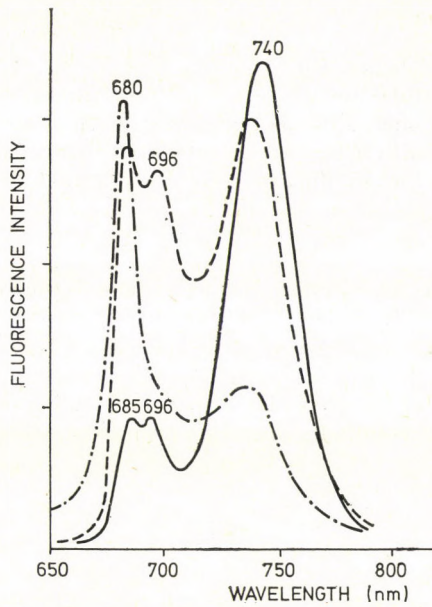
táblázat), a B felszínen a száma is. A B felszín csaknem teljesen sima, csak igen kevés partikulum és ugyanolyan méretű bemélyedés figyelhető meg rajta. Az eltávolodott partitionok közötti médium törési felszíne eltér a membránokétól és megegyezik a makrogránumon kívüli médium felszínével. Egyes esetekben a membrán-felszínek azonosítása pozíciójuk alapján is elvégezhető. Így pl. a 7. ábra elemzéséből (melyet rajzban a 8. ábrán adunk meg) kiténik, hogy a C felszínek mindig a fagyasztva maradt partitionok felszínét alkotják, a B felszínek pedig a partitionok belsejéből származnak, vagyis ott jelennek meg, ahol a partition 2 membránja nem egy vonal mentén tört el. Ezek a megfigyelések megerősítik a felszínek eddigiekben ismertett értelmzését.

3.2. Alacsony hőmérsékletű fluoreszcencia

A klorofill molekulák állapotának vizsgálatára felvettük a normális, valamint a fiatal és idős mutáns levélszegmentek fluoreszcencia-spektrumát a folyékony N_2 hőmérsékletén (9. ábra). A fluoreszcencia maximumok normális levélben 740, 696 és 685 nm-nél, fiatal mutánsban 735, 696 és 680 nm-nél, idős mutánsban 735 és 680 nm-nél vannak. A hosszabb és rövidebb hullámhosszú fluoreszcencia maximumok aránya normális levélben kb. 3,5, fiatal mutánsban kb. 1,0. Idős mutáns levelek fluoreszcencia-spektrumában a hosszú hullámú maximum intenzitása minimális, a 696 nm-es sáv eltűnik, egyidejűleg a 680 nm-es sáv dominálóvá válik. Ez a spektrum jellegében hasonló a klorofill-oldatok spektrumához.

3.3. O_2 -fejlesztés

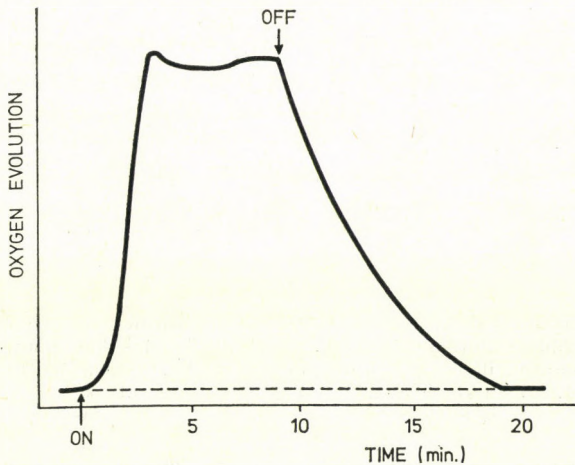
A normális levelek O_2 -fejlesztése az irodalomból ismert jellegzetes kinetikát mutatja. A mutáns szegmentek közül még a legzöldebbekben sem lehetett



9. ábra. Normális (—), fiatal mutáns (---) és idős mutáns (- · - · -) levélszegmentek alacsony hőmérsékletű fluoreszcencia spektruma

Fig. 9. Low temperature fluorescence spectra of normal (—), young mutant (---) and aged mutant (- · - · -) leaf segments

O₂-termelést detektálni (10. ábra). E tekintetben hatástalan maradt a vastag epidermisz óvatos roncsolása is dörzspapírral, amely eljárás egyébként normális leveleknél észrevehetően elősegítette a diffúziót.



10. ábra. Az O₂-fejlesztés kinetikája normális (—) és mutáns (---) levélszegmentekben. ON = fény bekapcsolása, OFF = fény kikapcsolása

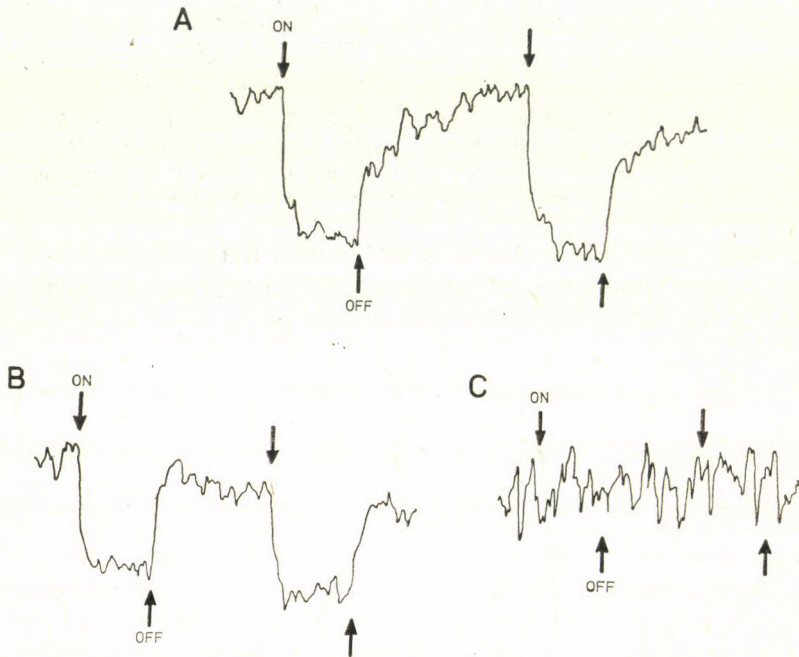
Fig. 10. Kinetics of O₂ evolution in normal (—) and mutant (---) leaf segments. ON = light on, OFF = light off

3.4. P_{700} fotooxidáció

Mint a 11. ábrán látható, a zöldes mutáns levelek vagy levélszegmentek kloroplasztiszai szignifikáns P_{700} jelet adnak, ami azt mutatja, hogy ezek a plasztiszok rendelkeznek PSI. aktivitással. Ezzel szemben a színtelen mutáns levélszövet plasztiszáiban P_{700} -at nem lehetett kimutatni. A jelek amplitúdója fenazin-metoszulfát hozzáadására nem növekedett.

3.5. CO_2 -beépítés

A $^{14}CO_2$ -fixálás méréséhez mindig a lehető legzöldebb mutáns szegmen-
teket használtuk. A II. táblázatban feltüntetett adatok olyan levelekből szár-
maznak, melyek mutáns szegmentjeiben az össz-klorofilltartalom $298 \mu g/g$ friss
súly volt. Ez a maximális érték, amit eddig mutánsban mértünk. (19,7 %-a
a kontrollnak). A mutáns szegmentek $^{14}CO_2$ -fixálása (F—S) egyik mérési sorozatban sem adódott többnek, mint a normális érték 0,4 %-a.



11. ábra. A P_{700} fényindukált abszorpció-változása 700 nm-nél. A = normális levelek kloroplasztiszai; B = zöldes mutáns levélszegmentek ill. levelek kloroplasztiszai; C = színtelen mutáns levélszegmentek ill. levelek kloroplasztiszai. A szuszpenziók klorofill-koncentrációi: A = 10,9 nmól/ml, kl-a/kl-b = 2,49; B = 13,1 nmol/ml, kl-a/kl-b = 1,84; C = 1,5 nmol/ml, kl-a/kl-b = 1,89 ON = gerjesztő fény bekapcsolása, OFF = gerjesztő fény kikapcsolása

Fig. 11. Light induced absorbance changes of P_{700} at 700 nm. A = chloroplasts from normal leaves, B = chloroplasts from light green mutant leaves or leaf segments, C = chloroplasts from colourless mutant leaves or leaf segments. Chlorophyll concentrations in the suspensions: A = 10.9 nmole/ml, chl-a/chl-b = 2.49; B = 13.1 nmole/ml, chl-a/chl-b = 1.84; C = 1.5 nmole/ml, chl-a/chl-b = 1.89; ON = light on, OFF = light off

4. Megvitatás

Mind a normális, mind a mutáns anyagról készült replikáinkon a lamelláris rendszer elrendeződése megegyezik azzal, ami ultravékony metszeteinkben látható (19, 11).

II. Táblázat. Izolált fiatal levél-szegmentek $^{14}\text{CO}_2$ -beépítése cpm-ben kifejezve

	Normális	Mutáns
Fény (F)	250 602 ± 17 099	1736 ± 56
Sötét (S)	1 339 ± 97	1009 ± 270
F-S	249 263 100 %	727 0,29 %

A normális sztróma- és gránum-lamellák partikulumain végzett méréseink eredményei összhangban állnak a sztróma- és gránum-membránok eltérő felépítésére utaló vizsgálatokkal (28, 29, 8). Az általunk megállapított partikulum méretek egybeesnek az idézett szerzők, valamint BRANTON és PARK (5) által spenóthba mért értékekkel, jóllehet utóbbi szerzők leírásából kitűnik, hogy nem a partikulumok szélességét, hanem az árnyékok hosszúságát határozták meg. Az a következtetésünk, hogy a partitionok középső rétegének víztartalma viszonylag magas, nem támasztja alá WEIER és BENSON (34) nézetét ennek a rétegnek a hidrofób karakteréről. Összhangban van viszont azokkal a kísérleti eredményekkel, melyek szerint a membrán-kapcsolódás (stacking) a közeg sókoncentrációjától függő folyamat (16, 9).

GOODENOUGH és STAEHELIN (9) és STAEHELIN (32) a membrán-kapcsolódást a kontakt régiók B felszíneinek $160 \pm 10 \text{ \AA}$ méretű partikulumaival hozza összefüggésbe. Az általunk vizsgált mutáns plasztiszok makrogránumaiba kiterjedt és szoros membrán-kapcsolódás áll fenn, jóllehet a B felszíneken a normálisnál szignifikánsan kisebb partikulumok figyelhetők meg. A makrogránumok dilatációja során a B felszín gyakorlatilag partikulum-mentessé válik, a partitionok szétválása azonban csak a plasztisz-destrukció későbbi szakaszában következik be. A membrán-kapcsolódás, valamint a nagy partikulumok megléte, illetve hiánya között más szerzők sem találtak összefüggést (27, 30). Újabban *Chlamydomonas*ban sikerült elkülöníteni egy 24 000 dalton molekulásúlyú polipeptidet, *Streptanthus*ban pedig egy 33 000 dalton molekulásúlyú polipeptidet, melyek szerepet játszhatnak a membrán-kapcsolódásban (25, 31). Ezek konformációja és elhelyezkedése a membránban azonban egyelőre nem ismeretes. Vizsgálataink alapján valószínűnek látszik, hogy a dilatálódó makrogránumokban a tilakoidok térfogatváltozása összefügg a tilakoid-membrán szerkezetváltozásával.

Az izolált mutáns levélszegmentek fény-stimulált CO_2 -fixálása elhanyagolhatóan csekély a normális levélszegmentekéhez képest. Hogy CO_2 -megkötésük fényben mindig több valamivel, mint sötétben, az magyarázható egyrészt azzal a ténnyel, hogy epidermiszük normális sztóma-zárósejteket tartalmaz (18, 33), másrészt esetleg számításba jöhet egy fény-stimulált sötét-fixációs mechanizmus is. Ezek az adatok nincsenek összhangban korábbi méréseinkkel

(19), melyeket intakt leveleken végeztünk. Az ellentmondás oka nyilvánvalóan az, hogy intakt levelek használata esetén a mutáns szegmentek már az expozíció alatt jelentős mennyiségű jelzett terméket vesznek át a normálisakból, így jelölődésük inkább a transzport mértékére, semmint saját fotoszintézisükre nyújt információt. Ennek felismerése arra indított bennünket, hogy megvizsgáljuk a fény szerepét a jelzett produktumok transzportjában, amire anyagunk ideális objektumnak bizonyult. Ezekről a vizsgálatainkról egy későbbi közleményünkben számolunk be.

Méréseink szerint (11) a fotoszintézis blokkja nem a ribulóz-1,5-difoszfát karboxiláz enzimvel kapcsolatos, minthogy ez az enzim, bár erősen csökkent mennyiségben, de jelen van és mérhető aktivitású a mutáns szegmentekben. Hasonlóképpen nem lehet felelős a működésképtelenségért a klorofill-tartalom csökkenése sem, tekintve, hogy ez a fiatal mutáns szövetekben mérsékelt megvilágítás mellett nem olyan mérvű, ami kizárná a fotoszintézis lehetőségét. Ezt támasztja alá HERRMANN és HAGEMANN (14) vizsgálata a *Pelargonium zonale* két mutánsán. A „Cloth of Gold” nukleáris mutánsnak a levelei 14 % klorofillt tartalmaznak a normálhoz képest, mégis fotoszintetizálnak. A „Mrs. Pollock” plasztom-mutáns 41 %-nyi klorofilltartalmával képtelen fotoszintézisre. Ugyancsak működésképtelen az *Antirrhinum majus* en: alba-1 mutánsa (13), valamint az en: viridis-1 mutánsa (15), melyek szintén plasztom mutánsok. Figyelemre méltó ezzel kapcsolatban, hogy vizsgálati anyagunkban „mixed cell”-ek előfordulása alapján ugyancsak plasztom-mutációt valószínűsítettünk (18).

A fotoszintézis-blokk helyeként az O_2 -fejlesztés hiánya alapján a PSII.-t jelölhetjük meg. Az alacsony hőmérsékletű fluoreszcencia-maximumok helyéből és arányából úgy tűnik, hogy a PSII. aktivitásának hiányáért a fiatal mutáns levelekben nem a klorofillok állapotváltozása a felelős, mivel ismeretesek olyan mutánsok, melyekben hasonló jellegű spektrális eltérések ellenére is kimutatható PSII. aktivitás (21, 20). A PSI.-t a P_{700} reverzibilis fotooxidációja alapján intakt makrogránumos plasztiszokban épnek minősíthetjük, a makrogránum nélküli destruálódott plasztiszokban azonban a PSI. is deficienssé válik. A fotoszisztémák állapotával szoros korrelációt mutatnak a fagyasztva maradt membrán-felszínek, amennyiben a B felszín partikulumai már az intakt makrogránumban is szignifikánsan kisebbek, mint a kontrollban, a C felszín partikulumai viszont csak a dilatálódó makrogránumokban (tehát a destrukció megindulásával) válnak abnormálissá. Ezek az eredmények egyértelműen alátámasztják ARNTZEN, DILLEY és CRANE (2) vitatott koncepcióját, mely szerint a PSII. aktivitás a B felszín 170 Å méretű partikulumaival, a PSI. aktivitás a C felszín 110 Å méretű partikulumaival függ össze.

Ebben az esetben azonban joggal merül fel a kérdés, hogyan magyarázható mégis bizonyos mértékű PSII. aktivitás olyan plasztiszokban, melyek nem tartalmaznak gránumokat és 170 Å partikulumokat (*Chlamydomonas* ac-5 mutáns (9), *Zea* nyalábhüvely-plasztiszok (4)). Ennek az ellentmondásnak a magyarázatára feltételezzük, hogy a 170 Å partikulumokat felépítő alegységek (5) dezaggregált állapotban a nem kapcsolódó membrán-régiókban is jelen lehetnek, és ott korlátozott PSII. aktivitást biztosíthatnak. Aggregálódnak és maximális intenzitással működni azonban csak a gránumokban képesek.

A gránum-fejlődés során a dezaggregált alegységek a sztróma-membránokból bejuthatnak a gránum-membránokba és ott nagy partikulumokat képezhetnek. Erre módot ad egyrészt az a körülmény, hogy minden gránum-

tilakoid egy vagy több sztróma-tilakoiddel kontinuusan összefügg (10), másrészt a partikulumok laterális mozgási lehetősége a membránban (32).

Amennyiben a genetikai defektus ezeket az alegységeket (vagy ezek valamelyikét) érinti, akkor PSII. aktivitás sem az összekapcsolt, sem a kapcsolódás nélküli membránokban nem észlelhető. Úgy gondoljuk, hogy ez az eset áll fenn az általunk vizsgált mutáns *Tradescantia* plasztiszokban.

Összefoglalás

Szerzők a *Tradescantia albiflora* cv. *aureo-vittata* normális és mutáns plasztiszáiban vizsgálták a membrán-szerkezetet és a fotoszintetikus aktivitást. Megállapították, hogy a mutáns plasztiszok összekapcsolt membrán-régióiban (a makrogránumokban) a B törési felszínről hiányzanak a 170 Å méretű partikulumok és nincs PSII. aktivitás. Ugyanitt a C felszín normális kialakulású (110 Å átlagos partikulum méret) és a PSI. aktivitás is hasonló a kontrollhoz. A dilatált makrogránumokban a C felszínen is szignifikánsan csökken a partikulumok mérete, és a plasztisz-destrukció előrehaladtával megszűnik a PSI. aktivitás is.

Ezek az eredmények arra mutatnak, hogy a B felszín nagy partikulumainak kialakulása nem szükségszerű velejárója a membrán-kapcsolódásnak, de szükséges a PSII. aktivitáshoz. Hasonló összefüggés állhat fenn a C felszín partikulumai és a PSI. aktivitás között. Szerzők javaslatot tesznek a gránumon kívüli PSII. aktivitás értelmezésére.

Köszönetnyilvánítás

E munka fagyasztva maratórészé az első szerzőnek az Angol—Magyar Kulturális Csereprogram keretében történt angliai tanulmányútja során készült. Köszönet illeti ezért a lehetőségért a magyar Országos Ösztöndíj Tanácsot, a British Councilt, továbbá Prof. E. C. Cockingot a Nottinghami Egyetem Növénytani Tanszékének vezetőjét, vendégszeretetéért és megértő támogatásáért. A szerzők köszönetüket fejezik ki Dr. Faludi-Dániel Ágnesnek, aki a Szegedi Biológiai Központban segítséget nyújtott a P_{700} mérésében.

Dr. Keresztes Áron
ELTE Növényfiziológiai Tanszék

Dr. Láng Ferenc
ELTE Növényélettani Tanszék

1088. Budapest,
Múzeum krt. 4/a.

Dr. Mike R. Davey
Department of Botany,
University Park
Nottingham NG7 2RD
England, U.K.

IRODALOM

1. ANDERSON, J. M., BOARDMAN, N. K. (1966) Fractionation of the photochemical systems of photosynthesis. I. Chlorophyll contents and photochemical activities. *Biochim. Biophys. Acta* **112**, 403–421.
2. ARNTZEN, C. J., DILLEY, R. A., CRANE, F. L. (1969) A comparison of chloroplast membrane surfaces visualized by freeze-etch and negative staining techniques, and ultrastructural characterization of membrane fractions obtained from digitonin-treated spinach chloroplasts. *J. Cell Biol.* **43**, 16–31.

3. AVRON, M. (1960) Photophosphorylation by Swiss-chard chloroplasts. *Biochim. Biophys. Acta* **40**, 257—272.
4. BAZZAZ, M. B., GOVINDJEE (1973) Photochemical properties of mesophyll and bundle sheath chloroplasts of maize. *Plant Physiol. Lancaster*, **52**, 257—262.
5. BRANTON, D., PARK, R. B. (1967) Subunits in chloroplast lamellae. *J. Ultrastruct. Res.* **19**, 283—303.
6. DE PETROCELLIS, SIEKEVITZ, B. P., PALADE, G. E. (1970) Changes in chemical composition of thylakoid membranes during greening of the y-1 mutant of *Chlamydomonas reinhardii*. *J. Cell Biol.* **44**, 618.
7. ENCKE, F. (ed.) (1958) Pareys Blumengärtnerei I—II. Verlag Paul Parey, Berlin und Hamburg.
8. GOODCHILD, D. J., PARK, R. B. (1971) Further evidence for stroma lamellae as a source of photosystem I. fractions from spinach chloroplasts. *Biochim. Biophys. Acta* **226**, 393—399.
9. GOODENOUGH, U. W., STAEHELIN, L. A. (1971) Structural differentiation of stacked and unstacked chloroplast membranes. *J. Cell Biol.* **48**, 594—619.
10. GUNNING, B. E. S., STEER, M. W. (1975) Ultrastructure and the Biology of Plant Cells. Edward Arnold (Publishers) Ltd.
11. GYURJÁN, I., NAGY, A. H., KERESZTES, Á. (1975) Defektusos kloroplasztiszok szerkezete és makromolekuláris összetétele variegált *Tradescantia albiflora* levelekben. (Structure and macromolecular composition of defective chloroplasts in variegated leaves of *Tradescantia albiflora*). *Biológia*, **23**, 175—184.
12. HALL, D. O., EDGE, H., KALINA, M. (1971) The site of ferricyanide photoreduction in the lamellae of isolated spinach chloroplasts: A cytochemical study. *J. Cell Sci.* **9**, 289—303.
13. HERRMANN, F. (1971) Struktur und Funktion der genetischen Information in den Plastiden II. Untersuchung der photosynthesedefekten Plastommutante alba-1 von *Antirrhinum majus* L. *Photosynthetica* **5**, 258—266.
14. HERRMANN, F., HAGEMANN, R. (1971) Struktur und Funktion der genetischen Information in den Plastiden. III. Genetik, Chlorophylle und Photosyntheseverhalten der Plastommutante „Mrs. Pollock“ und der Genmutante „Cloth of Gold“ von *Pelargonium zonale*. *Biochem. Physiol. Pflanzen* **162**, 390—409.
15. HERRMANN, F. H., MATORIN, D., TIMOFFEEV, F., BÖRNER, TH., RUBIN, A. B., HAGEMANN, R. (1974) Structure and function of the genetic information in plastids. IX. Studies on primary reactions of photosynthesis in plastom mutants of *Antirrhinum majus* and *Pelargonium zonale* having impaired photosynthesis. *Biochem. Physiol. Pflanzen*, **165**, 393—400.
16. IZAWA, S., GOOD, N. E. (1966) Effect of salts and electron transport on the conformation of isolated chloroplasts II. Electron microscopy. *Plant Physiol.* **41**, 544.
17. JACOBSON, A. B. (1968) A procedure for isolation of proplastids from etiolated maize leaves. *J. Cell Biol.* **38**, 238—244.
18. KERESZTES, Á. (1971) Light microscopic examination of chloroplast mutation in *Tradescantia* leaves. *Acta bot. Acad. Sci. Hung.* **17**, 379—389.
19. KERESZTES, Á., FALUDI-DÁNIEL, Á. (1973) Ultrastructure, pigment content and photosynthetic activity of the normal and mutant chloroplasts in developing *Tradescantia* leaves. *Acta biol. Acad. Sci. Hung.* **24**, 175—189.
20. KLIMOV, V. V., LÁNG, F., KARAPETJAN, N. V., KRASZNOVSZKIJ, A. A. (1972) Indukcija fluoreszcencii v processze zelenenyija etiolirovannüh lisztyev: normalnűje i mutantnűje rasztenyija kukuruzű. *Fiziol. Raszt.* **19**, 151—159.
21. LÁNG, F., VOROBEVA, L. M., KRASZNOVSZKIJ, A. A. (1969) Isszledovanyije zelenenyija etiolirovannű mutantov kukuruzű. *Biohimija*, **34**, 257—265.
22. LITVIN, F. F., HE I-TAN, JEFIMCEV, E. I. (1965) Polarograficeszkij metod isszledovanyija kinetiki i szpektrov gyejsztvija fotoszinteza. *Fiziol. Raszt.* **12**, 364—370.
23. MIPLIN, B. J., HAGEMANN, R. H. (1963) Demonstration of photophosphorylation by maize chloroplasts. *Plant Physiol.* **38**, 66—70.
24. MOOR, H., MÜHLETHALER, K. (1963) Fine structure in frozen-etched yeast cells. *J. Cell Biol.* **17**, 609—628.
25. NAM-HAI CHUA, OJAKIAN, G. K. (1974) Effects of proteolysis on the stacking of thylakoid membranes from *Chlamydomonas reinhardii*. *J. Cell Biol.* **63**, 62a.
26. NOBEL, P. S. (1974) Rapid isolation techniques for chloroplasts. In: *Methods in Enzymology* (Eds.: S. P. Colowick, N. O. Kaplan) Part A. 600—606. Acad. Press, New York.
27. PENDLAND, J. C., ALDRICH, H. C. (1973) Ultrastructural organization of chloroplast thylakoids of the green alga *Oocystis marssonii*. *J. Cell Biol.* **57**, 306—314.
28. SANE, P. V., GOODCHILD, D. J., PARK, R. B. (1970) Characterization of chloroplast photo-

- systems 1 and 2 separated by a non-detergent method. *Biochim. Biophys. Acta*, **216**, 162–178.
29. SANE, P. V., PARK, R. B. (1971) Action spectra of photosystem I. and photosystem II. in spinach chloroplast grana and stroma lamellae. *Biochim. Biophys. Acta* **253**, 208–212.
 30. SJOLUND, R. D., SMITH, D. D. (1974) Freeze-fracture studies of photosynthetically deficient „supergranal” chloroplasts in tissue cultures containing virus-like particles. *J. Cell Biol.* **60**, 285–292.
 31. SMITH, D. D., SJOLUND, R. D. (1974) Photosynthetic activity and polypeptide composition of „supergranal” chloroplast membranes in plant tissue cultures containing a virus-like particle. *J. Cell Biol.* **63**, 321a.
 32. STAEHELIN, L. A. (1974) Reversible particle movements associated with unstacking and restacking of chloroplast membranes in vitro. *J. Cell Biol.* **63**, 331a.
 33. THIELKE, CH. (1954) Die histogenetische Struktur des Sprossvegetationskegels einiger Commelinaceen unter Berücksichtigung panaschierter Formen. *Planta* **44**, 18–74.
 34. WEIER, T. E., BENSON, A. A. (1967) The molecular organization of chloroplast membranes. *Amer. J. Bot.* **54**, 389–402.

FREEZE ETCHED MEMBRANE FACES AND PHOTOSYNTHETIC ACTIVITY IN NORMAL AND MUTANT TRADESCANTIA CHLOROPLASTS

Á. Keresztes, M. R. Davey, F. Láng

Membrane structure and photosynthetic activity was investigated in normal and mutant plastids of *Tradescantia albiflora* cv. *aureo-vittata*. It has been shown that in the stacked membrane regions of the mutant plastids (in the macrograna) the B fracture faces lack both 170 Å particles and PSII. activity. The C face seems to be normal (110 Å particles) and PSI. activity is also similar to the control. In dilated macrograna the particle size significantly decreases on the C face too, and by progressing plastid destruction also PSI. activity disappears.

It has been concluded that the integrity of B face particles is related to PSII. activity rather than to membrane stacking. Similar correlation seems to be valid for C face particles and PSI. activity. The possibility of PSII. activity without membrane stacking is discussed.

A ZÁRVATERMŐK VIRÁGÁNAK EVOLÚCIÓSBIOLÓGIAI VONATKOZÁSAI

SURÁNYI DEZSŐ

Kertészeti Kutató Állomás, Cegléd

Beérkezett: 1975. augusztus 3-án, javított példány beérkezett 1976. július 24-én

Kulcsszavak: evolúció, szexuálfiziológia, morfológia, rendszertan, termékenyülésbiológia, teratológia

A növényi szexualitás alakulása az evolúció során

Az euanthium-elmélet (HALLIER 1878) szerint a porzó- és termőlevelek sporofillumnak tekinthetők, a virágot a harasztok sztrobiluszára vezeti vissza. Így a kétivarú virág, a kettős virágtakaró, a rovarmegporzás, az apokarp magház és a marginális placentáció az ősbibb jellemvonás.

A pszeudanthium-elmélet (WETTSTEIN 1908) szerint viszont a termőlevelek a *Gnetum*-féléknek a virágaiban található murvalevelek összenövésével alakultak ki, mégpedig magházzá záruktak, a magkezdemények a magház középpontjában ülnek. A porzós virágokból lesznek a porzók, murvaleveleikből pedig az egyszerű virágtakaró. Kétivarú virág úgy alakul ki, hogy a porzós virág közepébe egy csupasz termős virág illeszkedik. Eszerint az egyivarúság, az egyszerű virágtakaró, a szélmegporzás, az epipetál porzók és a magkezdemények centrális placentációja az ősi sajátosságok.

Természetesen a zárvatermő virág eredetére nézve még számos más elmélet, elképzelés van, de ezek ismertetésére jelen munkában nem térünk ki, viszont annál részletesebben tárgyaljuk Soó (1969) elméletét és egyben az általa közölt adatokat változtatás nélkül átvesszük, ezek nagy segítséget jelentettek az egyes virágszerkezeti disztinkciók kialakításában.

Mielőtt erről tájékoztatást adnánk, érdemes röviden áttekinteni a virágtakaró, a porzótáj és a termőtáj fejlődéstörténetének fontosabb állomásait. A sztrobiláris elmélet szerint a virágtakaró levelek a porzók átalakulása ill. a virágba került fellevelek modifikációja révén alakultak ki. A csészelevelek a leginkább módosult murvák, a szirmok viszont a porzók elleveledéséből vezethetők le (TROLL 1948). Az ősi családok esetében elég nehéz éles határt vonni a porzók és a virágtakaró közé, hisz végső soron levelekből lettek a porzók is, melyek további átalakulása folytán ismét levélszerű képletekké fejlődtek, csak a funkciójuk változott meg. Néha a csészelevél és a szíromlevél egyaránt fellevél eredetű, ilyenkor köztük nincs lényeges alakítási különbség (*Magnoliaceae*, *Paeoniaceae* stb.).

Míg a virágtakarónak „csak védelmi” funkciója van, addig a porzótáj, a porzók „aktív szerepet játszanak” az illető faj fennmaradásában. A mikrosporofillum és a porzó egyre inkább elveszíti levéljellegét. Morfológiailag igen változatos formákat produkál a porzótáj, hisz lehetnek hajtásszerűek vagy szabályos porzókhoz hasonlóak, de a fenyőknél a porzós virágok barkaszerűek. A *Taxaceae* porzója pajzsalakú, tehát újra dorziventrális (porzó) levél jelenik meg. *Gnetumnál* már szabályos porzó van, az *Angiospermaenél* viszont már egyáltalán nem levéljellegűek a porzók, a pollenszákók száma 4-re csökken. A porzó evolúciója nagy ugrásnak számít, egyben azonban reverzibilis is, mert

bizonyos hormonális, genetikai és ökológiai okok folytán — főként — az ősi kétszikű családoknál könnyen alakulnak a porzók steril staminódiumokká (*Magnoliaceae*, *Winteraceae*, *Degeneriaceae*, *Rosaceae*), ritkábban elágazóak (*Betula*, *Corylus*), többszörösen összetettek (*Ricinus*) is lehetnek.

További „evolúciós lépés”, hogy a kezdeti határozatlan portokszám (*Cycas*, *Bennettites*) egyre határozottabban konkrétá válik (fenyők, *Gnetum*), sőt még az egyik portok is elcsökevényesedhet (*Canna*). A porzók egymással (porzósálak, portokok), vagy valamelyik más virágrésszel is összenőhetnek, leginkább a termővel. — A porzók eredetileg spirálisan helyezkedtek el a virágtengelyen (*Nymphaeaceae*), később 2 v. 3 körben (ciklikus). HALLIER (1878) elmélete szerint a sok porzós virág az ősi, a legfejlettebb családokban (*Alismatales-Poales*) a redukció nagyon szembetűnő: az *Iridaceae* kétkörös lepelleveli csak egykörű porzótájat vesznek körül, vagy az *Orchideaceae* famíliának már csak egy porzója van.

Ha a porzók összenőnek egymással, falkásságnak nevezzük: egyfalkás a *Malvaceae*, kétfalkás a *Fabaceae*, többfalkás a *Rutaceae* és a *Cucurbitaceae*. A *Compositaenál* csak a portokok nőttek össze, máskor a porzók a termővel nőnek össze (*Aristolochia*, *Orchideaceae*).

Leggyakoribb porzó-metamorfózis, a már említett szíromlevéllé-alakulás (staminódium, anterofillia), vagy a virágszírom csalogató funkciójával analóg, más érzékszervi hatás révén csalogatják a rovarokat, nevezetesen a porzók nektáriumokká módosulnak. A nektárium elhelyezkedhet a virágban (intrafloralis- *Ranunculaceae*), a virág szélein (circumfloralis-*Euphorbia*), a virágon kívül, de a virágszobában (extrafloralis- *Marcgraviaceae*), esetleg vegetatív szerveken (extranuptialis- *Vicia faba*, *Saxifraga aspera*, *Viola tricolor*). Érdekes módon egyes fajokra pedig álnektárium jellemző (*Ranunculaceae*).

A termőlevelek a *Cycadopsida* osztállynál nagyon hasonlítanak a lomblevelekre, morfológiailag változáson megy keresztül a *Zamiaceae* család, fokozatosan csökken a magkezdemények száma is. Az evolúció következő lényeges családjai olyan fajokat foglalnak magukba, melyeknél az egész termőlevél magkezdeménnyé alakult (*Bennettites*, *Cordiales*, *Ginkgo*), a fejlettebb fenyőkénél ismét megjelenik (*Taxaceae*). Természetesen nem ennyire szimplifikált a fenyők termőlevele, változatos formákat produkál, annyi azonban közös bennük, hogy a termőpikkely határozottan levéljellegű.

A termőtáj egy vagy több termőlevélből alakul ki. A termőlevelek általában felfelé széthajlanak egymástól, a magház alul még szinkarp, felette már parakarp, a csúcsán pedig szabad bibeszálakat visel.

A virágtakaró a szaporító szerveket védi, ennek fejlődéstörténete párhuzamos a virág megporzásával. A *Gymnospermae* nagyrészt szélmegporzásúak, noha a *Bennettiteseknél*, *Ephedráknál*, *Welwitschiáknál* megjelenik a rovarmegporzás. Ezzel szemben az *Angiospermae* törzsben először a rovarmegporzású virág alakult ki. A mezozoikumiban soha nem tapasztalt — a földi élet fejlődéstörténetében — mértékben terjedtek el a rovarok, madarak, melyek a — különösen — rovarmegporzású növények hallatlan nagy változatosságát eredményezték. Ennek a következménye, hogy az aktinomorf virágokat felváltották az ágazatok legmagasabb csúcsán a zigomorf virágok (*Boraginales*, *Solanales*, *Asterales*, *Zingiberales*, *Orchidales*). Egyes csoportok — a virág redukciója miatt — visszatértek a szélmegporzásra, amely lehetővé tette e fajok nagyki-terjedésű felületen a megjelenésüket, ma is uralkodó fajok Földünk növénytakarójában (*Gramineae*, *Cyperaceae*, *Fagaceae*, *Betulaceae*).

A szélmegporzás hatással van az ivarjellegre: a kétivarú virágból egyivarú lesz, de a legtöbb esetben megtaláljuk benne a másik sporofillum csökevényeit (*Quercus*, *Salix*). Így alakult ki a rovarmegporzású *Caryophyllales*ből a szélporozta *Urticales*; vagy a *Magnoliales*ből a szélporozta *Platanus*ok, majd a barkás fák. Jól követhető a virág egyszerűsödése az Egyszikűeknél, legősibb típusai a *Polycarpica*eből vezethetők le, noha az *Alismatales* rendben még kettős virágtakarójú, apokarp magházú típusok vannak, mint az *Alisma*, *Sagittaria*, a *Lilia*lesszel bezárólag. Az evolúció során a további fejlődés kétirányú: a zigomorf sorozatok tovább differenciálódnak (*Bromeliales*, *Orchidales*, *Zingiberales*), a másik irány pedig redukció révén a szélporozta *Cyperales*hez, majd *Commelinales* sorozat *Restionaceae*, *Flagelliaceae* családjaikat át a *Gramineae*hez vezet (Soó 1965).

Az ivarmegoszlás közvetlen befolyásolja a megporzást, legtöbbször mindkét ivar (himnős), egyik ivar csak (egyivarú virág), vagy egy növényegyeden 2–3-féle virágtípus (felemásvirágú) található. Ha a termő- és porzólevelek egyidőben érnek, homogámiának nevezzük; aszinkronia esetén dichogámiáról van szó: a porzók fejlődnek ki előbb (protandria), viszont ha a termő érik meg előbb, akkor protogíniának nevezzük. A felnyílvá termékenyülő virágok kazmogámok, a virág kinyílása előtt már megtermékenyülő virágok kleisztogámok. Az allogámia lehet szomszédos megporzás (geitonogámia), két különböző egyed virágai között idegen beporzás (xenogámia), más fajta, faj, nemzetség virágpóra által megtermékenyülő virág hibridet eredményez (basztardogámia).

Állandó önbeporzás folytán a faj egyedei leromolhatnak bár az öntermékenyülő (kazmogám, kleisztogám) fajok még sem pusztultak ki a törzsfejlődés során, pl. *Hordeum vulgare*, *Armeniaca vulgaris*, *Medicago sativa*. Nagy általánosságban tényleg az idegen beporzás dominál a növényvilágban. Részben időbeli (dichogámia), részben szerkezeti (herkogámia) tényezők akadályozzák az önmegporzást. A bibére nem juthat ugyanazon virágból származó virágpór, ill. nem fog termékenyíteni; vagy a sporofillumok méretbeli különbsége nem teszi lehetővé (heteromorfia- *Primula*, *Lythrum*) (MOEWUS 1950).

LINNÉ (1751) a következőket írja tartalmilag a *Phylosophia botanicában*: Nem ezt meg amazt a növényt kell összehasonlítani tehát, hanem a porzóik számát, a kehely alakját, a portokok helyzetét, a porzók és a bibék arányát. Végső soron minden növény ábrázolható adott számú és arányú elem összességként. Az elemek mindegyike végtelenül változhat mindegyik jellemzője szerint, s minden elem mindegyik változata végtelen sokféle összetételben egyesülhet a többi változatokkal. SAINT-HILAIRE (1816) már nagyszerűen tudta a rendellenességeket is magyarázni: „Ha egy szerv rendkívüli módon megnő, hatása érezhető a szomszédos részekben is, melyek ezentúl nem képesek szokásosan fejlődni; de ettől függetlenül megmaradnak.” De ezt tovább bővíthetjük GOETHE (1831) megfigyelésével: „A természet háztartásában a költségvetés végösszege rögzített, de a részösszegeket szabadon osztja el neki tetsző kiadásokra. Ha egyik területen költekezni akar, takarékoskodnia kell a másikon, ezért nem adósodik el, és nem mond csődöt soha a természet.”

Mint látjuk, a teratológia révén viszonylag hamar kezdtek a rendellenességekkel foglalkozni. A legnagyobb jelentősége abban van, hogy a kor botanikusai felismerték benne a bonyolult koordinációs, korrelációs, szubordinációs szabályokat, újabban a botanikában — és általában a biológiában — a teratológia ismét fontos rész tudománnyá vált.

MONOD (1974) könyvében hosszadalmasan (esszészerűen) foglalkozik a növényi szexualitással, elmélkedik róla. Az alacsonyabbrendű szervezetben még a reprodukció felesleges, de „amióta a szexualitás kötelező, a genetikai program nem egyetlen program másolata többé, hanem két különböző program újrendeződése. Tehát ez a közös alap, ez a nemiség által egyesített populáció képezi az evolúció egységét . . . A szexualitás arra kényszeríti a programokat, hogy végigpróbálják a genetikai variációk lehetőségeit.”

A francia Nobel-díjas MONOD-nál sokkal avatottabban tárja fel a növények evolúciójának sajátosságait STEBBINS (cit. BÁLINT 1967) alapvető kézikönyvnek számító munkájában. Ennek ismertetésétől azonban most eltekintünk, mivel jelen tanulmány csak bevezetésnek tekinthető a Zárwatermők szexualitásának evolúciósbiológiai vizsgálataiban.

Kísérleti eredmények a Prunoideae alszalád „ivari” viszonyaival kapcsolatban

Lényegében a növényi szexualitás problémájához a *Prunus*ok „ivari” vizsgálatain keresztül „értünk.” A kérdés rendkívül fontos és még ma sem kellően feltárt terület, a találkozás a témával fiziológiai, morfológiai, termékenyülésbiológiai aspektusban történt. Nevezetesen, az „ivari” megnyilvánulásokat a növényekben az endogén növekedésszabályozó anyagok relatív szintje befolyásolja: a relatíve magas stimulátor-tartalom a nőivar számára kedvező. A jelenségnek a magyarázata az, hogy a lazán meghatározott ivari megnyilvánulásokat az additív gének szabályozzák; az additív géneket pedig az endogén hormonok mennyisége regulálja (RESENDE 1967).

A génikus szinten ható elváltozások indukálásának egy szép példája a *Sclerotinia laxa* gomba; akut monília fertőzések után egyáltalán nem a kajsziira jellemző virágok képződnek a fertőzött fákön, veszélye abban áll, hogy a termékenyülés miatta elmaradhat (SURÁNYI 1975). Hasonló, de nem genetikai változásokkal magyarázhatók a jellegzetes virágrendellenességek *Prunus* fajoknál pl. Kirke szilvája 3—6 termőlevelet foglal a virágba, a Violaszínű ringló porzóit ellevelesednek . . . Olyan bőséges adat gyűlt össze, hogy ennek rövid ismertetése sem lehetséges jelen publikációban (SURÁNYI 1972).

Környezeti tényezők, így az alany is hat az ivari megnyilvánulásokra: az erős növekedési erélyű fajokból szelektált alanypopulációk nőiesítik a nemes fajtát (SURÁNYI 1974a), hasonlóan mint a nedves viszonyok, metszések, sebzések stb. A változások jól interpretálhatók, ha azt egy korlátolt növekedésű, nagyban módosult hajtásrendszer-relációba helyezük. Így lehet csak könnyen értelmezni a hajtás- és virágszerveződés kapcsolatát, mégpedig az erős csúcsi dominanciát jelző hosszabb szártagok olyan fáknál alakulnak ki, amelyek egyúttal feminínebb jellegű virágokat is differenciálnak; a törpésítő alanyok az androecium vitalitását fokozzák (SURÁNYI 1971a).

A fentieket alátámasztani látszik sok indukciós vizsgálat is. Növekedésserkentőkkel minden esetben — virágszerveződés idején, vagy korábban a termésritkítás idején — a termőtájat erősíteni lehet. Ennek nagy jelentősége van olyan fajoknál, fajtáknál, melyek termékenyülési zavarai csökevényes termőkre vezethetők vissza (SURÁNYI 1977). Szintén a növekedésszabályozók erős gradációjával a szexuális potencia ingadozását a növényi test különböző részein: az alapi és csúcsi rész inkább önmeddő (hím v. nőjellegű) virágok,

a középső rész — esetenként a bazális régió is — potenciálisan hímnős virágok számára kedvezőbb (RUHLAND 1967).

Következő jelentős felismerés volt, hogy az egyértelmű negatív eredmények dacára (korábban nem tartották valószínűnek) kapcsolatot, összefüggést találtunk a virágszerkezet és az illető virág termékenyülési lehetősége között. Ezt pedig nem lehet különösebben vitatni, mivel a virágszerkezet genetikai kontroll alatt áll. Az sporofillumok ellentétes tendenciája bizonyított, érthetően — konkrét esetben a *Prunus*oknál — korrelatív hatást feltételeztünk. Az eredmények teljes egészében igazolták a várakozást, sőt az is kitént, hogy az öntermékenyülő és önmeddő *Prunus*ok „ivari” korrelációja minőségileg eltérő, matematikailag a korrelációs együtthatóban (b-érték) szignifikáns különbség mutatkozik (SURÁNYI 1973). Ha egységnyi termőhosszúságra eső porzósámot kiszámítjuk, specifikus bélyeget kapunk az öntermékenyülési viszonyokra. Fajonként, tehát egyes fajtáknál optimum-görbékkel megadható az ideális *kvóciens-intervallum* (SURÁNYI 1971b).

Amennyiben az „ivari” korrelációt kiterjesztjük a *Prunoideae* alcsaládra, akkor az „ivari trend” lényegében a szexualitás evolúciós irányát mutatja; mégpedig a nőies virágok (önmeddő mandula) az öntermékenyülő fajokon keresztül (kajsziбарack, őszibarack, szilva) a cseresznyefélékkel zárulnak (hímjellegű, önmeddő virágok). Tehát az „ivari trend” felfogható minőségi sornak is (SURÁNYI 1974b), amely — mint látni fogjuk — nemcsak a *Prunoideae* alcsalád specifitása, érvényes az *Angiospermaera*.

Mint azt a publikáció elején már említettük, az egyes csoportokat Soó (1965 és 1969) által fontosnak ítélt szempontok szerint vettük fel. A 110 legfontosabb növénycsalád esetében a következő disztinkciót alkalmaztuk: virágtakaró, csésze, szírom, porzók és termők jellemző sajátosságai, melyeket alább ismertettünk:

ANGIOSPERMAE

DICOTYLEDONOPSIDA	K	C	A	G
<i>I. Polycarpicae-Rubiales</i>				
Magnoliaceae	P ∞	∞	∞	$\frac{\infty}{1-\infty}$
Annonaceae	P 3+3+3		∞	$\frac{1}{3}$
Lauraceae	3	3	3+3+3	(3)
Menispermaceae	3+3	3+3	3+3	$\frac{3-\infty}{3}$
Berberidaceae	3+3	3+3		$\frac{1}{3}$
Paeoniaceae	P 3+3		3+3	$\frac{1}{1-15}$
Paoniaceae	5	5	∞	$\frac{1}{5}$
Helleboraceae	5	5	∞	$\frac{1}{5}$
Ranunculaceae	5	5	∞	$\frac{1}{5}$
Nymphaeaceae	4-5	3-∞	∞-6	$\frac{3-\infty}{3}$
Aristolochiaceae	P (3)		6-12	$\frac{1}{4-6}$
Piperaceae	0	0	2-3	$\frac{1}{3}$
Hamamelidaceae	4-5	4-5	4-5	(2)
Rosaceae				
Spiraeoideae	5	5	10+10+10	$\frac{1}{2-5}$
Pomoideae	5	5	10+10+10	$\frac{1}{2-5}$

	K	C	A	G
Rosoideae	5	5	∞	$\frac{\infty}{1}$
Prunoideae	(5)	5	10+10+10	$\frac{1}{2-5}$
Crassulariaceae	5	5	5	$\frac{(2-4)}{(2-10)}$
Saxifragaceae	5	5	5	$\frac{(2)}{1}$
Hydrangaceae	4-10	4-10	5- ∞	$\frac{1}{1}$
Grossulariaceae	5	5	5	$\frac{(2-6)}{(2-8)}$
Mimosaceae	4-5	4-5	4-5	$\frac{(3)}{(4)}$
Caesalpinaceae	4-5	4-5	2-10	$\frac{(2)}{(2)}$
Fabaceae	5	5	5+5	$\frac{(1-4)}{(5)}$
Elaeagnaceae	2-4	0	4	$\frac{(2-5)}{(2-3)}$
Lythraceae	4-6	4-6	6	$\frac{(2-5)}{(1-8)}$
Myrtaceae	4-5	4-5	∞	$\frac{(1-\infty)}{(2)}$
Punicaceae	5-7	5	∞	$\frac{(2)}{(2)}$
Onagraceae	2-4	2-4	2-4-8	$\frac{(2)}{(2)}$
Trapaceae	4	4	4	$\frac{(2-4)}{(2-5)}$
Haloragaceae	4	4	4+4	$\frac{(2-3)}{(2)}$
Rutaceae	4-5	4-5	4+4, 5+5	$\frac{(1-8)}{(2)}$
Simaroubaceae	5	5	5+5	$\frac{(3-5)}{I}$
Polygalaceae	5	3	(4+4)	$\frac{(3-5)}{(2)}$
Anacardiaceae	2-5	2-5	5	$\frac{(3)}{(4)}$
Aceraceae	4-5	4-5	4+4	$\frac{(5)}{(2-4)}$
Hippocastanaceae	5	4-5	5-8	$\frac{(2-5)}{(2-3)}$
Sapindaceae	4	4	8	$\frac{(2-5)}{(1-8)}$
Balsaminaceae	3-5	5	5	$\frac{(1-\infty)}{(2)}$
Aquifoliaceae	4-5	4-5	4-5	$\frac{(2)}{(2)}$
Celastraceae	4-5	4-5	4-5	$\frac{(2)}{(2)}$
Staphyleaceae	5	5	5	$\frac{(2-5)}{(1-8)}$
Rhamnaceae	4-5	4-5	4-5	$\frac{(1-\infty)}{(2)}$
Vitaceae	3-7	3-7	3-7	$\frac{(2)}{(2)}$
Araliaceae	5	5-10	5	$\frac{(2-5)}{(1-3)}$
Cornaceae	4	4	4	$\frac{(2)}{(2)}$
Umbelliferae	5	5	5	$\frac{(2-5)}{(1-3)}$
Rubiaceae	4-5-8	4-5-8	4-5- ∞	$\frac{(2)}{(2)}$
Caprifoliaceae	(5)	(5)	5	$\frac{(1-3)}{(2)}$
Valerianaceae	3	3-5	1-4	$\frac{(2)}{(2)}$
Dypsacaceae	0	(4-5)	4	
<i>II. Malvales-Plantaginales</i>				
Tiliaceae	4-5	4-5	0- ∞	$\frac{(2-\infty)}{(3-\infty)}$
Malvaceae	(5)	5	(∞)	$\frac{(5)}{(3-5)}$
Linaceae	5	5	5- ∞	$\frac{(3-5)}{(3-5)}$
Oxalidaceae	5	5	5+5	$\frac{(3)}{(3-5)}$
Geraniaceae	5	5	5+5	$\frac{(3-5)}{(3-5)}$
Tropaiolaceae	5	5	5+3	$\frac{(3-5)}{(3-5)}$
Zygophyllaceae	5	5	5+5	$\frac{3}{3}$
Euphorbiaceae		P 0	$\infty-1$	$\frac{3}{(2-4)}$
Buxaceae	4-8	0	4- ∞	

	K	C	A	G
Oleaceae	4	(4)	2	<u>(2)</u>
Gentianaceae	4-5	([4-5])	4-5	<u>(2)</u>
Apocynaceae	4-5	(4-5)	4-5	<u>2</u>
Asclepiadaceae	5	(5)	5	<u>2</u>
Loganiaceae	4-5	([4-5])	4-5	<u>(2)</u>
Convolvulaceae	(5)	([5])	5	<u>(2-5)</u>
Polemoniaceae	(5)	(5)	5	<u>(2-5)</u>
Hydrophyllaceae	(5)	(5)	5	<u>(2)</u>
Boraginaceae	(5)	([5])	5	<u>(2)</u>
Verbenaceae	(5)	5	2+2	<u>(4-5)</u>
Labiatae	(5)	(5)	2+2	<u>(4-5)</u>
Solanaceae	(5)	([5])	5	<u>(2)</u>
Scrophulariaceae	(5)	(5)	2, 4, 5	<u>(2)</u>
Bignoniaceae	(2-5)	(5)	2, 4	<u>(2)</u>
Lentibulariaceae	(2-5)	(5)	2	<u>(2)</u>
Globulariaceae	5	(5)	2, 4	<u>(2)</u>
Acanthaceae	5	(5)	2, 4	<u>(2)</u>
Orobanchaceae	(2)	(4-5)	2+2	<u>(2-3)</u>
Gesneriaceae	(2)	(4-5)	2+2	<u>(2-3)</u>
Plantaginaceae	4	(4)	4	<u>(1-2)</u>
III. <i>Rhoeadales-Asterales</i>				
Papaveraceae	2	2+2	∞	<u>(2-∞)</u>
Fumariaceae	2	2+2	4	<u>(2)</u>
Cruciferae	2+2	4	2+4	<u>(2)</u>
Capparidaceae	4	4	4-6-∞	<u>(2)</u>
Resedaceae	4-8	4-8	3-∞	<u>(2-6)</u>
Nepenthaceae $\begin{matrix} \oplus \\ \oplus \end{matrix}$	P 2+2		4-16	
	P 2+2			<u>(4)</u>
Cephalotaceae	P 6		6+6	<u>(6)</u>
Droseraceae	4-5	4-5	4-5	<u>(3-5)</u>
Tamaricaceae	4-5	4-5	4-5	<u>(2-5)</u>
Cistaceae	3-5	3-5		<u>(3-10)</u>
Violaceae	5	5	5	<u>(3)</u>
Passifloraceae	5	5	4-8	<u>(3-5)</u>
Caricaceae $\begin{matrix} \oplus \\ \oplus \end{matrix}$	5	5	5+5	
	5	5		<u>3-5</u>
Begoniaceae $\begin{matrix} \oplus \\ \oplus \end{matrix}$	2	2-6	4-∞	
	2-5	2-5		<u>(3)</u>
Actinidaceae	3, 5	5	∞-10	<u>∞-1</u>
Hypericaceae	5	5		<u>(2-5)</u>
Theaceae	4-7	4-8	5-∞	<u>(3-5)</u>
Cucurbitaceae	(5)	(5)	5	<u>(3-5)</u>
Campanulaceae	(5)	(5)	5	<u>(3-5)</u>
Compositae	5	(5)	(5)	<u>(2)</u>
Ericaceae	4-5	(4-5)	4+4	<u>(4+5)</u>

	K	C	A	G
IV. Caryophyllales				
<i>Monochlamydeae</i>				
Santalaceae		P 2+2	3-5	$\frac{2-3}{(2)}$
Loranthaceae		P 2+2	4	$\frac{1}{(2)}$
Proteaceae		P 2+2	4	$\frac{1}{(2)}$
Phytolaccaceae		P 4-5	4-5	$\frac{1-\infty}{(2)}$
Nyctaginaceae		P (5)	1-5	$\frac{1}{(2)}$
Aizoaceae		P 4-5	5, ∞	$\frac{\infty-2}{(2)}$
Portulacaceae		P 4-5	4-5	$\frac{(2-8)}{(2)}$
Caryophyllaceae	5	5	5+5	$\frac{2-5}{(2)}$
Chenopodiaceae		P 5-3-2	1-5	$\frac{(2)}{(2)}$
Amaranthaceae		P 4-5	1-5	$\frac{(2-3)}{(2)}$
Cactaceae	∞	∞	∞	$\frac{(4-8)}{(2)}$
Primulaceae	(5)	([5])	0+5)	$\frac{(5)}{(2)}$
Plumbaginaceae	5	(5)	5	$\frac{(5)}{(2)}$
Polygonaceae		P 3-6	3+3	$\frac{(2-4)}{(2)}$
Moraceae		P 2+2	4	$\frac{(2)}{(2)}$
Cannabinaceae		P (5)	5	$\frac{(2)}{(2)}$
		P (5)		$\frac{(2)}{(2)}$
Urticaceae		P 2+2	2+2	$\frac{(2)}{(2)}$
Ulmaceae		P 4-8	4-6	$\frac{(2)}{(2)}$
Betulaceae		P 2+2	2+2	$\frac{(2)}{(2)}$
		P 2+2		$\frac{(2)}{(2)}$
Fagaceae		P 4-7	4-7	$\frac{(2)}{(2)}$
		P (3-6)		$\frac{3}{(2)}$
Juglandaceae		P 3-5	3-40	$\frac{(2)}{(2)}$
		P 4		$\frac{(2)}{(2)}$
Salicaceae		P 0	2, 3, 5	$\frac{(2)}{(2)}$
MONOCOTYLEDONOPSIDA				
<i>V. Alismatales-Poales</i>				
Alismataceae	3	3	6	$\frac{6-\infty}{(2)}$
Butomaceae	3	3	3-9	$\frac{6-\infty}{(2)}$
Liliaceae		P 3+3	3+3	$\frac{(3)}{(2)}$
Amaryllaceae		P 3+3	3+3	$\frac{(3)}{(2)}$
Iridaceae		P 3+3	3+0	$\frac{(3)}{(2)}$
Juncaceae		P 3+3	3+3	$\frac{(3)}{(2)}$
Musaceae		P 3+3	3+3	$\frac{(3)}{(2)}$
Orchidaceae		P 3+3	1+0	$\frac{(3)}{(2)}$
Cyperaceae		P 3+3	3	$\frac{(3)}{(2)}$
Bromeliaceae	3	3	3+3	$\frac{(3)}{(2)}$
Commelinaceae	3	3	3+3	$\frac{(3)}{(2)}$
Gramineae		P 0	3, 3+3	$\frac{3}{(2)}$
VI. Spadiciflorae-Pandanales				
Palmae		P 3+3	3	$\frac{(3)}{(2)}$
		P 3+3		$\frac{(3)}{(2)}$

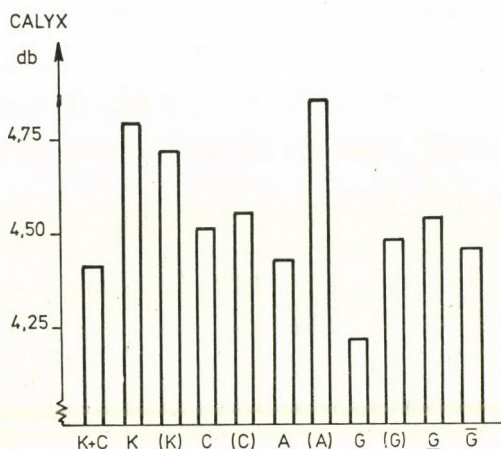
	K	C	A	G
Araceae ♂	P 0,	3+3	3-4, 6-9	
♀	P 0			$\frac{1, (3)}{1}$
Pandanceae ♂	P 0		∞	$\frac{\infty-1}{1}$
♀	P 0			$\frac{\infty-1}{1}$
Typhaceae ♂	P 0		2-5	$\frac{1}{1}$
♀	P 0			$\frac{1}{1}$

A vizsgált növénycsaládok virágszerkezetének biometriai értékelése

Soó (1965) könyvében szereplő fontosabb növénycsaládok alapján számításokat végeztünk annak megállapítására, hogy a fejlettség (evolúciós szint) szerint miként alakul az egyes családok esetében a csészelevelek, szíromlevelek, porzók és termőlevelek száma.

Az I. ábra és I. táblázat jól demonstrálja, hogy a csészelevelek száma legnagyobb a szabadcsészéjű és forrtcsészéjű, különösen az összenőtt porzójú virágokban; a többinél lényeges eltérés nincs. A változó ismétlésszám szerint végzett variancia-analízisből — természetesen — több esetre kaptunk szignifikáns eltérést, részletesen az I. táblázat tartalmazza.

Jóval kisebb nivellálódás figyelhető meg a szíromlevelek tekintetében, egyedül a szabad termőjú virágok emelkednek ki szírmok számában, az összes többi vizsgált csoportot 1 %-os szinten felülmúlja. Alsó állású termőtől a szabad termőig bezárólag csak nagyon minimális növekedés figyelhető meg (2. ábra és II. táblázat).



1. ábra. A csészelevelek számszerű ingadozása a vizsgált szempontok alapján
Fig. 1. Numerical fluctuations of the calyx-leaves in function of the aspects examined

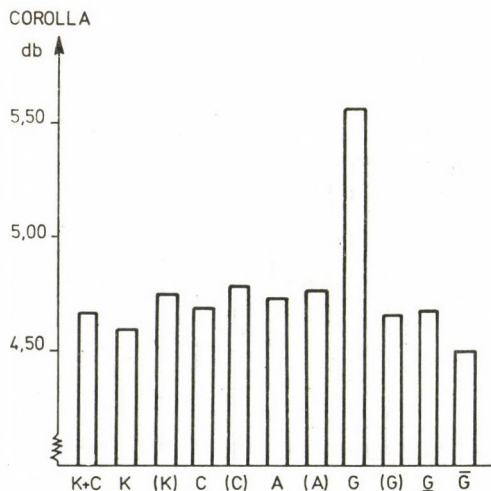
A calyx vizsgálatának eredményei

Virág	Csészelevél		Család db
	Száma	Rangsor	
Szabad termő	4,22	1	32
Különnemű virágtakaró	4,40	2	72
Szabad porzók	4,43	3	101
Alsóállású termő	4,46	4	84
Összenőtt termők	4,49	5	78
Szabad szírom	4,51	6	27
Felsőállású termő	4,54	7	26
Forrt szírom	4,55	8	83
Összenőtt csészék	4,72	9	92
Szabad csésze	4,79	10	18
Összenőtt porzók	4,85	11	9
Egynemű virágtakaró	—	—	38

5 %-os szinten: K+C—K, K+C—(A), K—A, K—G;

10 %-os szinten: K+C (K), K—C, K—(G), K—G.

Evolúciósbiológiaiilag és a fajok fennmaradása szempontjából igen izgalmas kérdés tisztázni a porzótáj és a termőtáj fejlődéstörténetével kapcsolatos tendenciákat. A szabad csésze, a szabad szírmok, a szabad termőlevelek nagyobb porzó sokaságot predesztinálnak, mint a nekik megfelelő forrtcsészéjű, forrtszírmú és összenőtt termőjű virágok. A K + C és P egybevetéséből arra lehet következtetni, hogy a virágtakaró és a porzótáj szoros kapcsolatban van; ez tényszerűen is így van, erre utalnak MASTERS (1886) és WORSDELL (1916) könyvében szereplő adatok, de szintén emellett szól FILARSZKY (1911) munká-



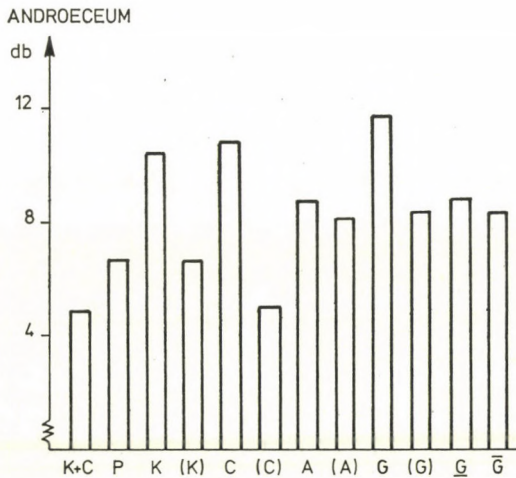
2. ábra. A szíromlevelek számszerű ingadozása a vizsgált szempontok alapján
Fig. 2. Numerical fluctuation of the petals in function of the aspects examined

A corolla vizsgálatának eredményei

Virág	Szirmok		Család db
	Száma	Rangsor	
Alsóállású termő	4,57	1	84
Különnemű virágtakaró	4,60	2	72
Szabad csésze	4,63	3	18
Összenőtt termők	4,68	4	78
Felsőállású termő	4,70	5	26
Szabad szirom	4,74	6	27
Összenőtt csészék	4,75	7	92
Szabad porzó	4,76	8	101
Összenőtt porzók	4,78	9	9
Forrt szirom	4,79	10	83
Szabad termő	5,61	11	32
Egynemű virágtakaró	—	—	38

G 1 %-os szinten nagyobb mindegyiknél

jából vett példák tömege. Az összenőtt porzós, az összenőtt termőlevelű, felső állású termőjű virágok alig különböznek, vagyis nincs értelme „ivari” korrelációt keresni a termőtáj virágban való helyzete irányában. Legjobban progresszív, kis porzóságot képező különmemű virágtakaró azt is jelzi, hogy a virágban meglévő főkorreláció (a termőtáj és a porzótáj között) és mellékkorreláció (a csészelevelek és a porzók között, vagyis nem „ivari”) mellett egyéb korrelatív hatások is érvényesülnek, vagyis az ivari korreláció inkább közvetlen és közvetett részre bontható, mivel a mellékkorreláció sem független a sporofillumoktól; hisz létezik kapcsolat a termőtáj és a csésze; porzótáj és szirom, ill. a termőtáj és szirom, porzótáj és csésze között (3. ábra és III. táblázat).



3. ábra. A porzók számszerű ingadozása a vizsgált szempontok alapján

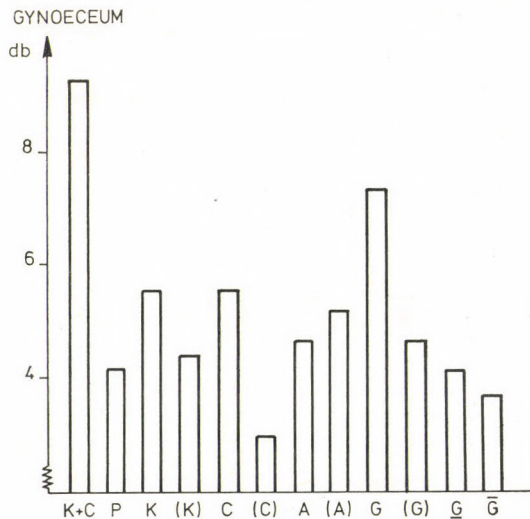
Fig. 3. Numerical fluctuation of the stamina in function of the aspects examined

Az androceum vizsgálatának eredményei

Virág	Porzók		Család db
	Száma	Rangsor	
Különnemű virágtakaró	4,75	1	72
Forrt szírom	4,79	2	83
Összenőtt csészék	6,58	3	92
Egynemű virágtakaró	6,60	4	38
Összenőtt porzók	8,43	5	9
Alsóállású termő	8,56	6	84
Összenőtt termők	8,70	7	78
Felsőállású termő	8,86	8	26
Szabad porzó	8,95	9	101
Szabad csésze	10,71	10	18
Szabad szírom	11,05	11	27
Szabad termő	11,27	12	32

- 1 %-os szinten: $K+C-K$, $K+C-G$, $K-(C)$, $C-(C)$;
 5 %-os szinten: $K+C-C$, $P-K$, $P-C$, $(C)-A$, $(C)-G$;
 10 %-os szinten: $K+C-A$, $K+C-G$, $P-G$, $K-(K)$, $(K)-(K)-C$, $(K)-G$, $(C)-(G)$, $(C)-\bar{G}$.

Közel 3 és 9-nél valamivel több termőlevél-szám tartományban ingadoznak az egyes csoportok termőtájára kapott eredmények. A legősibb családok csoportjában a különmemű virágtakaróval a legtöbb termő jár. Sokkal kisebb a termőlevelek száma a szabad termőjű virágok esetében. A felső állású termőjű és az összenőtt porzójú virágok 5–6 termőlevelet foglalnak magukba, már a 4 termőlevelet sem éri el a következő csoportok családjai (legalábbis



4. ábra. A termőlevelek számszerű ingadozása a vizsgált szempontok alapján
 Fig 4. Numerical fluctuation of the carpels in function of the aspects examined

A gynoecium vizsgálatának eredményei

Virág	Termők		Család db
	Száma	Rangsor	
Forrt szírom	2,93	1	83
Alsóállású termő	3,87	2	84
Egynemű virágtakaró	4,16	3	38
Összenőtt termő	4,18	4	78
Összenőtt csészék	4,39	5	92
Szabad porzó	4,63	6	101
Összenőtt porzók	5,14	7	9
Szabad szírom	5,64	8	27
Szabad csésze	5,66	9	18
Felsőállású termő	5,74	10	26
Szabad termő	7,39	11	32
Különmű virágtakaró	9,34	12	72

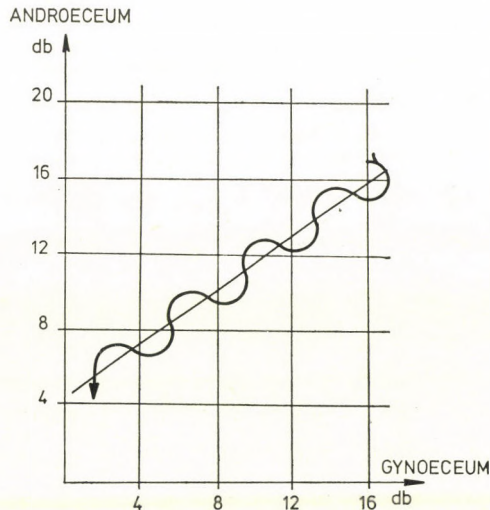
1 %-os szinten: $K+C$ mindegyiktől eltér, $C-(C)$;

5 %-os szinten: $(C)-G$, $G-(G)$, $G-\bar{G}$;

10 %-os szinten: $P-G$, $K-(C)$, $K-\bar{C}$, $C-\bar{C}$, $(C)-G$, $A-\bar{G}$;

az átlag alapján), legkevesebb termője van az alsó állású termőket és forrtszíromokat képező családoknak (4. ábra és IV. táblázat).

Ha ezek után a csésze-, szírom-, porzó- és termőlevélszámra kapott rangsorokat átlagoljuk, a főrangsor informatív jelentőségű lesz evolúciósbiológiai szempontból. Vagyis együttesen lehet vizsgálni, egységesen lehet áttekinteni



5. ábra. Az *Angiospermae* családjainak virágképletéből számított „ivari” korreláció
Fig. 5. „Sexual” correlations calculated from the flower formulae of the families of the *Angiospermae*

A rangsorolások összesített eredménye

Virág	Rangsor átlag	Fő rangsor
Alsóállású termő	3,25	I.
Egynemű virágtakaró	3,50	II.
Különnemű virágtakaró	4,25	III.
Ősszenőtt termő	5,00	IV.
Forrt szírom	5,25	V.
Ősszenőtt csészék	6,00	VI.
Szabad porzó	6,50	VII.
Felsőállású termő	7,50	VIII.
Szabad szírom	7,75	IX.
Szabad csésze	8,00	X.
Ősszenőtt porzók	8,00	XI.
Szabad termő	8,75	XII.

az egyes csoportok szerinti ősbibb és fejlettebb csoportokat. Példaként álljon a forrtszirmúság és az ősszenőtt porzójú virágok megítélése, a kettő közül melyiknek egyszerűsödött jobban a virágszerkezete. Az V. táblázatból kitűnik, hogy a forrtszirmú virág a fejlettebb (5,25), míg az ősszenőtt porzók kisebb evolúciós chance-szal rendelkeznek. A példákat nem szükséges tovább folytatni, bár jónéhány vitatott pontja lehet — és van — a rendszertannak, ennek eldöntésében az „ivari” korreláció ismeretével könnyebben célt tudunk érni V. táblázat).

A VI. táblázat tartalmazza a korrelációs számítások végeredményeit, külön kiemeltük a különmemű és egynemű virágtakaróra vonatkozó adatokat

VI. táblázat

A korrelációs számítások eredményei

Összefüggés	r-érték	p %	F-érték	Egyenlet
<i>Különnemű virágtakaró</i>				
K—C	+0,2591	2	5,83+	$y' = 2,90 + 0,49 \times$
G—A	+0,5445	0,1	27,14+++	$y' = 5,21 + 0,87 \times$
K—G	+0,0971		0,77	
C—A	+0,2085	10	3,68	$y' = 4,82 + 0,96 \times$
K—A	+0,0654		0,30	
C—G	+0,2615	2	6,39+	$y' = 1,27 + 0,74 \times$
<i>Egynemű virágtakaró</i>				
P—A	+0,7075	0,1	32,38+++	$y' = 0,82 + 0,96 \times$
G—A	+0,5507	1	28,27+++	$y' = 4,15 + 0,59 \times$
P—G	+0,5121	1	11,90++	$y' = 0,61 + 0,59 \times$
<i>Együtt</i>				
G—A	+0,5152	0,1	3,94++	$y' = 5,02 + 0,80 \times$
G—A körök	+0,9232	0,1	611,96+++	$y' = 2,20 + 0,23 \times$

és összegezve az „ivari” korrelációt. Így a K—C, G—A, C—G között szoros, a C—A esetében lazább összefüggést kaptunk. Az egynemű virágtakaróra mindhárom korrelációs vizsgálat bizonyítható kapcsolatot adott. A közvetlen „ivari” korreláció 0,1 %-os szinten bizonyos a termőlevelek és a porzók száma között, egészen elképesztően szoros az a termőlevelek száma és a porzókörök száma között. Nem hiábavaló, ha ennél a pontnál ismét visszatérünk az ivari megnyilvánulások hormon-oki magyarázatára, mivel itt már egészen meglepően biztos hormonális szabályozást tudunk csak elképzelni.

Az ősi virágban a virágtagok, így a porzók is, spirálisan helyezkednek el, szinte korlátlanul áll rendelkezésre hely, vagyis összenövés nem fordul elő. Mihelyt a spirálszerkezetet felváltja az örvös elrendezés, a rendelkezésre álló hely csökken; részben csökken a porzósám, részben összenövések keletkeznek. Vagyis a termőlevelekhez képest számszerűen a porzókörök száma válik elsődlegessé, mert egy-egy körben általában azonos számú porzósál található.

Ismét előkerült a csúcs (termőtáj) és az oldalszervek (porzótáj) kérdése. A lényegi korreláció a „másik ivart” gyengíteni igyekvő tendenciája morfológiai és fiziológiai sterilitásban csúcsosodik ki. A potenciális ivari helyzetet növényen belül a potenciális hormonális állapot határozza meg (GIMESI et al. 1950). Képes hatni az „ivari” megnyilvánulásra az energiaállapot változása is: lelevelezés, virágtalanítás (AWADA 1967), a termésnek a következő virágok termőtáját gyengítő hatása (LENZ 1970) stb.

A kultúrába vétel genetikailag, botanikai teljesítőképességében, gazdasági értékében megváltoztatja a növényeket (SCHWANITZ 1967). Pontos megfigyelések révén igen értékes adatokat kaphatunk hímnős, egyivarú virágokat képező fajokra egyaránt. A porzós spenót mindig kisebb habitusú, mint a nőgyedek, akárcsak a kender esetében. A gabonaféléknél értékes tulajdonság az öntermékenyülés, akkor tudnak saját virágporuktól megtermékenyülni, ha a bibe nem emelkedik ki, pelyvéja a virágzás idején zárva marad. Szintén ismert változás a vadfajhoz képest a kultúrfajoknál a bibeszál ill. az egész termő méretének növekedése a termesztett paradicsom esetében. SCHWANITZ (1967) nem hallgatja el, hogyha a vegetatív jelleg nagyon túlsúlyba kerül, a termőtáj olyan mértékben megerősödik, hogy vegetatív szervvé módosul (csészeszerű, lomblevélszerű termőlevelek), esetleg a porzótáj teljesen elcsökevényesedik. Ezeknek a megfigyeléseknek van még egy nagy fontossága, nevezetesen az „ivari” megnyilvánulásokat az ember kényszerűségből, vagy kifejezett szándékkal (tudatosan) vizsgálni kezdte, ez pedig nyilvánvalóvá tette, hogy a vegetatív jellege a virágszerveknek más és más: calyx (K) → ginőceum (G) → corolla (C) → andróceum (A) irányban csökken, tehát a legkevésbé vegetatív értékű a porzólevél; vagyis a törpe habitussal, törpeszártagúsággal együttjáró erős porzótáj ezek szerint evidens (RESENDE 1967).

Az „ivari” megnyilvánulások genetikai vonatkozásaiból csupán néhány közvetlenül idevágó részletet érdemes kiemelni, már csak azért is, mivel a génikus determináció problémája még ma sem kellően tisztázott az egyivarú és hímnős virágok esetében. DARWIN (cit. BÁLINT 1967) írta le először a heteromorf inkompatibilitást, amely összefügg a virágmorfológiai különbségekkel. Szerinte két csoportra oszthatók a heterosztatilis fajok: pin (megnyúlt) és thrum (törpe). A megnyúlt típusú virágok bibeszála hosszú, porzói rövidek, míg a thrumnál rövid bibeszál és hosszú porzósálak fordulnak elő. Csak a másik típusnál történő beporozásból származhat mag szinte a saját virágpór a fejlődés folyamán „testidegenné válik.” A gátlást az S/s allélpár irányítja; a zömök

növények tartalmazzák a domináns allélokat, a pinek pedig a homozigóta s/s-ek. Vagyis a kétféle genotípus a következő:

$$\begin{array}{ccc} \text{pin} = \text{gsa} & \text{és} & \text{thrum} = \text{GSA} \quad (\text{MOEWUS 1950}). \\ & & \text{gsa} \qquad \qquad \qquad \text{gsa} \end{array}$$

Másik izgalmas kérdés, hogy mennyire specifikus az egyes fajok porzószáma, ami közismerten genetikailag rögzített tulajdonság (HASKELL 1954a és b, 1962). MORRISON (1964) pedig azt vizsgálta, hogy a porzósám alapján lehetséges-e a szilvahibrideket elkülöníteni, milyen kapcsolat van a ploidfok, valamint a vigor és a porzósám között? Nos, a termesztett gyümölcsfajok fajtái alapján bizonyítható a porzósám stabil volta, valamint a vigor gyengíti a porzótáját. A szerző egyik táblázatából korreláció-számításokat végeztünk, eszerint a kromoszómaszám — $2n = 16$ -tól $2n = 64$ és efelett — növekedésével a porzósám csökken. A korrelációs r-érték $-0,3602$, ami alig kisebb a 10% -os szintre megadott kritikus r-értéknél ($0,4209$). Még nem fejeződtek be a növény-családokra vonatkozóan az ilyenjellegű számítások, de az eddigiek arra engednek következtetni, hogy a tendencia határozottan megvan és ehhez génikus magyarázatot is lehet adni. Nevezetesen a kromoszómaszám növekedésével ill. a ploidfokkal a porzósám genetikai determinációja nehezebben érvényesül, de még inkább úgy foghatjuk fel, mint ellentétes génhatások (kontrakciós) következtében előálló kromoszómaszám-redukciót.

A Zárwatermő családok sporofillumainak evolúciós modellje

Végül a sok-sok családról összegyűjtött adatok alapján (ENGLER 1898, Soó 1965) és saját kísérleti adatokból modellt szerkesztettünk az „ivari” evolúcióra, ami a közvetlen „ivari” korreláció trendjével megegyezik. A termőlevelek száma és a porzók száma pozitív összefüggést mutat, viszont az „evolúciós irány” a koordináta-rendszer origója felé tart. Ha most családokra disztinválunk, úgy a családok egyes fajaiból — megfelelő szempontok választásával — mindig negatív korrelációt kapunk. A látszólagos ellentmondás, nevezetesen a fajok összességére pozitív, családon belül pedig negatív korreláció érvényes, ami spirális trenddel oldható fel. Lehetnek meglepően hasonló virágszerkezetű családok, bár azok evolúciós értéke lényegesen különbözik; végeredményben a spirális görbe térbe helyezve — a pillanatnyi vizsgálatok alapján — egységes modellt ad a sporofillumok kapcsolatára. A háromdimenziós összefüggéssel a visszatérések magasabb fokon is ábrázolhatóvá válnak. Maga a modell pillanatnyilag még nem teljesen, minden részletében kidolgozott, de már ebből is látszik, hogy hormonális, élettani alapon újszerű „ivari” evolúciós koncepció rajzolódik ki, ami számos és egyben fontos konklúzió levonását teszi lehetővé. Ugyanakkor pedig lehetőséget nyújt arra is, hogy konkrét növényes család példákra külön-külön vizsgálhassuk a vegetatív jelleg és reproductív jelleg foka közti különbség nagyságát, a „megtett evolúciós fejlődés” mértékét. Ennek nem az önmagáért való vizsgálódás a célja, hanem hogy konkrét segítséget adjon a kultúrnövények nemesítési munkáihoz és saját vizsgálataink folytatásához is, hogy ezek ismeretében az egyes fajok esetében milyen mérvű hormonális, kémiai beavatkozások árán lehet megváltoztatni — a kívánt irányban — az „ivari” megnyilvánulásokat.

IRODALOM

1. AWADA, M. (1967) Effects of defoliation and defloration on sex expression and growth of papaya (*Carica papaya* L.). Proc. Amer. Soc. Hort. Sci., 90, 138—43.
2. BÁLINT, A. (1969) Az öröklés- és származástan alapjai. Mezőgazdasági, Budapest.
3. ENGLER, A. (1898) Syllabus der Pflanzenfamilien. Borntraeger, Berlin.
4. FILARSZKY N. (1911) Növénymorphologia. Franklin, Budapest.
5. GIMESI N. et al. (1950) Korrelációs vizsgálatok kukoricán. Bud. Tud. egyet. Biol. Int. Évk., 1, 62—67.
6. GOETHE, J. W. (1831) Versuch über die Metamorphose der Pflanzen. J. G. Cotta, Stuttgart.
7. HALLIER, H. (1878) Schule der systematischen Botanik. W. G. Korn, Breslau.
8. HASKELL, G. (1954a) Stamen number variation in diploid and tetraploid cherries. Ann. Bot. 17, 95—111.
9. HASKELL, G. (1954b) The stamen constancy of diploid and poliploid pears. New Phytol., 53, 340—53.
10. HASKELL G. (1962) Some aspects of fruit genetics in Britain. Der Züchter, 32, 33—40.
11. LENZ, F. (1970) Effect of fruit on sex expression in eggplant (*Solanum meloëgena* L.). Hort. Res., 10, 81—82.
12. LINNÉ, C. (1751) *Phylosophia botanica*. G. Kiesewetter, Stockholm.
13. MASTERS, M. T. (1886) *Pflanzen-Teratologie*. H. Haessel, Leipzig.
14. MOEWUS, F. (1950) Die Bedeutung von Farbstoffen bei den Sexualprozessen der Algen und Blütenpflanzen. Angew. Chem., 62, 516—36.
15. MONOD, F. (1974) A tojás és a tyúk — Az élők logikája. Európa, Budapest.
16. MORRISON, J. W. (1964) The stamen number of some fruit species and varieties grown at Morden, Manitoba. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci., 84, 123—30.
17. RESENDE, F. (1967) Flowering and sex expression. In *Handbuch der Pflanzenphysiologie*. XVIII. Band., 265—75.
18. RUHLAND, W. (Edit.) (1967) *Handbuch der Pflanzenphysiologie*. XVIII. Band. Sexualität. Fortpflanzung, Generationswechsel. Springer, Berlin—Heidelberg—New York.
19. SAINT-HILAIRE, I. J. (1816) Mémoire sur les plantes auxquelles on attribue un placenta central libre, et sur la nouvelle famille des Peronychiées. A. Berlin, Paris.
20. SCHWANITZ, F. (1967) Die Evolution der Kulturpflanzen. Bayer. Landw. verlag, München—Basel—Wien.
21. Soó R. (1965) Fejlődéstörténeti növényrendszertan. Tankönyvkiadó, Budapest.
22. Soó R. (1969) A növényvilág fejlődéstörténete. in *A növények világa II*. Gondolat, Budapest, 323—47.
23. SURÁNYI D. (1971a) Termesztett *Prunus*-fajták virág- és hajtásszerveződése közötti kapcsolat vizsgálata. Bot. Közlem., 58, 229—34.
24. SURÁNYI D. (1971b) Characterization of the self-fertile capacity of stone-fruits by the flower index. Acta Bot. Hung., 17, 181—87.
25. SURÁNYI D. (1972) Teratological cases by *Prunus* and their interpretation with the sex correlation between pistil and stamina. Bot. Közlem., 59, 119—23.
26. SURÁNYI D. (1973) Sexual correlation in self-compatible and self-incompatible varieties of some *Prunus*. Acta Bot. Hung., 18, 179—85.
27. SURÁNYI D. (1974a) A *Prunus*-ok virágszerveződésének befolyásolása alanyokkal. Bot. Közlem., 61, 117—20.
28. SURÁNYI D. (1974b) Correlation between gynoecium and androecium in *Prunoideae* species. Acta Bot. Hung., 20, 379—88.
29. SURÁNYI D. (1975) The role of *Sclerotinia laxa* (EHRENB.) ADERH. et. RUHL. in the sexual expression on apricot, *Armeniaca vulgaris* MILL. Acta Phytopath. Hung., 10, 315—20.
30. SURÁNYI D. (1977) The sex expression of plum 'Besztercei szilva' by the fruit-regulating chemicals. Acta Agron. Hung., 26, 76—83
31. TROLL, W. (1948) *Allgemeine Botanik*. Enke, Stuttgart.
32. WETTSTEIN, R. von (1908) *Handbuch der systematische Botanik*. Deuticke, Leipzig—Wien.
33. WORSDELL, W. C. (1916) The principles of plant-teratology. Vol. II. Dulac et Co. Ltd., London.

EVOLUTIONAL ASPECTS OF THE FLOWER OF ANGIOSPERMAE

D. Surányi

Horticultural Research Station, Cegléd, Hungary

After several years of investigations in sex physiology, reproductive biology and teratology the authors attempted to extend the sex correlation making use of the evolutionary systematics of Soó.

The male and female sexes become and more hidden during phylogenesis, i.e., the diploid stage (sporophyton) becomes dominant over the haploid stage (gametophyton); essentially, the sexual organs of haploid value live upon the diploid generation. The sporophylla differentiate according to definitive rules; the androeceum is genetically fixed, the gynoecium, on the other hand, depend highly on environmental factors. The coordinatory, subordinatory and correlational situation within the flower proves, however, the dominant feature of the gynoecium, like the apex in a shoot-elongation. The flower organs are vegetative organs transformed to varying extent, with the vegetativity decreasing in the following direction: calyx \rightarrow gynoecium \rightarrow corolla \rightarrow androeceum, the stamina have the less vegetative feature.

On the basis of a number of experiments it has been proved that there is an unequivocal negative correlation between gynoecium and androeceum; from this we formed a *quotient* being a specific marker of for self-fertilization. The quotient means good fertilization only in a well-defined region; important deviations from this latter cause teratologic events, disorders of conception (sterility, incompatibility). In many cases the disorders are due to external (ecological factors, fungi, viruses, abnormal vegetative condition etc.), the result of this all confirm well the „sexual” correlative effects.

The problem of projectivity emerged during the examination of the „sexual” correlation. Our calculations based on the flower structure formulae of the individual plant families clearly established that the „sexual” correlation is valid for the most important 110 plant families, too. The numerical correlation between pistil and stamina is positive, the curve tends towards the center of the system of co-ordinates, coinciding with the direction of the evolution. There are „balkings” in between — at the beginning of ramifications — that can be depicted in the space. The curve represents a special *spiral trend*, because we obtained vegetative correlations for the species within the families, and the species bearing a more feminine flower is always the less developed within the same family.

Although the model is not fully developed, but it can already be established that the correlation of the sporophylla can be represented by a new way on a hormonal-physiological basis which enables us drawing a number of important conclusions. In the same time it makes possible to examine the difference between the degree of the vegetative and reproductive features, the degree, of the „evolutional path covered”, the goal of which is to present a basis for plant improvement, to yield information about which degree of hormonal or chemical interventions might evoke the changes desired in the „sexual” manifestations of the plants.

ÉLET ÉS INFORMÁCIÓ

A fizikai világunkat felépítő anyagi rendszerek egyik alapvető jellemvonásának tűnik az a törekvés, amelyet az *Entrópia folyamatának* nevezhetnénk.

Az összetett fizikai rendszereket felépítő elemi fizikai rendszerek — spontán — a lehető legstabilabb, legegyszerűbb, energetikailag, termodinamikailag legvalószínűbb állapot elérésére törekszenek. Összetett rendszerek kapcsolatai esetén e törekvés iránya az energetikailag azonos jellegűség, a kiegyenlítetttség, az egyensúlyi helyzet felé mutat.

Egy összetett rendszerre — mint individuumra — egy olyan rendezettség jellemző, egy olyan *rend*, amely környezetében nincs meg, s amely a rendszer egyediségét biztosítja illetve jellemzi.

Egy ilyen rendszernek az Entrópia folyamatához való viszonyát kifejezhetjük a rendszer rendezett állapotából a rendezetlen állapot felé való átmenete készségével, a rendezetlenségre — mint az energetikailag legvalószínűbb állapotra — való hajlamával: az entrópiával (S), amely — természetesen — szoros kapcsolatban áll magával a rendszer rendezettségével.

(Ezt fejezi ki az entrópia (S) ún. statisztikus értelmezése alapján a következő összefüggés:

$$S = k \cdot \log D, \quad (1)$$

ahol k konstans, a Boltzmann állandó, D pedig egy rendszer rendezetlenségének mértéke.)

Egy rendszer sorsa az Entrópia folyamatának sodrában nem más, mint a lehetséges legvalószínűbb, legrendezetlenebb, maximális entrópiájú állapot felé való közeledés; a rendszer entrópiájának növekedése, rendezettségének csökkentése; azonosulás a környezettel, az egyediség, az individuum pusztulása. Ezen általános érvényűnek mondható folyamat miatt fizikai világunk fokozatosan elveszítené individuális jellegű: sajátos rendezettséggel felépített rendszereit.

De az Univerzumban érvényesül egy ezzel ellentétes jellegű törekvés is, melynek végső formája nem más, mint az Élet: a homogenitásból, rendezetlenségből jellegtelenségből arendezettség, egyediség, individuum kiemelése és fenntartása, ellentmondás az Entrópia kihívásának.

Ezt a rendezett, élő rendszer kialakítására való — s ebből következően entrópia csökkenéssel járó — törekvést nevezhetjük *Szyntrópiának*, s bátran mondhatjuk: a Szyntrópia — szemben az Entrópia folyamatával — eddig ismert világunk, másik *határozott és egyetemes jellemvonása*.

Az élet élő rendszerekben: élőlényekben nyilvánul meg. Egy élő rendszerre a rendezettségére való törekvés készsége jellemző, amelyet — az entrópiához (1) hasonlóan — leírhatunk a negatív entrópiával (–S), amely a rendszer rendezettségnek mértékével $\left(\frac{1}{D}\right)$ van szoros kapcsolatban:

$$-S = k \cdot \log \frac{1}{D} \quad (2)$$

Az élő rendszereket, az élőlények szervezetét is elemi fizikai rendszerek építik fel, s természetesen az élőlények sem kivétel az Entrópia folyamata alól, de egyedi rendezettségükkel és a rendeződésre való képességükkel egy új dimenziót képviselnek: a Szyntrópia áramlatának rendszerei.

Az élőlények életmegnyilvánulásaiikkal elkerülik az entrópiánövekedés folyamatát, jobban mondva „küzdnek ellene”. Élő rendszerekben állandó „harcban áll” egymással a Szyntrópia és az Entrópia folyamata.

Mindaddig, amíg egy élőlényre az entrópiacsökkenéssel leírható Szyntrópia a jellemző, az élőlény él, ám ha az élő rendszeren belül az entrópia a növekedés irányába mutat, az élet átadja helyét a pusztulásnak.

Mily módon győzik le az élőlények az entrópia növekedését?

Az élőlények — nyílt rendszerek révén — állandó anyag- és energiacsereiben állnak környezetükkel, s ezek révén fokozzák rendezettségüket (vagy ha pusztán fenntartják, az is elég) — Schrödinger szerint — oly módon, hogy „környezetükből negatív entrópiát vonnak el, mintegy a rendezettséggel táplálkoznak”, s e rendezettségéből sajátos képességük révén kialakítják és növelik saját rendezettségüket. Ha e képességük valamilyen oknál fogva csökken, majd kimerül, az entrópia csökkenését fokozatosan az entrópia növekedése váltja fel.

De mi biztosítja az általunk ismert élőlények e képességét?

Egy összetett rendszer egyedisége összetevő elemi részeinek sajátos rendezettségétől függ. Egy rendszer annál inkább individuum, minél egyedibb módon rendezett — környezetétől ellentétben.

Egy rendszer rendezettségének mértéke mindig összefüggésben áll egy megfelelő információtartalommal, és viszont: egy bizonyos információ egy annak megfelelő rendszert ír(hat) le, „a rend mértéke az információ”.

$$\text{rend} \sim \text{információ.} \quad (3)$$

Így (1), (2) és (3) alapján láthatjuk, hogy az *Entrópia* folyamata *információcsökkenéssel*, a *Szyntrópia információnövekedéssel* járó, illetve jellemezhető folyamat egy rendszer szempontjából.

Minden összetett rendszer hordozhat olyan — sajátos rendezettségéből fakadó — többletinformációt, amely — megfelelő körülmények között — egy másik, tőle függő rendszer rendezettségére vonatkozik vagy vonatkozhat. Ezen többletinformáció kapcsolata az információt hordozó eredeti rendszer rendezettségével igen sokféle lehet, a kvalitásában is eltérhet az információhordozó rendszer elemi rendezettségét jellemző információ kvalitásától.

Így lehetnek olyan információhordozó rendszerek, amelyek információtartalma megfelelő közegben és körülmények között képes az eredeti információhordozó rendszerrel nagyobb, összetettebb, sőt más jellegű rendszernek eleinte időben történő rendeződését, majd rendezettségét biztosítani.

Ez az időben történő rendeződést biztosító információ már egy rendszer rendezettségének növekedését, s így Szyntrópiáját is jellemzi.

megfelelő közeg

$$\boxed{\text{az információhordozó többletinformációja}} \longrightarrow \boxed{\text{egy rendszer Szyntrópiája}} \quad (4)$$

Természetesen ez a rendeződés megfelelő, rendezhető közegben az információ minőségének megfelelően megy végbe.

Napjaink földi élőlényeknek magasfokú, négydimenziós (tér- és időbeli) rendezését, majd rendezettségének fenntartását, így Szyntrópiáját egy ilyen jellegű rendszer biztosítja, illetve jellemzi. Azonban az élőlények esetében életük érdekében szükségszerű, hogy az információt hordozó rendszerük többletinformációt biztosítson az élő rendszer egésze felé, hogy annak entrópiája csökkenjen — negatív entrópiája növekedjék. Így e rendszer újabb információk felvételére, feldolgozására, tárolására és továbbítására is alkalmas annak érdekében, hogy ily módon az élőlények rendezettségét, rendeződésre való törekvését biztosító információ növekedjék, s így az élet az időben is képes legyen ellenállni az entrópiánövekedés folyamatának.

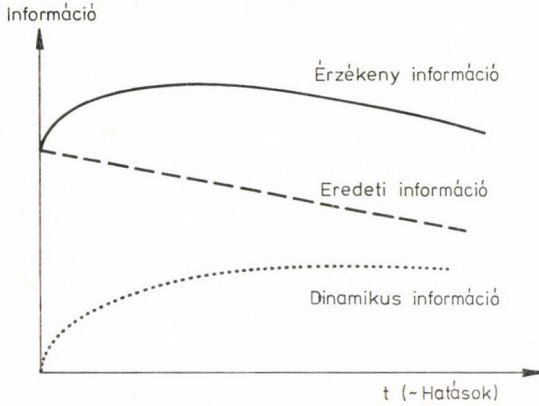
Ennek megfelelően az imént vázolt élő rendszer rendezettségére való törekvése, rendezettségének foka ezen információs rendszer többletinformációjának függvénye.

Erre — a Szyntrópiára jellemző — információra mernénk javasolni (a későbbi megfontolások alapján is) az *érzékeny információ* kifejezést.

Az élőlény érzékeny információjának megváltozása szoros összefüggésben áll a Szyntrópiával, így magával az étellel.

Egy élőlény megszületésekor életének fenntartásához szükséges információtartalommal látja meg a napvilágot. Vizsgáljuk meg, hogyan változik az élőlény érzékeny információja az időben, élete folyamán! Az egyszerűség kedvéért érzékeny információját két — gyakorlatilag nem létező — részre osztjuk:

1. Az élőlény megszületésekor meglévő információtartalma — nevezzük el ezt *eredeti információnak* — a legkülönbözőbb káros külső hatások miatt (amelyek mint legnagyobb



1. ábra: Az érzékeny információ változása

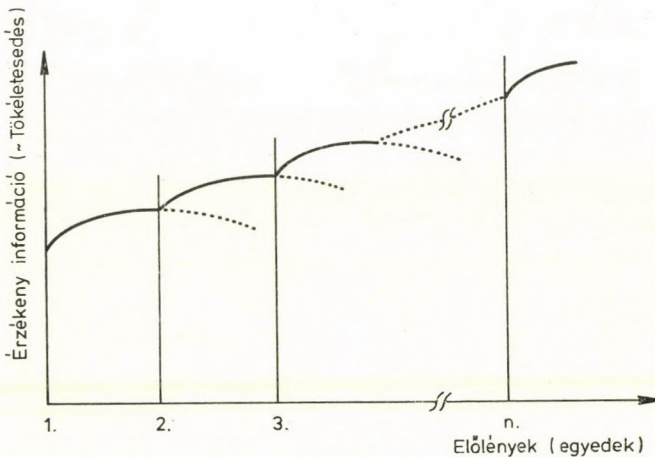
valószínűséggel negatív jellegű spontán és indukált mutációk stb., stb. jelentkeznek a gyakorlatban) az időben csökken. E csökkenést egy negatív iránytangensű lineáris függvénnyel írjuk le.

2. Ugyanakkor az élőlények információs rendszere új információk felvételére és tárolására is képes, így külső információk — különböző módokon — növelhetik információs rendszerének információtartalmát. Az ilyen jellegű — gyakorlatilag természetesen nem elkülöníthető, az élőlény kialakulásának pillanatában még meg nem levő — információt nevezük el *dinamikus információnak*. Ennek változása az időben a következőképpen képzelhető el:

A kibernetikából jól ismert tény, hogy egy esemény információ-tartalma összefüggésben áll az esemény váratlanságával. Egy élőlény életében szerepet játszó események, hatások egy bizonyos meghatározható körre csoportosulnak. Ezek az események az élőlény számára első megjelenésükkor a legváratlanabbak, később már ismertebbek, esetleg megszokottak lesznek.

Ennek megfelelően az élőlény életére legnagyobb hatással a legváratlanabb: egy esemény első megjelenése van. Ez komoly feldolgozandó információmennyiséget jelent az információs rendszer számára. Egy esemény második, harmadik, majd további megjelenéseivel a feldolgozandó információ — az információs rendszer szempontjából! — egyre kevesebb lesz.

Így belátható, hogy egy élőlény dinamikus információja legnagyobb mértékben közvetlenül megszületése után növekszik, s a növekedés üteme idővel fokozatosan csökken.



2. ábra: A Bioszféra fejlődése

Ennek megfelelően az élőlények dinamikus információjának növekedését 1-exponenciális függvénnyel írhatjuk le.

Ezen változások eredője írja le az élőlény érzékeny információjának időben történő megváltozását.

Látható, hogy eleinte az érzékeny információ növekszik: az élőlény fejlődik, tökéletesedik, alkalmazkodik környezetéhez stb. Később azonban az érzékeny információ csökken. Ilyenkor az információ hordozó rendszer még jó darabig rendelkezik az élőlény élete számára megfelelő tübbletinformációval. Tovább csökkenve egyszer csak már nem lesz elegendő az élet fenntartásához: az élő rendszerben az entrópiánövekedés kerekedik felül, az élőlény elpusztul.

Végül még egy gondolatot kellene felvetnünk. Mily módon fejlődik, tökéletesedik a földi élet, a bioszféra?

Az élővilág fejlődése szorosan összefügg az egyedek fejlődésével, azoknak a környezethez való alkalmazkodásával, a külvilág információinak átértékelésével stb., vagyis az érzékeny információ fejlődésével. Ugyanis az élőlények általában érettségük teljében gondoskodnak utódaikról, s ekkor érzékeny információjuk — a fenti megfontolások alapján — magasabb, mint megszületésükkor volt. Így utódaiknak már egy fokkal tökéletesebb információt adnak át, mint amilyennel ők meglátták a napvilágot. Így az utódok bizonyos tekintetben szüleiknél tökéletesebbeknek mondhatók. (Ez természetesen tendenciózus folyamatként értelmezendő, hiszen szép számban az ellenkező eset is előfordulhat.)

Így az élővilágban, a Bioszférában mutatkozó fejlődés lebontható az egyedek fejlődésére, az egyedi érzékeny információk növekedésére.

Összefoglalásképpen megállapíthatjuk, hogy az élet és az információ között szoros kapcsolat áll fenn. Az élet kialakulása, fenntartása és fejlődése információnövekedéssel jár. Napjaink földi élőlényei élete és fejlődése az információ hordozó rendszerükben tárolt információ függvénye.

Természetesen az elmondott elképzelések — melyek kialakításánál elsősorban Schrödinger és Wiener néhány gondolatát vettük figyelembe — hipotézis jellegűek, ezért vitára bocsátva adjuk őket közre.

Gulyás Balázs

KÖNYVISMERTETÉSEK

DIETER GERLACH: *Das Lichtmikroskop. Eine Einführung in Funktion, Handhabung und Spezialverfahren für Mediziner und Biologen.* 311 oldal, 126 ábra, 5 táblázat. Thieme Verlag, Stuttgart, 1976. DM 19.80.

A zsebkönyvet a szerző elsősorban orvosoknak és biológusoknak szánta, melyet azonban zoológusok, botanikusok és a mikroszkópot alkalmazó más szakterületek művelői is haszonnal forgathatnak.

A normális világos látóterű mikroszkóp ismertetésével kapcsolatban a mikroszkóp mechanikai és optikai felépítéséről, valamint a megvilágítás módszereiről nyújt a könyv tájékoztatást. A fontosabb különleges mikroszkópos eljárások (sötétlátóterű, fáziskontraszt, polarizációs, interferencia, fluoreszcens mikroszkópia) leírása, a gyakorlati munka vezérfonálául szolgálhat.

A felső megvilágítású mikroszkópok, valamint a mikroszkópos mérési eljárások ismeretése ugyancsak helyet kaptak e könyvben.

A tudományos munka és a mindennapos rutinvizsgálatok dokumentálásának nélkülözhetetlen eszközévé vált mikrofényképezésről a könyv aránylag szűkszavúan tájékoztat. Ennek ellenére a fekete-fehér és a színes mikrofényképezésre vonatkozó legáltalánosabb információk megtalálhatók.

A mikrovetítés és a televíziós mikroszkópia, valamint a mikroszkóp objektívek tesztelésének tömör ismertetései képezik az utolsó fejezeteket.

A felsoroltaknál nem kevésbé fontos az a tájékoztatás, mely a könyv függelékében a mindennapi gyakorlatra vonatkozó tanácsokat tartalmazza.

A munka érdeme, hogy lényegretörő és didaktikus. Ábrái világosak, újszerűek, szellemesek. Az irodalmi áttekintés, az idevonatkozó legfontosabb munkák csaknem teljes felsorolását nyújtja.

A könyv a mikroszkópia kezdő és haladó művelőinek öröme és útmutatására szolgálhat

Dr. Szabó Dezső

E. BATSCHELET: *Introduction to Mathematics for Life Scientists*
(Bevezetés a matematikába az élő természet kutatói számára)
Második kiadás Springer-Verlag, Berlin—Heidelberg—New York, 1975
643 oldal, 227 ábra.

A könyv címe tökéletesen fedi tartalmát. Biológus és orvos kutatók számára írt matematika könyv. Az utóbbi évtizedekben jó néhány ilyen témájú könyv jelent meg, mégis különlegesen figyelemre méltónak tartom. Matematika könyv, mégis nagymértékben különbözik a matematikusok számára írt könyvektől. Csak gondolati felépítésében egzakt és axiomatikus, stílusa inkább könnyed és olvasmányos, miáltal megszünteti a biológus és orvos kutatók — és leendő kutatók — oly gyakori félelmét a matematika könyvektől. Igen nehéz tanácsot adni a biológus és orvos kutatóknak, hogy milyen mélységig érdemes matematikával foglalkozniuk, mégis állítom, hogy ezt a könyvet érdemes — és nem nehéz — végigolvasni. Tartalmazza az elemi függvénytani ismereteken kívül a halmazelmélet, a differenciál és integrálszámítás, a közönséges differenciál egyenletek, a valószínűségszámítás, a lineáris algebra és a komplex számok elméletének legalapvetőbb fogalmait.

Minden matematikai fogalom bevezetésénél tájékoztatja az olvasót, hogy mikor, milyen típusú problémák megoldásánál használható az illető fogalom. A matematikai eljárások mind-

egyikét a biológiai tudományok széles köréből választott, nagyszerűen illusztrált példákkal világítja meg.

Egy olyan matematika könyv, amely nem elvonja, hanem inkább ráirányítja a biológus és orvos kutatók — és diákok — figyelmét fő területükre. Előkészíti a kutatókat a matematika és az egzakt gondolkodásmód előnyire, és alkalmassá teszi a matematikusokkal való sikeres kommunikációra.

Talán egyetlen hibája a könyvnek, hogy a matematikai statisztikáról és a számítógép felhasználásáról — melyek szintén a legfontosabb területek közé tartoznak az orvos és biológus kutatók számára — nem ír. Mégis az utóbbi idők egyik legsikeresebb próbálkozása, hogy megismertesse és megszerettesse a matematikát az orvos és biológus kutatókkal, ezért méltán ajánlhatom mindenki szíves figyelmébe.

Folly Gábor

Mathematical Problems in Biology (Matematikai problémák a biológiában)

Szerkesztő: PAULINE VAN DEN DRIESSCHE

Springer-Verlag Berlin—Heidelberg—New York, 1974. 280 oldal.

E könyv az 1973. május 7—10. között a Victoria Egyetemen — Victoria, Kanada — tartott, Matematikai problémák a biológiában című kongresszuson elhangzott előadásokat tartalmazza. A kongresszuson biológiai problémákkal foglalkozó matematikusok vettek részt, előadásaik megértése tehát a felsőbb matematikai ismeretek mellett bizonyos biomatematikai jártasságot is igényel. A konferencia a matematikus és biológus kutatók együttműködésének problémáival, elsősorban a kétféle gondolkodásmód közelítésével foglalkozott.

A könyv — és az elhangzott előadások — a matematika biológiai alkalmazásának igen széles körét tárgyalja. Találunk előadást az epidemiológiáról, az idegrost aktivitás egy modelljéről, az öröklődésről, biokémiai modellekről, a sejtanról stb.

Beszámolnék talán P. Rajagopal professzor — York Egyetem, Downsview, Ontario, Kanada — Matematika és biológia című előadásáról. Ezt az előadást nemcsak tartalmi mélységére és közérthetőségére való tekintettel választottam, hanem azért is, mert jól tükrözi az egész konferencia célkitűzéseit.

A tudományok a valóságot igyekeznek leírni, de még a „precízebb” tudományok is gyakran közelítéseken alapulnak, amelyeket az illető tudósoknak megfelelő fenntartással kell fogadni. Ez a gondolkodásmód idegen az *axiomatikus* matematikai megközelítés számára.

A matematika csak jól definiált problémákkal tud foglalkozni. Ezért a matematika kapcsolata más tudományokkal a probléma megközelítésének pontosságától és attól függ, hogy lehetséges-e olyan specifikáció, amelyet a matematika betű szerint — axiómaként — vehet.

A matematika egzakt volta feltételezi, — ha a matematikát megfelelően akarjuk alkalmazni más tudományokban — hogy a matematikus által esetleg nem látott visszamegfeleltetései az *axiómáknak* és következményeiknek hogyan teljesül. Tudomásul kell venni, hogy a matematika általában csak egyszerűsített helyzetekkel képes foglalkozni, azaz csak ritkán fordul elő, hogy összetett szituációk csak néhány domináló faktortól függenek. Ez egyben azt is jelenti, hogy a matematikai tárgyalás ritkán teszi lehetővé, hogy egy probléma sok szálát egyszerre tárgyaljuk, azaz hogy különböző forrásokból egyidejűleg tudjunk ugyanoda konkludálni. Bizonyos problémák megoldásának matematikai technikája csak akkor lehet eredményes, ha a kiindulási axiómák jól leírják a valódi lényegét. A matematika képes kidolgozni bármilyen — zseniális vagy abszurd — elméletet, képes briliáns és abszurd elméleteket a matematikai formulák impresszív ruhájába öltöztetni. Sőt! A tudományos abszurdítások a fenti „ruhában” sokszor sokkal meggyőzőbbek, mint nélkülük. Ha egy elméletet matematikai formulákban írunk le, hajlamosak vagyunk komolyan venni őket, esetleges nyilvánvaló hibáik ellenére is.

Igen lényeges kérdés a kutatók matematikai képzettsége. Sajnos általános tapasztalat, hogy a matematikában kevésbé képzett kutatóknak, bár még esetleg az egyetemen is hallgattak matematikát, téves elképzeléseik vannak a matematikáról. Talán sok mindent el is felejtettek, esetleg nem veszik tudomásul, hogy tudásuk nem teljes, nem befejezett. Matematikai „hiányságaikat” is sok esetben rossz irányban igyekeznek pótolni. Nem azt érdemes tudni egy kutatónak, hogy hogyan kell a különböző matematikai technikát alkalmazni, hanem sokkal inkább a problémák matematikai megközelítésének módjait. Ez bizonyos matematikai jártasságot igényel, és csak igen kis mértékben azt, hogy a matematikai technikát alkalmazni tudják.

Pl.: a statisztikai módszerek ismerete nem elég azok alkalmazásához egyéni — rendszerint elméleti — információk nélkül. A hipotézis vizsgálatoknál például fontos tudni, hogy bizonyos feltételek ellenőrzése milyen fokig szükséges, amit egy kutató ritkán sajátít el, de meg kell tudnia érteni a hipotézisvizsgálat elvi gondolatmenetét.

A matematika jó alkalmazásának három lépcsőfoka:

1. A jelenség megfigyelése és a matematikai leírás megformulázása (valószínűségi változók, differenciálegyenletek, algebrai vagy egyéb modellek felállítása)
2. Átmenetileg megfeledezzünk a valóságról és megoldjuk a matematikai problémát,
3. Az eredmények visszatranszformálása és az illető tudomány nyelvén való interpretálása.

Rendszerint az első a legnehezebb, mivel ritkán ismerünk „eleget” egy rendszer azon komponenseiből, amelyek adott megbízhatósággal képesek leírni a jelenségeket. A második pont kizárólag matematikai tudást igényel, de az első és harmadik pont világosan mutatja a tudósok kommunikációjának szükségességét.

Tekintettel arra, hogy a könyvben leírt előadások túlnyomó része igen komoly matematikai ismeretet feltételez, olvasását csak matematikusoknak ajánlom.

Folly Gábor

MARTIN B. MATHEWS: *Connective Tissue. Macromolecular Structure and Evolution.* (Molecular Biology, Biochemistry and Biophysics c. sorozat, 19. kötet. Szerkesztők: A. Kleinzeller, G. F. Springer, H. G. Wittmann.) 318 oldal, 31 ábra, 12 táblázat. Springer-Verlag, Berlin—Heidelberg—New York, 1975. DM 78.

A könyv elsősorban a gerinctelenek és a gerincesek kötőszöveti makromolekuláinak extracellularis organizációjával foglalkozik. Számos általános kérdésre igyekszik feleletet találni, pl. a különböző dimenzionális szinteken történő organizálódás folyamatára, természetére, lehetséges szerepére vonatkozóan.

A kollagénnel foglalkozó fejezetben többek közt a kollagén kémiai szerkezetéről, aggregációs formáiról, stabilitásáról található ismertetés. E fejezetben kapott helyet a bazális membrán és a vitrozium tömör leírása, valamint számos immunológiai vonatkozású adat.

Az elasztint és a struktúr glycoproteineket ismertető fejezetek, bár a kollagénnél rövidebbek, e tárgykörök kielégítő áttekintését nyújtják.

A kötőszövet polysaccharida komponenseiről szerzett ismeretek az utóbbi két évtizedben jelentősen megsokszorozódtak. Nomenklatúrájuk megváltozott, ez a magyarázata, hogy Mathews jelen könyvének idevonatkozó fejezete a „Polyanionic proteoglycans” címet viseli. Ez egyben a legrészletesebben tárgyalt témakör.

A könyv a kötőszövet szerkezeti és funkcionális összefüggéseinek tárgyalásával, valamint számos következtetés tétele felsorolásával fejeződik be.

A korszerű, világos stílusban megírt munka külön érdeme, hogy sok gondolatébresztő feltételezés is helyet kapott benne, melyek az olvasót elmélkedésre ösztönzik.

Dr. Szabó Dezső

JAN KLEIN: *Biology of the Mouse Histocompatibility-2 Complex.* Springer-Verlag, New York, 1975. 620 oldal és 82. ábra.

Jan Klein könyve a napjainkban rohamosan fejlődő immunogenetikai tudomány egyik legfontosabb és legrészletesebb tanulmányozott területét a histocompatibilitási rendszert ismerteti egérben. A könyv megjelenésével már egy régóta fennálló hiányt sikerült kiküszöbölni.

Az első bevezető részt követően a második fejezetben a H—2 Komplex génállomány strukturális és funkcionális sajátosságait ismerteti a szerző. Részletesen foglalkozik azokkal a serologiai és transzplantációs módszerekkel, amelyek lehetővé teszik a rendszer által meghatározott sejtfelületi transzplantációs antigének vizsgálatát. Ismerteti továbbá azokat a genetikai analíziseket is, amelyek segítségével a H—2 génkomplex strukturális szerkezete felismerhető volt. Különösen fontos e részben a rekombináns törzsekre vonatkozó ismeretanyag. E törzseken végzett vizsgálatokkal lehet pontosan lemérni a H—2 génkomplex területére eső locusok elhelyezkedését. A fejezet ismerteti továbbá a membrán transzplantációs antigének biokémiai jellegzetességeit és dinamikáját.

Jan Klein könyvének 3. fejezete foglalkozik a histocompatibilitási komplex regio közepes területével, ahol a legújabban felfedezett B lymphocytákon levő Ia antigéneket, a daganatokat előidéző vírusokkal szembeni fogékonyságot, valamint az immunválaszt meghatározó locusok találhatóak.

Ebben a részben ismerkedhetünk meg azokkal a legérdekesebb adatokkal, melyek mind kísérletes, mind humán vonatkozásban, a különböző betegségekkel szembeni fogékonyság immunogenetikai hátterének közelebbi megismerését teszik lehetővé. Az immunválaszban szereplő sejtek bonyolult kölcsönhatásai és a lymphocyta receptorok jelentősége is ismertetésre kerül.

A histocompatibilitási komplex „I” régiójára lokalizálhatók még egyéb immunológiai (complement, lymphocyta transformáció, PHA stimuláció, T—B lymphocyta kooperáció, sejt közvetített cytotoxicitást, kevert lymphocyta reaktivitást stb.) és nem immunológiai (hormon metabolizmus, csontnövekedés, cAMP aktivitás stb.) sajátságokat meghatározó gének is.

A könyv végezetül a histocompatibilitási rendszer felfedezésének legfontosabb állomásait időrendi sorrendben táblázatban ismerteti, és perspektivikusan megvilágítja a génkomplex biológiai jelentőségének kérdéseit. Az igen részletes irodalmi jegyzék és tárgymutató, a könyv tudományos és gyakorlati értékét nagymértékben emeli.

Dr. Petrányi Győző

VON HANS G. SCHLEGEL: *Allgemeine Mikrobiologie* (Általános mikrobiológia). 4. átdolgozott kiadás. 480 oldal, 217 ábra, 33 táblázat. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, 1976. DM 19,80.

A könyv első kiadása 1969-ben jelent meg. Az azóta felgyűlt új tudományos ismeretek szükségessé tették egyes fejezetek átirását és kiegészítését.

A könyv első tízoldalas fejezete a mikroorganizmusok természetben elfoglalt helyét határolja körül. Ezt követi egy 57 oldalas fejezet a sejt szerkezetéről. Itt az eukaryoták rövid ismertetése után a prokaryoták szerkezetét ismerteti a szerző nagyon szép és nagyszámú illusztráció felhasználásával. Ezután a prokaryoták rendszertani áttekintése következik egy 40 oldalas fejezet keretében. Ezután kerül sor a vírusok rövid ismertetésére. A 18 oldalas fejezet első 6 oldala foglalkozik az általános tudnivalókkal s a további rész a bakteriofágokat tárgyalja. Hasonló terjedelmű fejezet tárgyalja a gombákat.

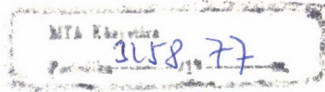
A mikroorganizmusok növekedését ismerteti a következő fejezet, ebben találjuk a táptalajok, tenyésztési módszerek, valamint a növekedés fiziológiájával kapcsolatos kérdések ismertetését, valamint a szaporodás gátlásával kapcsolatos módszereket (sterilizálás, konzerválás).

A következő fejezetek a mikrobák — elsősorban a baktériumok — anyagcseréjével, energiforgalmával foglalkoznak. Külön tárgyalja az erjedések, az anaerob légzés, a tökéletlen oxidáció, az anorganikus hidrogén-donorok és az autotroph CO₂-kötés, fotoszintézis, a molekuláris N-kötés, valamint a különböző, természetben előforduló anyagok mikrobás lebontásának folyamatait.

A baktériumok genetikáját egy 37 oldalas fejezet tárgyalja. Ezt követi az anyagcsere regulációjával foglalkozó fejezet, majd a szervezetek evolúciójáról szóló 5 oldalas fejezet zárja a könyvet.

A könyv puhafedlű, műanyagborítású alakban jelent meg, így könnyen kezelhető. Igen hasznosnak látszik a könyv végén található szótár, mely a latin és görög nevek, kifejezések fordítását adja meg. A könyv nagyon alapos és modern anyagot nyújt elsősorban bakteriológusok számára. Foto- és ábraanyagában, számos elsőrangú elektronmikroszkópos fotót és nagyon jól megrajzolt és szerkesztett, világos, jól érthető ábrát találunk, ami nagyban elősegíti a tömör szöveg megértését. A könyv hatalmas biokémiai ismeretanyagot tartalmaz, ez majdnem felét teszi ki a könyv terjedelmének. Ehhez képest a mykológia is, de elsősorban a virológia igen kevés. Ezt magyarázza a könyv terjedelmének kötöttsége. Ilyen formán ez a kitűnő könyv is arra mutat, hogy a virológia önálló ága a természettudománynak, s ha „teljességre törekedvén”, a mikroorganizmusokkal együtt kívánják ismertetni, úgy ez az ismertetés csak nagyon vázlatos lehet. A bakteriológiának legkülönbözőbb ágait művelők viszont nagyon jó, modern ismereteket találhatnak a könyvben.

Dr. Nász István



A kiadásért felel az Akadémiai Kiadó igazgatója

Műszaki szerkesztő: Agócs András

A kézirat nyomdába érkezett: 1976. XII. 22. — Terjedelem: 8,4 (A/5) ív

77.3964 Akadémiai Nyomda, Budapest — Felelős vezető: Bernát György

— MAGYAR —
TUDOMÁNYOS AKADÉMIA
KÖNYVTÁRA

TARTALOM

MENYHÁRT J. és GRÓF J.: A természetes poliaminok biológiája	81
DOBOZY O. és CSABA GY.: Melatonin hatása a vércukor és inzulin szintre	111
ifj. BÓKAY J.: Benzpyrénnel és cortisonnal kezelt patkányok thymusának hízósejtes reakciója	115
CSABA GY., DARVAS Zs. és LÁSZLÓ V.: Növényi hormon — gibberellin — újszülöttkori alkalmazásának hatása patkányra	121
CSABA GY., LÁSZLÓ V. és DARVAS Zs.: Növényi hormon — gibberellin — postnatalis és felnőttkori alkalmazásának hatása patkányokban	127
KERESZTES Á., DAVEY, M. R. és LÁNG F.: A membrán-szerkezet, valamint a két fotokémiai rendszer aktivitásának összefüggése normális és mutáns <i>Tradescantia</i> kloroplastiszokban	133
SURÁNYI D.: A Zárvatermők virágának evolúciós biológiai vonatkozásai	149

VITAROVAT

GULYÁS B.: Élet és információ	167
-------------------------------------	-----

KÖNYVISMERTETÉSEK

GERLACH, D.: Das Lichtmikroskop (<i>Szabó D.</i>)	171
BATSCHLET, E.: Introduction to mathematics for life scientists (<i>Folly G.</i>)	171
van den DRIESSCHE, P.: Mathematical problems in biology (<i>Folly G.</i>)	172
MATHEWS, M. B.: Connective tissue (<i>Szabó D.</i>)	173
KLEIN, J.: Biology of the mouse histocompatibility-2 complex (<i>Petrányi Gy.</i>)	173
von SCHLEGEL, H. G.: Allgemeine Mikrobiologie (<i>Nász I.</i>)	174

BIOLÓGIA, Budapest

24/2 (1976)

MENYHÁRT, J. and GRÓF, J.: Biology of the natural polyamines	81
DOBOZY, O. and CSABA, GY.: The action of melatonin on the blood sugar and insulin levels	111
BÓKAY, J., jr.: Mast cell reaction in the thymus of rats treated with benzpyren and cortison	115
CSABA, GY., DARVAS, Zs. and LÁSZLÓ, V.: Neonatal administration of the plant hormone <i>gibberellin</i> in rat	121
CSABA, GY., LÁSZLÓ, V. and DARVAS, Zs.: Action of the plant hormone <i>gibberellin</i> administered in postnatal or adult age in rats	127
KERESZTES, Á., DAVEY, M. R. and LÁNG, F.: Freeze etched membrane faces and photosynthetic activity in normal and mutant <i>Tradescantia</i> chloroplasts	133
SURÁNYI, D.: Evolutional biological aspects of the flower of Angiospermae	149